



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ZEYTİN (*Olea europaea*) YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ DIŞI  
SURIYE HAMSTERLERİNDE (*Mesocricetus auratus*) ÖSTRUS  
SİKLUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANSTEZİ**

**SELMA ÖZSALMANLI**

**Tez Danışmanı**

**PROF. DR. BÜLENT GÜNDÜZ**

**ÇANAKKALE – 2022**





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**ZEYTİN (*Olea europaea*) YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ DIŞI SURIYE  
HAMSTERLERİNDE (*Mesocricetus auratus*) ÖSTRUS SIKLUSU ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELMA ÖZSALMANLI

Tez Danışmanı

PROF. DR. BÜLENT GÜNDÜZ

ÇANAKKALE – 2022



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Selma ÖZSALMANLI tarafından Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ yönetiminde hazırlanan ve **29/08/2022** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Zeytin (*Olea europaea*) Yaprağı Ekstraktlarının Dişi Suriye Hamsterlerinde Östrus Siklusu Üzerine Etkileri**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**İmza**

Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ

.....

(Danışman)

Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG

.....

Prof. Dr. Murat YURTCAN

.....

Tez No : .....

Tez Savunma Tarihi :29/08/2022

Doç. Dr. Yener PAZARCIK

Enstitü Müdürü

29/08/2022

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Selma ÖZSALMANLI

29/08/2022

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalıőmasını gerçekleőtirirken benden yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Bülent Gündüz'e, çalışma süresi boyunca yanımda olan laboratuvar arkadaşlarıma, çalıőmam ve hayatımın her evresinde bana destek olan ancak bu çalıőmam sırasında kaybettiğim en değerli varlığım canım annem Fatma ÖZSALMANLI' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selma ÖZSALMANLI

anakkale, 29/08/2022

## ÖZET

### **ZEYTİN (*Olea europaea*) YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ DIŞI SURIYE HAMSTERLERİNDE (*Mesocricetus auratus*) ÖSTRUS SIKLUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Selma ÖZSALMANLI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ

29/08/2022, 83

Zeytin (*Olea europaea*) meyvesi yenen yaprağında fenolik asitler, fenolik alkoller, flavonoidler, sekoiridoidler ve triterpenler gibi çok sayıda biyoaktif bileşenler bulunduran uzun ömürlü bir ağaçtır. Zeytin yaprağında bulunan en önemli biyoaktif madde oleuropeindir. Zeytin yaprağı halk arasında tıbbi ve terapötik etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmada zeytin yaprağı ekstraktının yetişkin dişi hamsterlerde östrus siklusu üzerine etkileri araştırılmıştır. Yaz mevsiminde Çanakkale'nin Geyikli beldesinden toplanan zeytin yaprakları öğütülerek toz haline getirildikten sonra soxhlet cihazında (50 g zeytin yaprağı-400 mL %70'lik etanol) ekstraktı elde edilmiştir. Dişi hamsterlere 30 gün süresince üç farklı dozda (20 mg/kg, 40 mg/kg, 80 mg/kg) zeytin yaprağı ekstraktı intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Çalışma sonunda hayvanların östrojen hormon seviyesine, vajinal smear sürüntüsünde östrus siklusuna, ovaryum ve uterus histolojisine bakılmıştır. Zeytin yaprağı ekstraktının vajinal smear çalışmalarından elde edilen bulgulara göre uygulanan her doz kontrole göre daha etkili olurken yüksek doz (80 mg/kg) uygulamasının östrojen seviyesinde yükselmeye, vajinal smearde kornifiye hücre sayısında artışa, küçük çekirdekli intermediyal hücre sayısında azalmaya sebep olduğu, ovaryumlarda ovulasyon için uyarılan folikül sayısında artışa, uterusun endometriyal tabakasında kalınlaşmaya neden olduğu görülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Oleuropein, Östrojen, Östrus siklus, Ovaryum, Zeytin

## ABSTRACT

### EFFECTS OF OLIVE (*Olea europaea*) LEAF EXTRACTS ON OESTRUS CYCLE OF FEMALE SYRIAN HAMSTERS (*Mesocricetus auratus*)

Selma ÖZSALMANLI

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ

29/08/2022, 83

Olive (*Olea europaea*) is a long-lived tree whose fruit is eaten and its leaves contain many bioactive components such as phenolic acids, phenolic alcohols, flavonoids, secoiridoids, and triterpenes. The most important bioactive substance found in olive leaves is oleuropein. Olive leaf is widely used among people for its medicinal and therapeutic effects. In this study, the effects of olive leaf extract on the estrus cycle of female adult hamsters were investigated. Olive leaves collected in the summer season from Çanakkale Geyikli town were used. After the olive leaves were ground into powder, the extract was obtained in sox (50 g leaf-400 mL %70 ethanol). Three different doses (20 mg/kg, 40 mg/kg, and 80 mg/kg) of olive leaf extracts were injected into female hamsters for 30 days. At the end of the study, the estrogen hormone level of the animals the estrus cycle in the vaginal smear swab, ovarial and uterus histology were examined. According to the findings obtained from the vaginal smear studies of olive leaf extract, all doses applied were effective compare to control group but a high dose (80 mg/kg) application causes an increase in the estrogen level, an increase in the number of cornified cells in the vaginal smear, a decrease in the number of small-nucleated intermedial cells, an increase in the number of follicles stimulated for ovulation in the ovaries, an increase in the thickness of the endometrial layer of the uterus.

**Keywords:** Estrogen, Oestrus cycle, Oleuropein, Olive, Ovary.



# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiii

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

1.1. Zeytin Yaprığının Genel Özellikleri .....	1
1.2. Zeytin Yaprığının İçindeki Biyoaktif Bileşiklerin Genel Özellikleri .....	1
1.3. Zeytin Yaprığının Biyoaktif Etkileri.....	3
1.3.1. Zeytin Yaprığının Antioksidan Etkileri.....	3
1.3.2. Zeytin Yaprığının Nöroprotektif Etkileri .....	4
1.3.3. Zeytin Yaprığının Üreme Sistemi Üzerine Etkileri.....	5
1.4. Zeytin Yaprığının Sağlık Alanında Kullanımı.....	5
1.5. Bilimsel Araştırmalarda Rodentlerin Tercih Edilmesinin Nedenleri .....	6
1.6. Dişi Rodentlerde Üreme Sisteminin Yapısı .....	6
1.6.1. Ovaryum.....	7
1.6.2. Uterus.....	29
1.7. Suriye Hamsteri ( <i>Mesocricetus auratus</i> ) .....	34

1.7.1. Suriye Hamsteri'nin Östrus Siklusu Safhalarının Saptanması.....	35
--	----

## İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	43
-------------------	----

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL YÖNTEM	45
-----------------	----

3.1. Zeytin Yaprağı ( <i>Olea europaea</i> ) Ekstraktının Hazırlanışı .....	45
3.2. Hayvan Denekleri .....	45
3.3. Zeytin Yaprağının Ekstraktlarının Hayvanlara Uygulanması .....	46
3.4. Vajinal Smear Uygulaması.....	47
3.5. Dekapitasyon, Kan Alımı, Diseksiyon ile Ovaryumun ve Uterusların Çıkarılması.....	47
3.6. Alkol Serisinden Geçirme .....	48
3.6.1. Kullanılan Kimyasallar.....	48
3.7. Parafinleme.....	49
3.8. Kesit Alma:.....	49
3.9. Boya Serisinden Geçirme: .....	49
3.9.1. Kullanılan Kimyasallar.....	50
3.10. Kan Alımı ve Hormon Ölçümü .....	50

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI	51
---------------------	----

4.1. Araştırma Bulguları .....	51
4.1.1. Östrus Siklusu Sonuçları.....	51
4.1.2. Ovaryum Sonuçları.....	61
4.1.3. Uterus Sonuçları.....	63
4.1.4. Hormon Analizi Sonuçları.....	66

4.2. Tartışma.....	66
--------------------	----

## **BEŞİNCİ BÖLÜM**

<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>70</b>
--------------------------	-----------

KAYNAKLAR.....	72
----------------	----

EKLER .....	I
-------------	---

EK I .....	I
------------	---

EK II.....	II
------------	----

EK III.....	III
-------------	-----

EK IV.....	IV
------------	----

## SİMGELER VE KISALTMALAR

COC	Kumulus-Oosit Kompleksi
CC	Kumulus Hücreleri
MGC	Mural Granuloza Hücreleri
ZP	Zona Pellusida
KitL	Kit Ligand
OMI	Oosit Maturasyonunu Engelleyici Faktör
PAS	Periodik Asit Schiff
KL	Korpus Luteum (sarı cisim)
E2	Östrojen
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
IGF-I	İnsülin Seven Büyüme Faktörü
GDF9	Growth Differentiation Factor (Büyüme Farklılık Faktörü 9)
GH	Büyüme Hormonu
GF	Büyüme Faktörü
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
g	Gram
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
FSHR	Folikül Uyarıcı Hormon Reseptörü
Kg	Kilogram
LDL	Kötü Kolesterol
LH	Lüteinleştirici Hormon
LHR	Luteinize Edici Hormon Reseptörü
LHRH	Lüteinleştirici Hormon Salgılatıcı Hormon
mg	Miligram
mm	Milimetre
ROT	Rotenone, Dünya Sağlık Örgütü tarafından orta derecede tehlikeli olarak sınıflandırılan toksik bir madde

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Dişi Rodentlerde Üreme Sistemi Yapısı	7
Şekil 2	Germinatif Epitel ve Tunika Albuginea	8
Şekil 3	Şematik Ovaryum Kesiti	10
Şekil 4	Dişilerde Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal Eksen	11
Şekil 5	Folikülogenezin Hormonal Kontrolü	14
Şekil 6	Primordial Foliküller	15
Şekil 7	Primordial Folikül	16
Şekil 8	Primordial ve Primer Foliküller.	17
Şekil 9	Primer Folikül	18
Şekil 10	ZP ve Granüloza Hücrelerinin Elektron Mikroskopik Görünümleri	18
Şekil 11	Geç (Çok katlı, Multilaminar) Primer Folikül	19
Şekil 12	Primordial ve Primer Folikül Çeşitleri	20
Şekil 13	Antral Folikül	21
Şekil 14	Teka İnterna ve Eksterna Tabakaları	23
Şekil 15	Graaf Folikülü	25
Şekil 16	Sekonder ve Graaf Folikülleri	26
Şekil 17	Dişi Rodentlerde Üreme Sistemim Yapısı	30
Şekil 18	Uterusun Histolojisi	31
Şekil 19	Uterus Histolojisi ve Katmanları	32
Şekil 20	Parabazal Hücreler	37
Şekil 21	İntermedial Hücreler	37
Şekil 22	Östrus Siklus Dönemlerinde Karakteristik Olan 3 Farklı Hücre Çeşidinin Mikroskopik Görüntüleri	38

<b>Şekil 23</b>	Östrus Dönemlerinde Görülen Hücre Tiplerinin Oranları	39
<b>Şekil 24</b>	Vajinal Yaymaların Sitolojik Değerlendirmesi	40
<b>Şekil 25</b>	Kontrol Grubu Proöstrus Evresi (20X)	51
<b>Şekil 26</b>	Kontrol Grubu Östrus Evresi (20X)	52
<b>Şekil 27</b>	Kontrol Grubu Metöstrus Evresi (20X)	52
<b>Şekil 28</b>	Kontrol Grubu Diöstrus Evresi (20X)	53
<b>Şekil 29</b>	Birinci Grup Östrus Evresi (20X)	54
<b>Şekil 30</b>	Birinci Grup Östrus Evresi (20X)	54
<b>Şekil 31</b>	Birinci Grup Metöstrus Evresi (20X)	55
<b>Şekil 32</b>	Birinci Grup Diöstrus Evresi (20X)	55
<b>Şekil 33</b>	İkinci Grup Proöstrus Evresi (20X)	56
<b>Şekil 34</b>	İkinci Grup Östrus Evresi (20X)	57
<b>Şekil 35</b>	İkinci Grup Metöstrus Evresi (20X)	57
<b>Şekil 36</b>	İkinci Grup Diöstrus Evresi (20X)	58
<b>Şekil 37</b>	Üçüncü Grup Proöstrus Evresi (20X)	59
<b>Şekil 38</b>	Üçüncü Grup Östrus Evresi (20X)	59
<b>Şekil 39</b>	Üçüncü Grup Metöstrus Evresi (20X)	60
<b>Şekil 40</b>	Üçüncü Grup Diöstrus Evresi (20X)	60
<b>Şekil 41</b>	Kontrol Grubu Ovaryum Enine Kesiti (4X)	61
<b>Şekil 42</b>	Birinci Grup Ovaryum Enine Kesiti (10X)	62
<b>Şekil 43</b>	İkinci Grup Ovaryum Enine Kesiti (10X)	62
<b>Şekil 44</b>	Üçüncü Grup Ovaryum Enine Kesiti (4X)	63
<b>Şekil 45</b>	Kontrol Grubuna Ait Uterus Dokusunun Enine Kesiti (10X)	63
<b>Şekil 46</b>	Birinci Gruba Ait Uterus Dokusunun Enine Kesiti (10X)	64
<b>Şekil 47</b>	İkinci Gruba Ait Uterusun Enine Kesiti (10X)	64

<b>Şekil 48</b>	Üçüncü Gruba Ait Uterusun Enine Kesiti(10X)	65
<b>Şekil 49</b>	Östrojen Hormon Analizi	66



## TABLULAR DİZİNİ

	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo No</b>		
<b>Tablo 1</b>	Zeytin Yaprağı Ekstraktındaki Fenolik Bileşikler ve Oranları	2
<b>Tablo 2</b>	Zeytin Yaprağındaki Fenolik Bileşenlerin Konsantrasyonları	2
<b>Tablo 3</b>	Zeytin Yapraklarındaki Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Kapasiteleri	4
<b>Tablo 4</b>	Vajinal Smeardeki Hücre Morfolojisi İle Östrus Siklus Safhalarının Sınıflandırılması	39
<b>Tablo 5</b>	Östrus Siklusu Safhalarının Özellikleri	42
<b>Tablo 6</b>	Alkol Serisinden Geçirme	48
<b>Tablo 7</b>	Boya Serisinden Geçirme	49
<b>Tablo 8</b>	Kontrol Grubu Vajinal Smear Sonuçları	53
<b>Tablo 9</b>	Birinci Grubun Vajinal Smear Sonuçları	56
<b>Tablo 10</b>	İkinci Grubun Vajinal Smear Sonuçları	58
<b>Tablo 11</b>	Üçüncü Grubun Vajinal Smear Sonuçları	61
<b>Tablo 12</b>	Ovaryum ve Uterus Enine Kesitlerinin İncelenme Sonuçları	65



# BİRİNCİ BÖLÜM:

## GİRİŞ

### 1.1. Zeytin Yaprağının Genel Özellikleri:

Zeytin ağacı (*Olea europaea*) (El ve Karakaya, 2009) zeytingiller (Oleaceae) familyasına ait olup yaprakları her zaman yeşil olan, yavaş gelişmesine rağmen oldukça uzun ömürlü bir ağaçtır. Ortalama ömrü birkaç yüz yıl olup günümüzde 2–3 bin yaşında olan zeytin ağaçlarına da sık rastlanır. Akdeniz bölgesinde yetiştirilen zeytin ağacı sayısı tüm dünyada yetiştirilenin yaklaşık %90'ını oluşturur (Hansen, 2002). Zeytin yaprağı halk arasında tıbbi ve terapötik etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Zeytin yaprağı ekstraktlarının çeşitli şekillerde kullanımlarına bağlı olarak antimikrobiyal, antiviral, antioksidan, antienflamatuvar, antitrombosit, antihiperlipidemik, anti-iskemik, antitoksik, antikanser, hipotansif ve hipoglisemik gibi çok önemli biyolojik aktiviteleri vardır (Ficarra vd., 1991). Ayrıca zeytin yaprağı ekstraktının gastrointestinal sistem, kardiyovasküler ile nöroendokrin sistemler üzerine pozitif etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Mosleh vd., 2016).

### 1.2. Zeytin Yaprağının İçindeki Biyoaktif Bileşiklerin Genel Özellikleri:

Zeytin yaprakları fenolik bileşenler açısından oldukça zengindir. Zeytin yaprakları hakkında yapılan araştırmalara göre yapısında 101 çeşit biyoaktif bileşik bulunmaktadır (Malik ve Bradford, 2006). Bunlardan en önemlileri sekoiridoidler, triterpenler, fenolik asitler, flavonoidler ve fenolik alkollerdir. Bu fenolik bileşikler içinde en çok bulunan sekoiridoidlerdir. Sekoiridoidler sahip oldukları elenolik asit ve türevleri sayesinde diğer fenolik bileşiklerden ayrılırlar. Sekoiridoidler sadece Oleaceae familyasından *Olea europaea L.* türü içerisinde bulunur. Bununla birlikte, zeytinde en fazla bulunan sekoiridoid glikozitler oleoropein, ligstrosit, nüzhenit ile dimetiloleuropeindir (Ünlüel ve Aydın, 2016).

Fenolik bileşiklerin en önemli özelliği radikal süpürücü yani antioksidan olmalarıdır. Yapılan çalışmalarla kan basıncını düşürdüğü, koroner arterlerdeki kan akışını arttırdığı, vücudun bağışıklık sistemini kuvvendirmediği de tespit edilmiştir (Oh ve By, 2010).

Tablo 1.

Zeytin yaprağı ekstraktındaki fenolik bileşikler ve oranları

Oleuropeosidler (Sekoiridoidler)	Oleuropein	24,54
	Verbaskosid	1,11
Fenoller	Tirosol	0,71
	Hidroksitirosol	1,46
	Vanilin	0,05
	Vanilik asit	0,63
	Kafeikasit	0,34
Flavanol	Rutin	0,05
Flavan-3-ol	Kateşin	0,04
Flavonlar	Luteolin-7-glukosid	1,38
	Apigenin-7-glukosid	1,37
	Diosmetin-7-glukosid	0,54
	Luteolin	0,21
	Diosmetin	0,05

(Benavente-Garcia vd., 2000; Malayoğlu-Basmacıoğlu ve Aktaş, 2011)

Zeytin ağacının tamamında bulunan en önemli biyoaktif madde oleuropeindir ve doğada en çok bulunduğu yer de zeytin ağacıdır (Malik ve Bradford, 2006).

Tablo 2.

Zeytin yaprağındaki fenolik bileşenlerin konsantrasyonları

Fenolik Bileşen	Konsantrasyon (mg/kg)
Hidroksitirozol	219 ± 3
Oleuropein	2,231 ± 52
Dimetiloleuropein	984 ± 47
Verbaskosid	27.45 ± 4.05
Rutin	15.80 ± 4.51
Luteolin 7-o-glukozid	15.80 ± 4.51

(Ünlüel ve Aydın., 2016)

Ağacın tamamına oranla zeytin yapraklarında oldukça yüksek miktarda bulunan oleuropeinin ortalama miktarı 60-90 mg/gr civarındadır (yaprağın kuru ağırlığının yaklaşık %6-9'u) (Servili vd.,1999).

Oleuropeinin yüksek miktarlarda bulunuşu zeytinin tadını acılaştırır. Zeytin meyvesi olgunlaştıkça oleuropein miktarı düşer ve zeytinin acı tadı azalır (Tokuşoğlu, 2010).

Oleuropein 1800'lü yıllarda sıtma hastalığı sonucu gelişen ateşin giderilmesi için ilk etapta tedavi maksatlı kullanılmıştır. Bourquelot ve Vintilesco tarafından 1908 yılında keşfedilen oleuropein, 1960 yılında izole edilmiş (Benavente-Garcia vd., 2002; Yıldız ve Uylaşer, 2011); 1970 yılında ise oleuropeinin kimyasal yapısı açıklanıp bilimsel olarak tanımlanmıştır (Türköz vd., 2008).

Oleuropein, elenolik asit ve hidroksitrosolün glikozidik bir esteridir (Inouye vd., 1970). Zeytin ağaçları ürettikleri en önemli antioksidanlardan biri olan oleuropein yardımıyla hastalık ve zararlılara karşı direnç geliştirmiş, ortam koşullarına uyum sağlamış ve hücre yenilenmesi gerçekleştirerek dünya üzerinde yetiştirilen en uzun ömürlü ve dayanıklı ağaçlar arasında sayılmıştır (Tokuşoğlu, 2010).

### **1.3. Zeytin Yapracağının Biyoaktif Etkileri:**

#### **1.3.1. Zeytin Yapracağının Antioksidan Etkileri:**

Antioksidanlar vücudumuzda metabolizma sonucu meydana gelen veya dışarıdan alınan zararlı maddeleri etkisizleştirerek oksidasyonu geciktiren ya da önleyen, kalp krizi ve kanser gibi hastalıklara zemin hazırlayan serbest radikallerin oluşmasını engelleyen maddelerdir. Zeytin ağacı sahip olduğu fenolik içerikler sayesinde doğada bulunan en önemli doğal antioksidan kaynağıdır. Zeytin yaprağının içerisindeki fenolik bileşiklerden oleuropein çok güçlü bir antioksidandır. Zeytin yaprağındaki flavonoidler sayesinde zeytin yaprağı, zeytin meyvesine oranla çok daha fazla antioksidan özellik taşır. Zeytin yaprağı içerisinde oleuropeinden başka antioksidan etki gösteren vanilin, vanilik asit, rutin, apigenin, kafeikasit, luteolin, diosmetin vb. farklı bileşikler de bulunur (Benavente vd., 2000; Ryan vd., 2002; Fitó vd., 2007; Ok-Hwan vd., 2009; Zheng vd., 2016).

Tablo 3.

Zeytin yapraklarındaki fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri

Fenolik bileşik	TEAC*(mmol/L) Troloks eşdeğer antioksidan kapasite
Zeytin yaprağı özütü	1.58
Rutin	2.75
Kateşi	2.28
Luteolin	2.25
Hidroksitirozol	1.57
Diosmetin	1.42
Kafeik asit	1.37
Verbascoside	1.02
Oleuropein	0.88
Luteolin-7-glukosit	0.71
Apigenin-7-glukosit	0.42

(Benavente-Garcia vd., 2000)

Yapılan araştırmalarda oleuropeinin canlıda antioksidan etki göstererek serbest radikallerin üretimini azalttığı gözlenmiştir (Manna vd., 1999). LDL (kötü kolesterol-low density lipoprotein) kolesterolü eğer okside olursa, çok tehlikeli bir forma dönüşerek atardamarların yapısına zarar verebilir. Oleuropein antioksidan özelliğiyle LDL kolesterolünün oksidasyonunu azaltarak damarların zarar görmesini engellemektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan başka çalışmalarla da oleuropeinin antioksidan özelliği kanıtlanmıştır (Zaruelo vd., 1991). Diyabetli ratlarda etil alkol zeytin yaprağı ekstresinin antioksidan özelliğinin incelendiği bir araştırmada, zeytin yaprağı ekstresinin antioksidan özellik göstermesi sayesinde diyabet ve bunun sonucu gelişen komplikasyonların sebep olduğu oksidatif stresi azalttığı kaydedilmiştir (Ağgöl, 2012).

### 1.3.2. Zeytin Yapracağının Nöroprotektif Etkileri:

Serebral iskemi geçiren hayvan modeline oral yolla zeytin yaprağı ekstresinin verildiği bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstresinin nöroprotektif etki oluşturduğu; beyin ödemi, enfarktüs hacmi ve kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azalttığı; geçici orta serebral arter tıkanması sonucu gelişen nörolojik eksikliği iyileştirdiği, Alzheimer hastalığını önlemeye de yardımcı olduğu kaydedilmiştir (Gikas vd., 2007; Mohagheghi vd., 2011).

### **1.3.3. Zeytin Yaprağının Üreme Sistemi Üzerine Etkileri:**

Zeytin yaprağı ekstraktının toksik bir madde olan rotenona (ROT) maruz bırakılan sıçanların testislerinde sperm kalitesi ve antioksidan kapasite üzerindeki etkisini ele alan bir araştırmada, bu ekstraktın sperm kalitesini iyileştirdiği ve kısırlığı tedavi edebileceği tespit edilmiştir (Sarbishegi vd., 2017). Zeytin yaprağının alkollü ekstraktının erkek sıçanlarda serum FSH, LH ve testosteron (erkek cinsiyet hormonu) üzerindeki etkisinin incelendiği bir araştırmada, zeytin yaprağı ekstraktının oral yoldan verilmesinin testosteron seviyesindeki azalmayı engelleyebileceği kaydedilmiştir (Nasirzadeh, 2017). Başka bir araştırmada, değişik mevsimlerde (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) toplanılan zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktların, erkek Suriye hamsterlerinin (*Mesocricetus auratus*) sirkadiyen ritimleri ve testosteron hormonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmanın sonunda kış mevsimine ait zeytin yaprağı ekstresinin sirkadiyen ritim üzerinde yaptığı değişimlerin en yüksek görüldüğü, yaz mevsimine ait zeytin yaprağı ekstresinin de testosteron hormonu değerlerini yükselttiği tespit edilmiştir (Kortun, 2018).

### **1.4. Zeytin Yaprağının Sağlık Alanında Kullanımı:**

Zeytin yaprağının sağlık alanında kullanımıyla ilgili edindiğimiz bugünkü bilgilerin çoğu 1800'lü yıllarda sıtma salgınına ve sıtma ateşine karşı zeytin yaprakları ekstraktlarının kullanılması sonucu ortaya çıkmıştır (Sarı, 2016). Oleuropeinin zeytin yaprağından izole edilip tanımlanması 1900'lü yılların başında gerçekleşmesine rağmen modern tıpta ilk defa zeytin yaprağı ekstraktının kullanılmaya başlanması ancak 1995 yılında gerçekleşebilmiştir. Zeytin yaprağı sahip olduğu doğal antioksidan, antibiyotik, antibakteriyel, antimantar, antiparazit, antiviral, antiseptik, sakinleştirici, cildi sıkılaştırıcı, bağışıklık sistemini düzenleyici ve güçlendirici özellikleri sayesinde hastalıkların tedavisinde ve hastalıklardan korunmada kullanılabilen bir bitkidir (Ryan vd., 2002). Zeytin yaprakları geleneksel olmakla birlikte bugün bile Avrupa ülkelerinde diyabet, hipertansiyon ve bazı bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılmakta ve geleneksel ilaçlar arasında olduğu düşünülmektedir (Sato vd., 2007).

### **1.5. Bilimsel Araştırmalarda Rodentlerin Tercih Edilmesinin Nedenleri:**

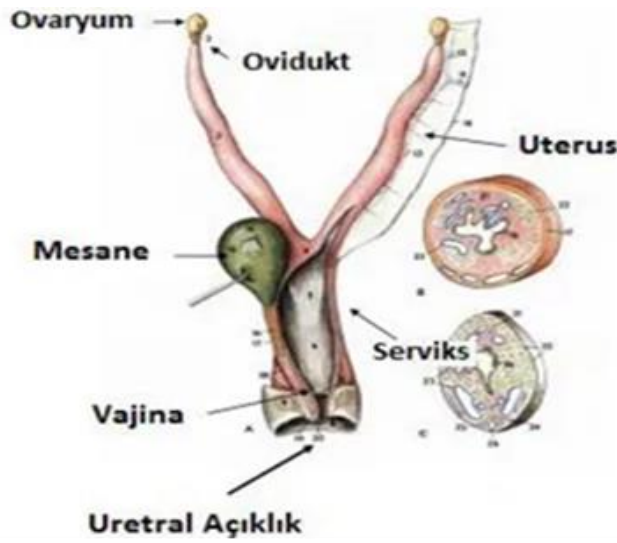
Tıbbi ve biyolojik bilimsel araştırmalarda tercih edilen rodentler (genellikle myomorf türü) (Gültiken, 2020), üreme sistemi bozukluklarının anlaşılması ve tedavi edilebilmesine yönelik yapılan araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Yiğit vd., 2019). İki aylık olduklarında reproduktif açıdan olgunlaşan dişi rodentlerde östrus siklusu ve ovulasyon gerçekleşir. İnsanlarda 28 gün süren menstrual döngü ile karşılaştırıldığında genç dişi rodentlerde östrus siklusu 4-5 gün sürdüğü için rodentler ile çalışmak, deney süresini oldukça kısaltır. Bu durum ise zaman açısından kayda değer bir avantajdır (Stilley vd., 2012). Rodentlerin tercih edilmelerinin diğer sebepleri de rahat çalışılabilmeleri, bakımlarının zor olmaması ve tür çeşitliliklerinin geniş bir aralıkta olmasıdır (Yiğit vd., 2019).

### **1.6. Dişi Rodentlerde Üreme Sisteminin Yapısı:**

Dişi rodentler erkeklere nazaran daha küçük boyuta sahip olduğu için dişilerin gelişimlerini tamamlama süreleri erkeklerden daha kısa sürede gerçekleşir ve erkeklerden daha kısa zamanda büyürler (Lohmiller ve Swing, 2006). Cinsiyet tayini yapılırken anüs ve üretra açıklığını kapsayan alan olan perineal bölgeye ve meme ucu bulunup bulunmamasına bakılır. Erkek rodentler testislerini abdomenlerine çekebildikleri için perineal bölgedeki anogenital açıklık denen anal ve ürogenital organ arasındaki mesafeye bakılmalıdır. Anogenital açıklık erkeklerde dişilere oranla daha fazladır. Ayrıca erkek rodentlerde meme ucu bulunmaması cinsiyet tayini yapılırken dikkat edilen bir başka özelliktir (Rugh, 1968).

Dişi rodentler 18-22 gün süren hamilelikten sonra 5-10 yavru dünyaya getirebilirler. Doğan yavrular bir aylık olduktan sonra süttten kesilirler. İki aylık olduklarında seksüel olarak olgunlaşıp puberteye ulaşırlar (Richardson, 2003; Soylu, 2011). Seksüel olgunluğa ulaşip vajinal açıklığın oluştuğu ve ilk östrus siklusunun geçirildiği zaman Puberte olarak adlandırır (Russell, 1992). Rodentler poliöstrik hayvanlar olup döngüsel seksüel aktiviteleri pubertenin başlangıcından yaşlılığa kadar sürer (Richardson, 2003; Soylu, 2011).

Dişi genital sistemi organları şöyle sıralanabilir: ovaryum, ovidukt, uterus serviks, vajina. İçi foliküllerle dolu olan ovaryumlar, yetişkin dişi kemirgenlerin böbreklerinin kranial kutbunda periovaryan boşlukta bulunur. Ovidukt helezonik yapıda olup ovaryumları bikornual yapıdaki uteruslara bağlar (Richardson, 2003). Dişi rodentlerde tek serviks açılan iki uterus bulunur (Popeskovd., 1990). Uteruslar da iki serviks yoluyla vajinaya bağlanır (Richardson, 2003).



Şekil 1. Dişi rodentlerde üreme sistemi yapısı  
(Oflamaz A., 2015)

### 1.6.1. Ovaryum:

İçeri farklı gelişim aşamalarındaki foliküllerle dolu olan ovaryumlar, yetişkin dişi kemirgenlerin böbreklerinin kranial kutbunda bulunur (Richardson, 2003).

#### Ovaryumun Histolojisi:

Histolojik olarak ovaryumda üç katman gözlenir:

- 1) Epitelyum
- 2) Tunika albuginea
- 3) Ovaryum stroması

## 1) Epitelyum (Germinatif Epitel):

Ovaryumun yüzeyini örten tek sıra kübik epitel hücrelerinin oluşturduğu bir tabakadır. Germinatif epitel ya da Germinal epitel de denir (Young ve Heath, 2000; Girgin vd., 2010). Germinal epitel genç bireylerde kübik epitel hücrelerinden oluşan tek katlı bir tabaka iken ilerleyen yaşlardaki bireylerde yassı epitel hücrelerinden oluşur. Germinal epitel kolaylıkla döküldüğü için çoğu zaman tam olarak görülmez, sadece bir bölümü görülebilir (Kierszenbaum, 2000). Germinal epitelin yüzeyinde çok sayıda, yüzey alanını arttıran, hareketsiz uzantılar olan mikrovilluslar ile az sayıda, hareketli uzantılar olan kinosilyumlar gözlenir. Germinal epitel hücrelerinin sitoplazmasında çok sayıda pinositotik veziküller, mitokondriler progesteron ve östrojen reseptörleri, epidermal büyüme faktörleri, glikojen ve mukopolisakkaritler yer alır (Young ve Heath, 2000; Abraham, 2006; Girgin vd., 2010).

## 2) Tunika albuginea:

Germinal epitel bazal membranın üzerinde bulunurken, bazal membranın altında da Tunika albuginea denen bir tabaka bulunur. Tunika albuginea yüzeye paralel çok sayıda kollajen lif demetleri içeren, az damarlı, düzensiz, sıkı ve ince (5-16  $\mu$  kalınlığında) bağ doku özelliğinde bir tabakadır. Buradan ayrılan lif demetleri ovaryumun merkezine yönelir ve merkezde birbirine geçen üç boyutlu iskelet yapısını meydana getirir. Tunika albuginea içinde düz kas ve fibroblast özelliği gösteren hücreler vardır. Bu hücreler ovaryumun korteks bölümündeki interstisyel hücelere farklılaşarak östrojen salgırlar (Girgin vd., 2010).



Şekil 2. Germinatif epitel ve tunika albuginea

(Junqueira ve Carneino, 2003)



**3) Ovaryum Stroması:** Ovaryumun hem temel ve hem de destek dokusu olup dışarıda korteks içerde de medulla denilen iki bölgeden oluşan bir tabakadır.

**a. Korteks:**

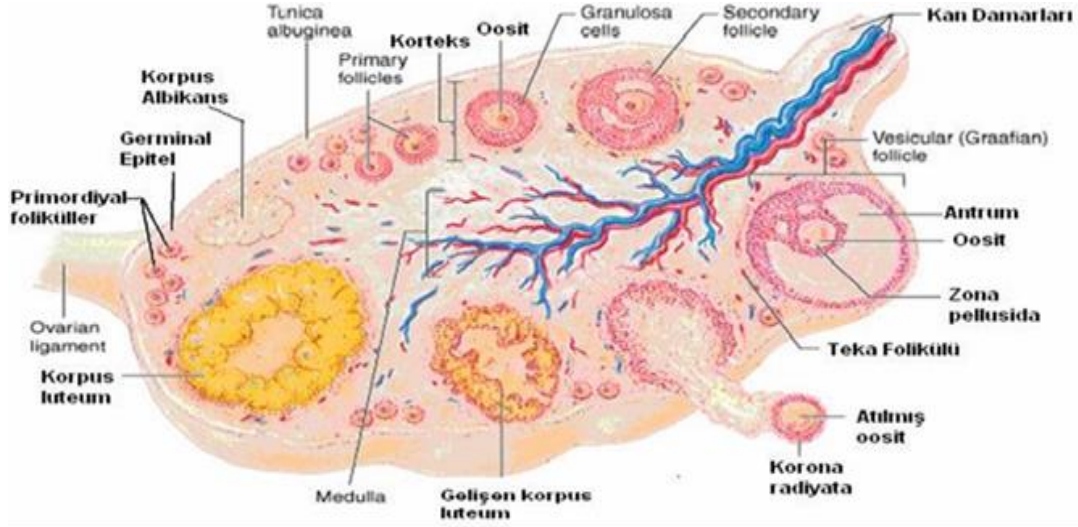
Ovaryumun dışında yer alan işlevsel kısmı olup yapısında çeşitli gelişim aşamalarında bulunan ovaryum folikülleri ve Korpus Luteum (KL) denen özel yapılar bulunur. Buradaki foliküllerin etrafında kollajen ve elastik lifler, ince- uzun mekik şeklinde stroma hücreleri ve interstisyel hücreler yer alır. Stroma hücreleri hormon salgılayan teka interna hücrelerine dönüşebilirler (Young ve Heath, 2000; Girgin vd., 2010). İnterstisyel hücreler poligonal şekilli, ortasında yuvarlak bir çekirdeği ve belirgin çekirdekçikleri olan, sitoplazmalarında küçük yağ damlacıkları bulunan, epiteloid karakterdeki hücrelerdir. Östrojen salgılayan bu hücreler ovaryum stromasında tek tek ya da gruplar halinde bulunurlar (Junqueira ve Carneiro, 2003).

Foliküllerde gerçekleşen atrezi sırasında granuloza hücreleri ve oosit dejenerasyona uğrarken teka interna hücreleri interstisyel hücrelere farklılaşırlar. İnterstisyel hücreler hem granuloza hücrelerinden hem de primordial foliküllerden köken alabilirler (Girgin A vd., 2010).

**b. Medulla:**

Ovaryumun iç bölgesini oluşturan medullanın yapısında gevşek bağ dokusu içerisinde yoğun bir şekilde sinirler, kan ve lenf damarları bulunmaktadır.

Korteks ile medulla arasında belirli bir sınır bulunmamakla birlikte bu damarlar, korteks ile medulla arasında ağ şeklinde bir yerleşim gösterirler (Young ve Heath, 2000; Girgin vd., 2010).



Şekil 3. Şematik ovaryum kesiti.

(Junqueira vd., 1992)

### **Ovaryum Folikül Yapısı ve Fonksiyonu:**

Ovaryumların korteks stromasında dağılmış halde Folikül denen farklı büyüklüklerdeki fonksiyonel yapılar bulunur. Gelişmiş bir folikül içinde oosit ve oositin çevresindeki somatik granuloza hücreleri ile bunları çevreleyen teka hücre tabakasından meydana gelmektedir (Girgin vd., 2010).

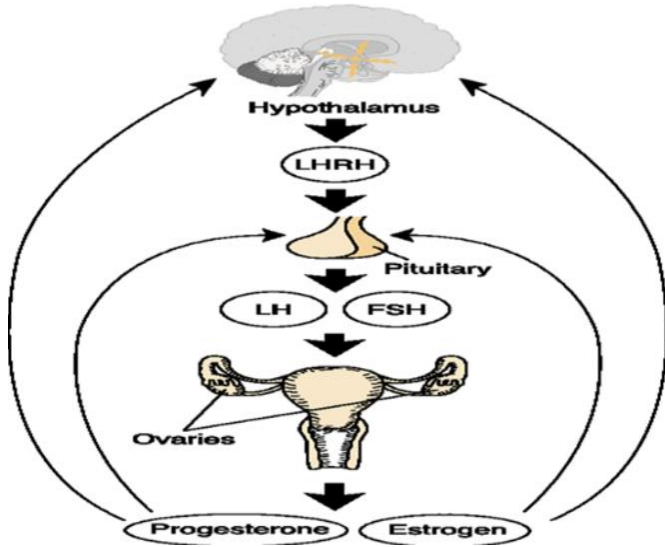
### **Ovaryumun Fizyolojisi:**

Ovaryumların temel olarak iki önemli fizyolojik işlevi bulunur. Bunlardan biri gametlerin üretilmesi (Gametogenez), diğeri de steroid yapıdaki hormonlar olan östrojen ve progesteronun sentezlenip salgılanması (Steroidogenez).

Puberteye giren dişi hayvanın hipotalamusunun pulsatil bir şekilde elektriksel uyarılmasına bağlı olarak hipotalamusun nörosekretuar hücreleri 1-2 saat arayla 5-25 dakika boyunca Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (GnRH) sentezler (Aras, 1974; Guyton ve Hall, 2001). Sentezlenen GnRH önce hipofizyal portal dolaşım sistemine geçer ve buradan da hipofiz bezinin ön lobuna ulaşır. GnRH hipofiz bezinin ön lobuna ulaştığında,

hipofiz bezindeki özel reseptörlerine bağlanır ve burada bazı özel biyokimyasal olayları başlatır (Guyton ve Hall, 2001; Wildmaier vd., 2010). Bu biyokimyasal olaylar sonucu ön hipofiz bezinden ovaryumlar üzerinde etkili olan yüksek oranda FSH (Folikül Uyarıcı Hormon) ve daha az miktarda LH (Luteinize Edici Hormon) salınımı gerçekleşir. Ovaryumlar, gonadotropik hormonlar olan FSH ve LH tarafından uyarılmadan aktif olamazlar. Ovaryumların aktivasyonundan sorumlu ana hormon FSH olup daha az etkili olan hormon da LH'dır (Aras, 1974). FSH ovaryum foliküllerini uyararak folikül hücrelerinden östrojen salınmasını uyarır. LH folikülden ovulasyon oluşumunu uyarıp KL' un şekillenmesine ve KL' lardan progesteron salınımını sağlarlar (Guyton ve Hall, 2001).

GnRH'nin pulsatilik özelliği sayesinde GnRH'nin fonksiyonel olması sağlanır. Aksi takdirde hipotalamustan sürekli olarak GnRH salınması, ön hipofiz bezinden FSH ve LH hormonlarının salgılanmasını durdurur. GnRH'nin pulsatil salgılanması, aynı şekilde LH sekresyonunun da pulsatil olarak her 90 dakikada bir intermitent salınımına sebep olmaktadır (Guyton ve Hall, 2001).



Şekil 4. Dişilerde hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen  
(Kanis, 1994)

LH ve FSH'nin ovaryumlara etkisiyle seksüel döngü sırasında ovaryumlardan östrojen ve progesteron adı verilen iki önemli hormon ard arda salgılanmaktadır.

## **Östrojen:**

Vücutun içinde ve dışında bulunan cinsiyet organlarının büyüme ve olgunlaşmalarına yardımcı olur. Dişiyeye özel vücut biçiminin oluşmasını sağlar. Ovaryumdaki foliküllerin büyüme ve olgunlaşmasını destekler. Uterusun endometrium tabakasının kalınlaşmasını sağlar. Uterustaki kan dolaşımını ve uterus salgısını artırır. Tüm genital yolların epitel örtüsünün ve düz kasların büyümesini sağlar. Vajina epitelinin kornifiye edilmesinden sorumludur. FSH salınımını, geri bildirim mekanizmalarıyla kontrol eder. Hipotalamustaki ilgili nöronları uyararak cinsel arzuyu çoğaltır. Östrojen hormonu desteğiyle, ergenlik dönemindeki dişiseks karakterleri şekillenir. Meme bezlerinde yağ birikimine neden olarak meme bezlerinin büyüme ve gelişmesine neden olur.

## **Progesteronlar:**

Vücutun içinde bulunan dişiseks organlarını hamileliğe hazırlar. Gebelikte uterus kaslarını büyütür, geliştirir. Ayrıca meme bezlerindeki lobular çoğalmaya bağlı gelişmeyi destekler. Bu sayede meme bezlerini süt üretmeye hazır hale getirir. Vajinal epitelin kornifiye olmasını önler. Hipotalamustan Lüteinleştirici Hormon Salgılatıcı Hormon (LHRH) ve hipofiz bezinden LH salgılanmasına engel olur (Fair, 2003).

## **Ovaryan Döngü:**

Ön hipofiz bezi hormonları olan FSH ve LH'nin etkisiyle ovaryumlarda meydana gelen değişikliklere Ovaryan Döngü denir. Bu değişiklikler foliküllerin gelişimi, ovulasyon, Korpus Luteumun oluşması gibi siklik değişikliklerdir (Moore, 2002).

Ovaryan döngü üç evrede incelenebilir:

1) Foliküler evre, 2) Ovulasyon evresi, 3) Luteal evre (Moore, 2002; Kierszenbaum, 2006).

**1) Foliküler Evre (Folikülogenez):** Fetal dönemde ovaryumların farklılaşmasıyla Oogonia adını alan dişiseks germ hücreleri, mitoz bölünmeyle çoğalırlar ve ovaryumlarda primordial foliküllerden oluşan bir rezerv oluştururlar (Delilbaş, 2008). Puberte döneminde ovaryumda bulunan birkaç primordial folikülde, oositin büyümesiyle birlikte onu saran granuloza hücrelerindeki, teka hücrelerindeki, folikülleri çevreleyen stromadaki fibroblast

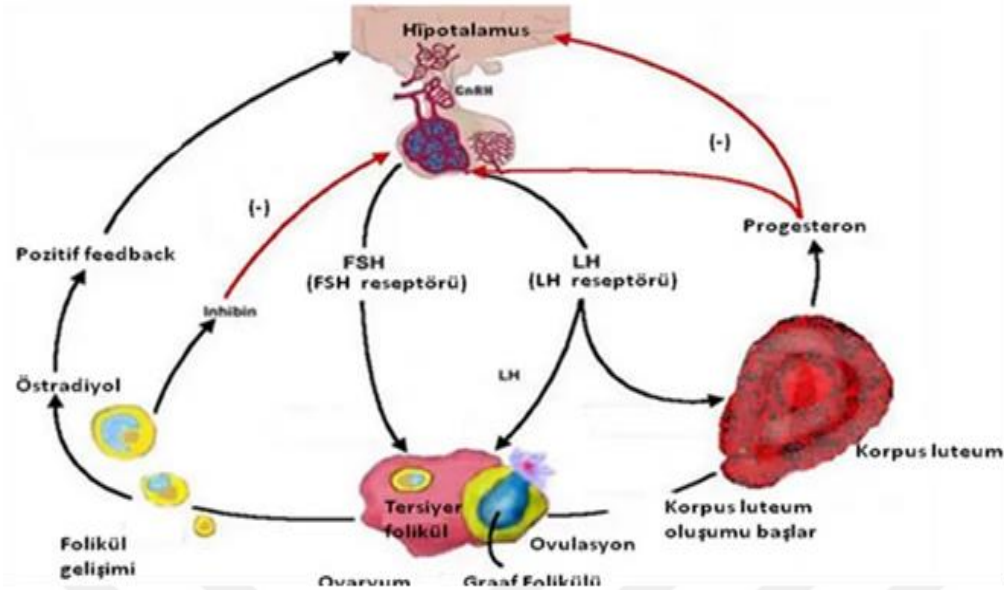
hücrelerindeki değişimleri içeren sürekli bir gelişim evresi başlar (Tekelioğlu, 2002). Folikülogenez, Foliküler Büyüme ya da Foliküler Evre de denen bu olayın amacı ovulasyon ve fertilizasyon için olgun yumurta hücresi üretmektir (Pritchett ve Taft, 2007).

Ovaryumların korteksinde meydana gelen folikülogenez olayı iki evrede gerçekleşir:

1. EVRE: Oosit büyür ve farklılaşır. Bu faza Preantral Folikül veya Gonodotropinden Bağımsız Faz denir. Primer foliküllerin oluşumu gonadotropik hormonlardan bağımsızdır. Bu evre büyüme faktörlerince denetlenir.

2. EVRE: Bu evrede folikülün boyutu oldukça fazla artar. Bu evreye Antral Folikül veya Gonadotropin Bağımlı Faz da denir. Bu faz FSH, LH ve büyüme faktörleri (GF) ile kontrol edilmektedir (Michael vd.,1989; Mc Gee ve Hsueh, 2000; Pritchett ve Taft, 2007).

Steroid hormonlar granüloza ve teka interna hücrelerinden salgılanıp hipotalamus-hipofiz sistemini etkileyerek GnRH salgılanmasını düzenlerler. Primer foliküllerin oluşumu gonadotrop hormonlardan bağımsız gerçekleşir (Michael vd., 1989). Foliküler evrenin başında FSH salınımının artmasıyla primer foliküllerin gelişimi uyarılır. Bunun neticesinde granüloza hücrelerinde FSH reseptörlerinin sayısı artar; bu etkiyle granüloza hücreleri artar ve bu hücrelerde aromataz enzimi üretilmeye başlanır. Yüksek östrojen düzeyi FSH' ı azaltırken, LH' ı artırır. Teka interna hücrelerinde LH reseptörleri bulunur. LH, teka interna hücrelerindeki LH reseptörlerini etkileyerek teka interna hücrelerinde bir steroid hormon, östrojen prekürsörü bir androjen olan androstenedionun üretilmesini sağlar (Ross HM vd., 2003). Üretilen androstenedion granüloza hücre tabakasına taşınır. FSH etkisiyle granüloza hücrelerinden sentezlenen aromataz enzimi, androstenedionu östrojene çevirerek östrojen (estradiol/E2) üretilmesini sağlar. Sentezlenen östrojen, folikülü saran stromaya dönerek kan damarlarından kana geçer ve tüm vücuda yayılır (Tasaki vd., 2013). Artan östrojenler doğrudan hipofizi etkileyerek FSH salınımını azaltırken, LH salınımını artırır. Dolaylı bir şekilde de GnRH sentezine baskı yaparak FSH'ın salgılanmasını zorlaştırır. Ovulasyon öncesi östrojenler LH salgısını artırır ve LH miktarındaki bu artış sonucu da ovulasyon başlar (Michael vd., 1989).



Şekil 5. Folikülogenezin hormonal kontrolü  
(Tepeköy, 2011)

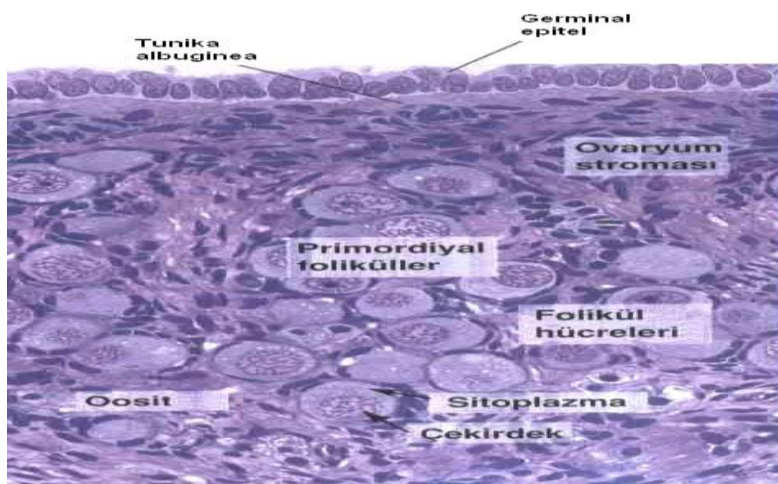
Korteks stromasına dağılmış şekilde bulunan ve her biri bir oosit içeren farklı büyüklüklerdeki ovaryum foliküllerinin histolojik olarak üç tipi bulunur. Folikülün çapı oositin gelişim durumunu gösterir. Bu folikül tipleri şunlardır:

1. Primordial Foliküller
2. Gelişmekte Olan Foliküller
  - a. Primer Foliküller: Unilaminar (Tek Tabakalı/ Erken) Primer Folikül;  
Multilaminar (Çok Tabakalı / Geç / Preantral) Folikül
  - b. Sekonder (Antral) Foliküller
3. Graaf (Tersiyer, Olgun) Foliküller

Bir ovaryumda bu üç folikül çeşidi aynı anda bulunmakta olup en yaygın olanı primordial foliküllerdir (Girgin vd., 2010).

## 1) Primordial Folikül:

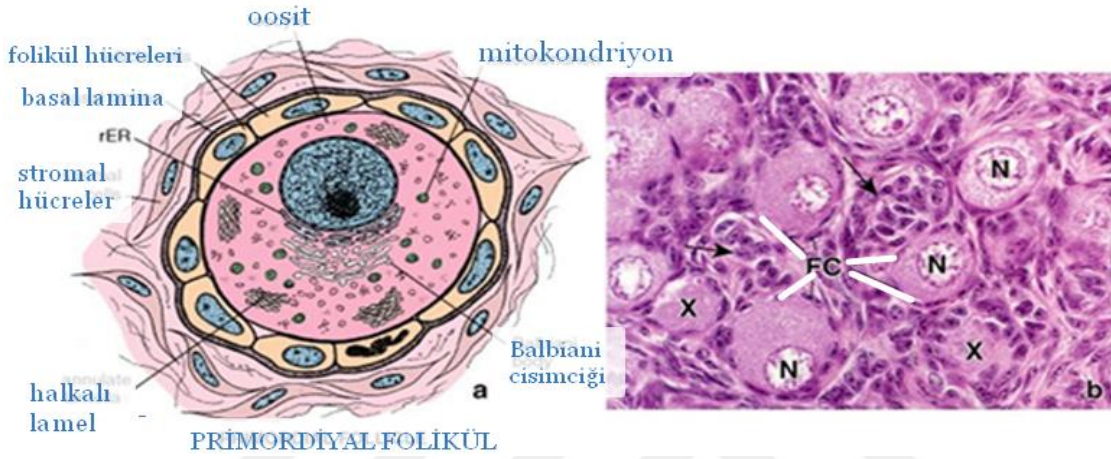
Ovaryumun reprodüktif birimi olan primordial foliküller (Colgar, 2006), memelilerin fetal gelişim aşamasında olgunlaşmış ovaryumlarda Tunika albuginea'nın hemen altında korteks stroması içinde tek başına ya da gruplar halinde bulunmaktadır. Ovaryumlardaki ilk dişi üreme hücresi olan oogonia, ovaryumlarda ard arda geçirdiği mitoz bölünmeler sonucu çoğalarak primer oosite dönüşür (Pritchett ve Taft, 2007). Primer oositlerin, mayoz bölünmenin profaz 1 safhasında tek tabakalı yassı folikül hücreleriyle sarılmış halde bulunduğu şekle Primordial Folikül adı verilir (Sadler, 1995). Erken gelişim aşamasındaki primordial foliküller gonadotropin uyarımından etkilenmezler (Girgin vd., 2010). Primordial foliküller inhibitör faktörlerin etkisiyle dinlenme halindedir. İnhibitör maddelerin azalması ve stimülatör maddelerin artmasıyla folikül büyümeye başlar (Reddy vd., 2010). Primordial folikül hücreleri tarafından salgılanan oosit maturasyonunu engelleyici faktör (Oocyte Maturation İnhibitör; OMI) sayesinde primordial folikülde bulunan primer oositler puberteye kadar gelişemez (Öktem ve Oktay, 2008). Primordial folikül içindeki primer oositin, eksantrik olarak yerleşmiş olan yaklaşık 30 µm çapında bir nükleusu ve bu nükleusun içinde de çok belirgin bir nükleolusu vardır. Primer oositin sitoplazmasında golgi aygıtı, mitokondri, endoplazmik retikulum ve lizozomların bir araya gelmesiyle oluşan Balbiani Cisimciği denen özel bir yapı vardır. Folikül hücrelerinin dış bölümü, oosit ve folikül hücrelerinin çevre dokularla temas etmesini engelleyen bazal lamina ile sınırlandırılmıştır (Fair, 2003).



Şekil 6. Primordial foliküller

(Junqueira vd., 2003)

Primordial foliküllerin bağımsız bir kanlanmaları olmadığı için endokrin sistemden daha sınırlı olarak etkilenirler (Colgar, 2006). Mayoz bölünmeye uğrayan oositlerin çoğunluğu, primer folikül oluşturamayıp atreziye uğrarlar (Gandolfi vd., 2005).



Şekil 7. Primordial Folikül a) Primordial folikülün şematik çizimi. b) Primordial folikülün fotomikrografı. FC: Folikül hücreleri, N: Oosit nükleusu. Nukleusun görülmediği oositler (X) belirtilmiştir. Oklar: Folikül hücreleri. X640

(Ross vd.,2003)

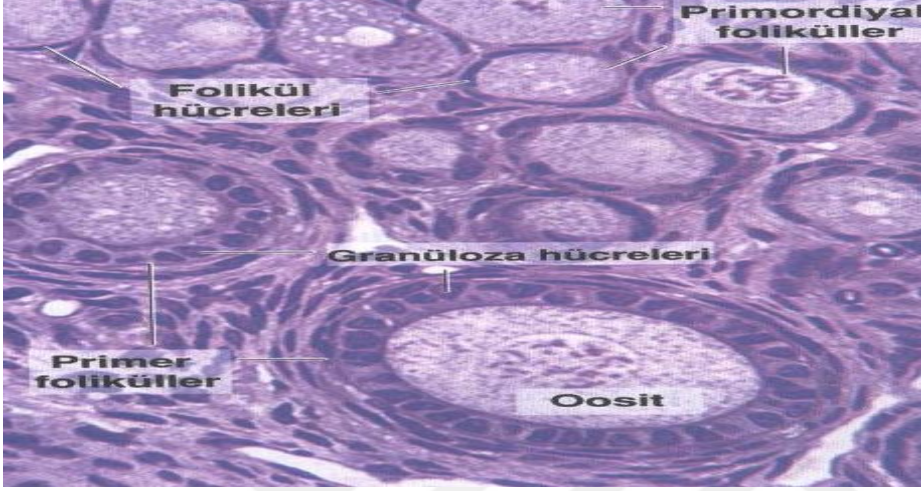
## 2) Gelişmekte Olan Foliküller:

### Primer Folikül:

Primordial folikülden preantral folikül aşamasına kadar GnRH'nın etkisi bulunmamaktadır (Edson vd., 2009). Folikül büyümesinin ilk aşaması olan primer folikül aşamasına girmek için primordial foliküllerden seçilen foliküller, aktive olur ve primordial folikülden primer aşamaya geçiş başlar (Hutt vd., 2006). Bu geçiş uzun sürebilir, folikül büyüdükçe ovaryal stroma içinde derinlere doğru ilerler (Fortune, 1994; Primer Mc Gee ve Hsueh, 2000). Oositin ve folikülün büyümesi için gerekli etkenler şöyle sıralanabilir: Epidermal Büyüme Faktörleri (EGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I), Kit Ligant



(KitL), FSH,  $Ca^{+2}$  iyonları İlk olarak, oositin hacmi artar. Oosit büyümesinde granüloza hücresi kaynaklı Kit Ligant (KitL) fonksiyonel açıdan önemlidir (Sypov vd., 1995; Thomas ve Vanderhyden, 2006; Colgar, 2006; Thomas ve Vanderhyden, 2006; Girgin vd., 2010).

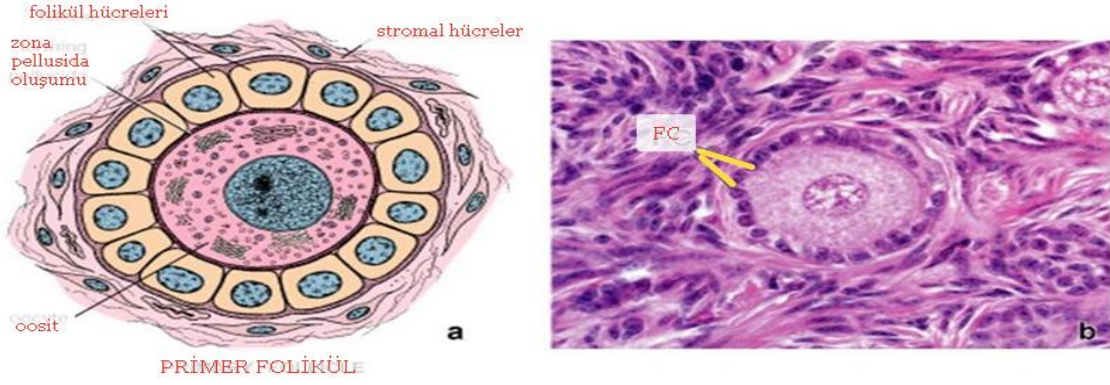


Şekil 8. Primordiyal ve primer foliküller

(Junqueira vd., 2003)

Oosit, etrafını çevreleyen somatik hücreler ile sıkı ilişki içerisinde. Oosit büyüdüktan sonra oositi saran folikül epitel hücreleri çoğalır ve kübik hale dönüşür (Rankin ve Dean, 1996; Colgar, 2006; Girgin vd., 2010).

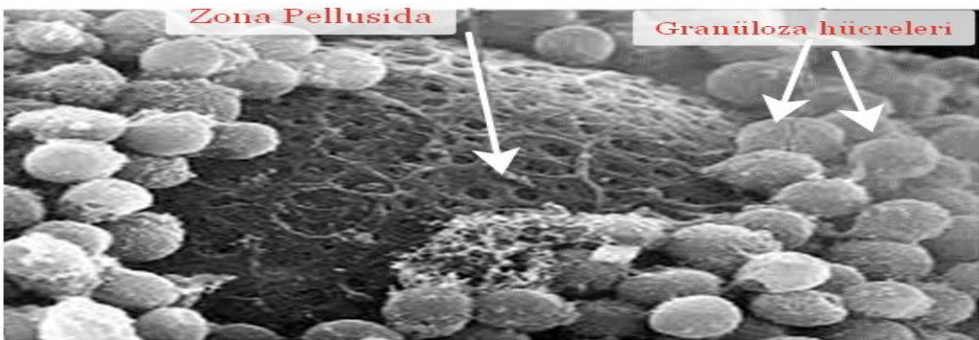
Folikül epitel hücrelerinin mitotik aktivasyonları sayesinde şekillerini yassı epitelden kübik epitele dönüştürmeleri folikül seçiliminin histolojik göstergesi olup bu olaydan sonra gen aktivasyonu ve oositin gelişimi gerçekleşir. Bu aşamadaki foliküle Tek Tabakalı Primer Folikül adı verilir (Miyano, 2005; Colgar, 2006).



Şekil 9. Primer Folikül. a) Erken Primer folikülün şematik çizimi. b) Primer folikülün fotomikrografi. Folikül hücreleri (FC) X640

(Ross vd., 2003)

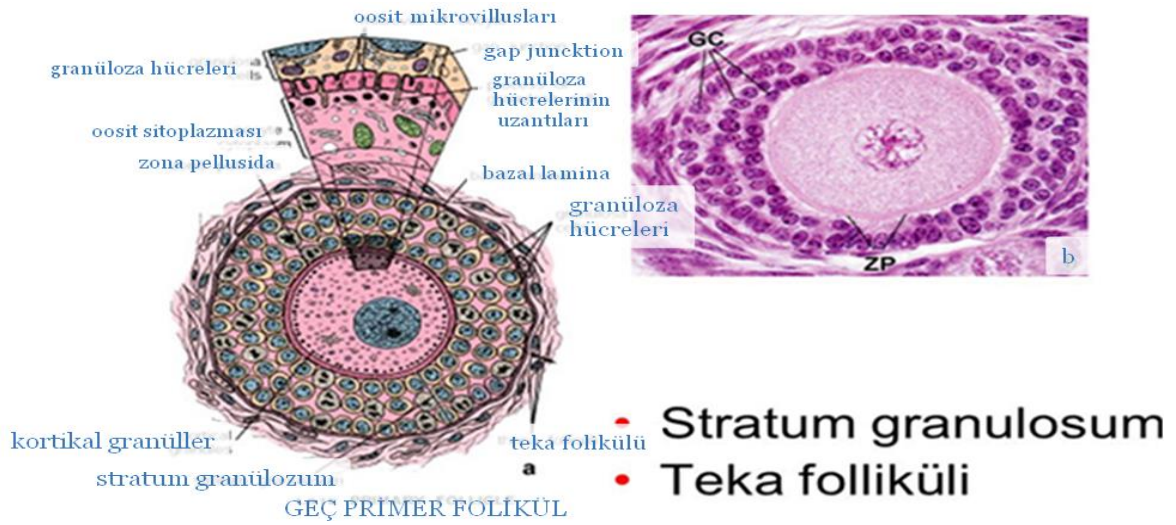
Oositin hacmi arttıkça oosit ile folikül hücreleri arasında oositin salgıladığı Zona Pellusida (ZP) denen bir tabaka oluşur. Bu tabaka jel yapısında olan, glikozaminglikandan ve glikoproteinden zengin, PAS ile kuvvetle pozitif-homojen ve yoğun boyanan, asidofilik, ışık kırıcı bir tabakadır (Fair, 2003; Eşrefoğlu, 2009). Oositin çevresindeki kübik folikül hücreleri ince sitoplazmik uzantıları sayesinde ZP'yı delip geçer ve oositin mikrovillusları ile temas kurarlar (Kierszenbaum, 2006).



Şekil 10. ZP ve granuloza hücrelerinin elektron mikroskobik görüntüleri

(Junqueira vd., 2003)

Primer oositin çevresinde tek tabaka halinde bulunan folikül hücreleri ard arda mitotik bölünmeler geçirip çok katlı epitel görüntüsü oluşturur. Folikül hücrelerinden oluşan çok tabakalı bu foliküle Çok Katlı Primer Folikül denir (Miyano, 2005). Folikül hücrelerinin oluşturduğu bu hücre tabakalarına Membrana Granulozum ve bu aşamadaki folikül hücrelerine de Granuloza Hücreleri denir. Folikül hücrelerinin dış kısmıyla stroma arasında bazal lamina bulunur.

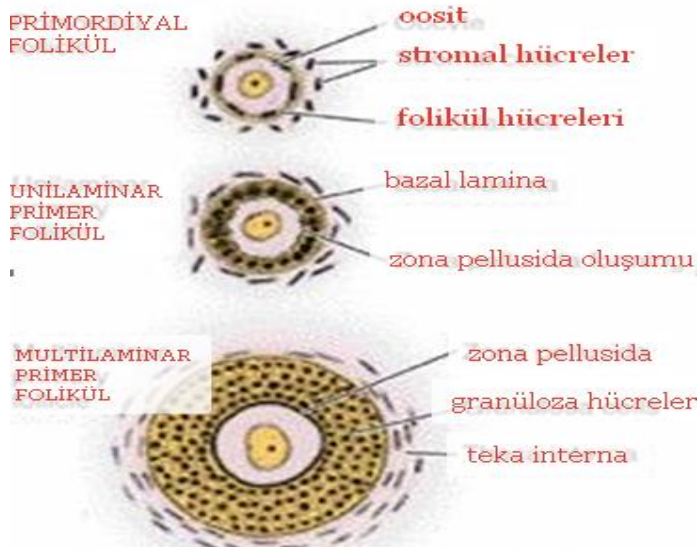


Şekil 11. Geç (Çok katlı, Multilaminar) Primer Folikül

a) Geç Primer folikülün şematik çizimi. b) Geç primer folikülün fotomikrografı.

(Ross vd., 2003)

Granuloza hücreleri arasında, foliküler büyümeyle birlikte gelişen fazla sayıdaki oluklu bağlantılar aracılığıyla bu hücreler birbirleriyle temas kurarlar (Himmelstein-Braw vd., 1976). Bu bağlantılar sayesinde folikül sıvısı ile kan damarları arasında madde alışverişi gerçekleşebilir. Sinyal moleküllerinin ve besin maddelerinin foliküler sıvıya geçişi ve oradan da granuloza hücrelerinin oluklu bağlantıları aracılığıyla oosite geçişi sayesinde oositin ve foliküllerin normal gelişimi sağlanır (Ross vd., 2003).

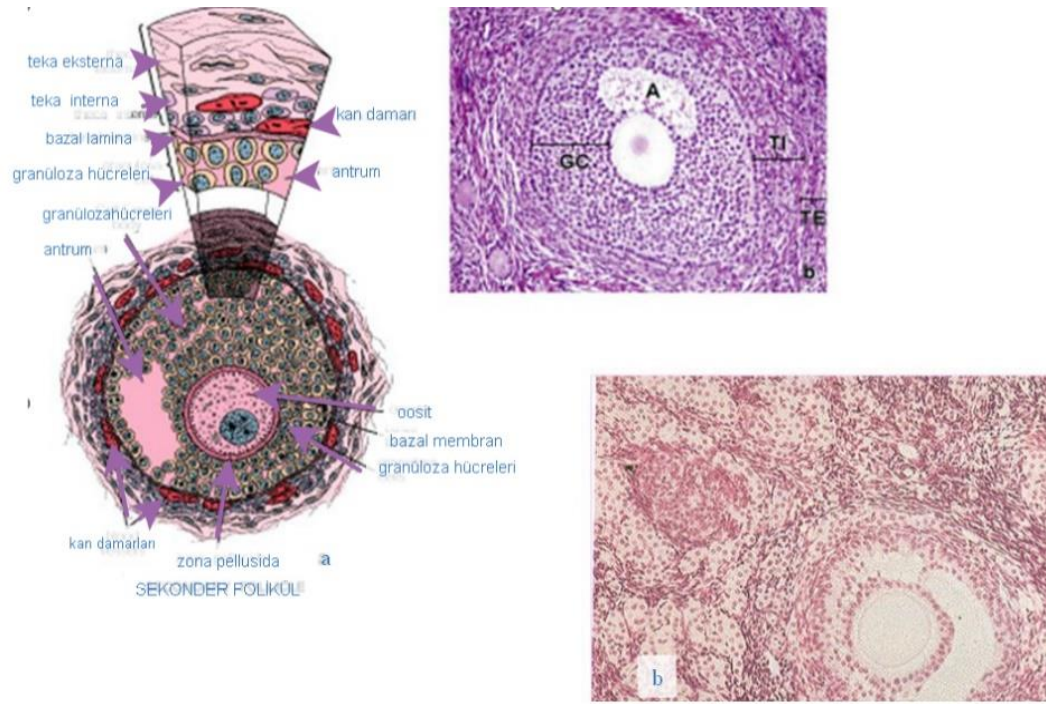


Şekil 12. Primordial ve primer folikül çeşitleri  
(Junqueira vd., 2003)

## 2) Sekonder Folikül (Antral Folikül):

Altı ile oniki hücre katmanına ulaşan granüloza tabakasının hücreleri arasında küçük boşluklar oluşmaya başlar. Bu küçük boşlukların içi, adına Folikül Sıvısı denen hiyalüronik asitten zengin bir sıvı ile dolar. Meydana gelen bu foliküle Sekonder Folikül denir.

Küçük ve içi sıvı dolu bu boşluklar, içlerindeki sıvı miktarının artmasıyla birleşip Antrum denen yarım ay şeklinde tek ve büyük bir boşluk oluşturur. Oluşan bu foliküle de Antral Folikül denir. Östrojen, antrumun şekillenmesine yardımcı olur (Gordon ve Lu, 1990; Tasaki vd., 2013).



Şekil 13. Antral Folikül. a) Antral folikülün şematik çizimi. b) Antral folikülün fotomikrografisi. A: Antrum, GC: Granulosum hücreleri, Tİ: Teka interna, TE: Teka eksterna X85  
(Ross vd., 2003)

Antrumu dolduran antrum sıvısı (folikül sıvısı, likör folikülü), kan damarlarından plazmanın sızmasıyla meydana gelir. Bu sıvı yerel salgılar, metabolizma ürünleri, gonadotropinler, steroidler, hiyalüronik asit ve büyüme faktörleri açısından zengindir (Gordon ve Lu, 1990; Kierszenbaum, 2006).

Antral folikül aşamasında eksantrik olarak yerleşmiş olan 125 µm çapındaki oosit, bu aşamadan sonra artık büyüyemez (Girgin vd., 2010). Östrojen miktarı arttıkça granuloza hücrelerinin proliferasyonu uyarıldığı için granuloza hücreleri çoğalmaya devam eder (Mc Geeve Hsueh, 2000; Miyano, 2005). Granuloza hücreleri tarafından antral sıvıya salınan Oosit Olgunlaşma Önleyici (OMI) adlı bir peptid sayesinde büyüme inhibe edilir. OMI yoğunluğu ile antral folikül büyüklüğü arasında doğrudan bir ilişki vardır. OMI konsantrasyonu olgun foliküllerde en düşük, küçük foliküllerde en yüksek olarak bulunur (Syrop vd., 1995).

Granüloza hücreleri oositin salgılanan faktörler sayesinde anatomik ve fonksiyonel olarak iki hat şeklinde farklılaşırlar:

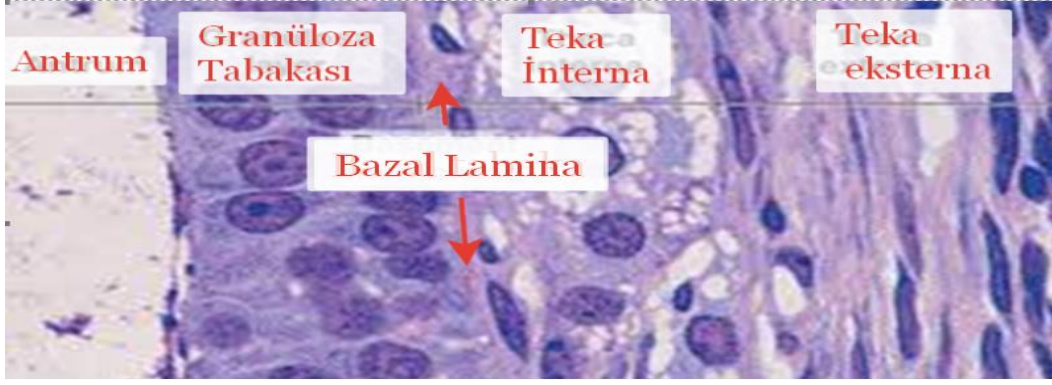
**a) Mural Granuloza Hücreleri (Mural Granulosa Cell/MGC):** Folikül duvarını kaplayan steroidojenik role sahip hücrelerdir.

**b) Kumulus Hücreleri (Cumulus Granulosa Cells/CC):** Bu hücreler sahip oldukları sitoplazmik uzantılarıyla ZP'ya penetre olup oosite birarada bulunurlar. Oluşturdukları bu yapıya Kumulus-Oosit Kompleksi (Cumulus Oocyt Complex/COC) adı verilir (Kuyucu ve Tap, 2009).

Granuloza hücrelerinin artmasıyla folikülü çevreleyen stromal hücreler, bağ dokusundan yapılı Teka Folikülü denilen bir kılıfla folikülü sarar. Teka folikülü ise belirli bir zaman sonra iki farklı tabakaya farklılaşarak Teka İterna ve Teka Eksterna'yı oluşturur (Mc Gee ve Hsueh, 2000).

#### **Teka İterna:**

Teka interna tabakası granüloza hücrelerini dışarıdan çevreleyen bazal lamina üzerinde, iç tarafta bulunur. Bazal lamina granüloza hücre tabakası ile teka interna tabakası arasında bulunarak bu iki tabakayı ayırır. Bu tabakanın hücreleri bağ dokudan gelişen kübik şekilli, östrojen hormonu salgılayan epiteloid karakterdeki hücrelerdir. Bu hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda lipid damlacıkları, agranüler endoplazmik retikulum ve mitokondriler yer alır. Bu hücreler arasında kan ve lenf damarlarından oluşan bir dolaşım ağı vardır (Mc Gee ve Hsueh, 2000; Ross vd., 2003; Girgin vd., 2010).



Şekil 14. Teka interna ve eksterna tabakaları  
(Junqueira vd., 2003)

### **Teka Eksterna:**

Bu tabaka teka interna tabakasının üstünde ve çevre stroma hücrelerinin altında yer alan bağ doku hücre tabakasının dış kısmıdır. Teka eksterna tabakası içinde düz kas hücreleri ve kollajen lif demetleri yer alır. Gelişmekte olan folikülün kapsülü olarak iş görür. Teka interna tabakası ile teka eksterna tabakası arasında ve teka eksterna tabakası ile çevre stroma arasında belirgin bir sınır yoktur (Girgin vd., 2010). Teka interna tabakası ile granuloza tabakası arasındaki bazal lamina ise oldukça belirgin bir sınır oluşturmuştur (Ross vd., 2003). İç tarafta bulunan teka interna tabakası interstisyel hücrelere dönüşürken, dış tarafta bulunan teka eksterna tabakası düz kas hücrelerine dönüşür. Teka interna ve teka eksterna tabakalarının gelişmesiyle meydana gelen anjiyogenez sonucu folikülün etrafında çok sayıda küçük kan damarları oluşur. Folikül çevresindeki bu kan damarlarında meydana gelen kan akışı sayesinde besinler ve gonadotropinler buraya taşınırken, burada oluşan atıklar ve salgılanan maddeler de buradan kolaylıkla uzaklaştırılır (Colgar, 2006). Primordial folikülden preantral folikül aşamasına kadar olan folikül gelişiminin erken aşamaları, GnRH etkisi altında değildir (Edson vd., 2009). Ovaryumdaki antral foliküller bu aşamadan sonra gelişimlerine devam edebilmek için gonadotropinlere ihtiyaç duyarlar. Bu hormonlar tarafından yeterli düzeyde geliştirilen foliküller arasında meydana gelen seçim sonucu insanlarda genellikle bir folikül baskın hale gelir ve son aşamaya kadar gelişimini sürdürür (Gülle, 2008).

### **3) Graaf (Tersiyer, Olgun, Preovulatör) Foliküller:**

Boyutları 10 mm ya da daha büyük olduğundan ovaryum yüzeyinde bir çıkıntı olarak gözüken olgunlaşmış foliküllere Graaf Folikülü denir.

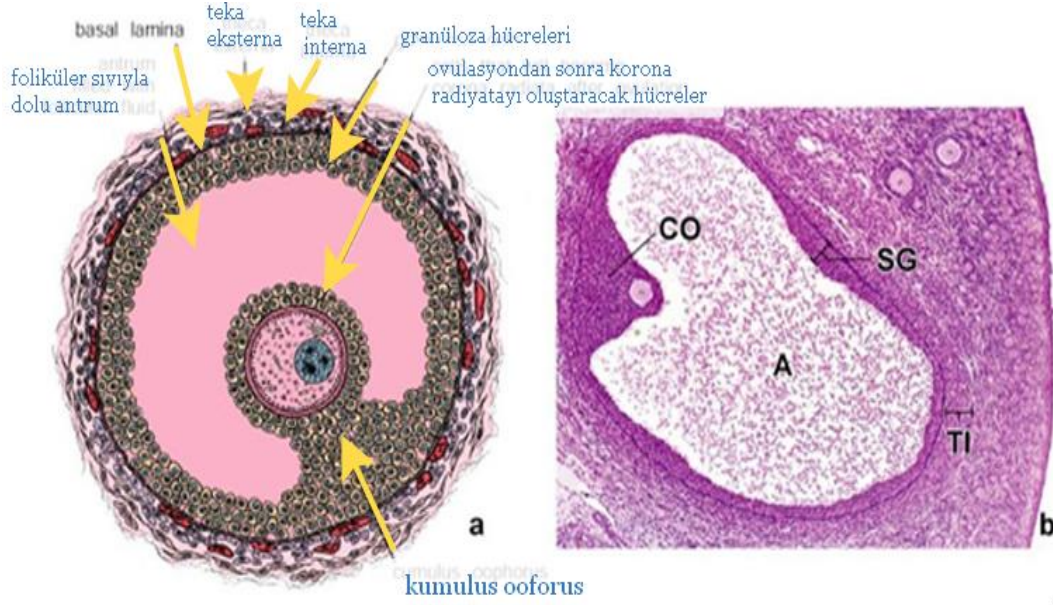
Graaf folikülleri en yüksek boyutlarına ulaştıklarında folikülün etrafındaki granüloza hücrelerinin mitoz bölünme hızı azalır. Ovulasyona hazırlık olarak granüloza hücreleri arasındaki boşluk büyüdüğü için de granüloza hücrelerinin birbirleriyle olan bağlantıları zayıflar. Antrumun genişlemesine bağlı olarak granüloza hücreleri ince bir tabaka halinde bu boşluğun iç yüzünü döşer (Ross vd.,1985; Scheffer vd., 1999). Granüloza tabakası inceldikçe boşluk da genişler. Granüloza tabakasının kalınlığı oositi çevreleyen bölge hariç her yerde aynıdır.

Ekzantrik konumdaki oositin çevresindeki granüloza hücreleri yoğun bir şekilde birikerek Kumulus Ooforus denen tepe şeklinde kalınlaşmış bir yapı oluşturur. Ovulasyon sonrasına kadar kumulus ooforusun granüloza hücreleri oosit ile bir arada bulunurlar (Ross vd., 2003).

ZP'nin hemen üzerinde bulunan ve ovulasyonda oositle birlikte atılan kumulus ooforus hücrelerine Korona Radyata denir. Korona radyatanın granüloza hücreleri, oluklu bağlantılar (gap junction) aracılığıyla oositin mikrovillusları ile bağlantı kurar.

Aralarındaki oluklu bağlantılar aracılığıyla ovulasyondan sonra korona radyata tabakası ile oosit, sürekli temasta oldukları için Kumulus Oosit Kompleksi/COC) adını alırlar. COC'nin, folikülün geri kalan kısmıyla bağlantısı gevşer ve ovulasyona hazırlanır (Scheffer vd., 1999; Ross vd., 2003).





Şekil 15. Graaf Folikülü a) Graaf folikülünün şematik çizimi. b) Graaf folikülün fotomikrografisi. Büyümüş antrum (A) ve oositi sarmış kumulus ooforus (CO), SG: Stratum granulozum. X45

(Ross vd., 2003)

Graaf folikülü, çevresinde yer alan granüloza ve teka hücreleri tarafından ovaryan hormonlar salgılanmaya başlar (Ross vd., 1985). Teka hücre tabakası bu aşamada çok önemli bir özellik kazanır.

Teka interna tabakası, graaf folikülünün üzerinde yer alarak onu çevreler, kan damarları bakımından zengindir ve steroid bir hormon salgılar. Teka eksterna tabakası, destek görevi görürken ovaryan stroma ile de yakından ilişkidir Teka interna hücreleri steroid üreten hücelere benzer bir görünümde (Mc Gee ve Hsueh, 2000; Colgar, 2006; Delilbaş, 2008). Sitoplazmalarında yağ damlacıkları birikir. Teka interna hücrelerinde LH reseptörleri vardır. LH, teka interna hücrelerindeki LH reseptörlerini etkileyerek teka interna hücrelerinde bir steroid hormon, östrojen prekürsörü bir androjen olan androstenedionun üretilmesini sağlar. Salgılanan androjenler, granüloza hücreleri içinde bulunan düz endoplamik retikuluma geçer.

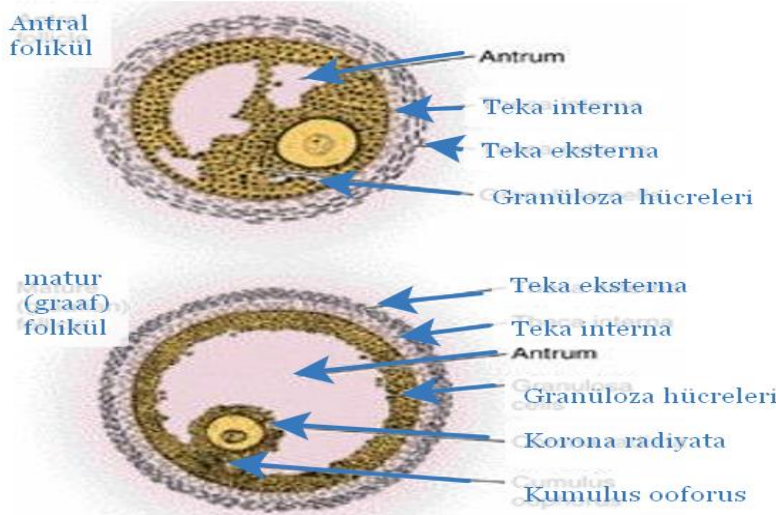
Granüloza hücreleri FSH'a cevap olarak androjenlerin östrojenlere dönüştürülmesini kataliz eder.

FSH etkisiyle granuloza hücrelerinden sentezlenen aromataz enzimi, androstenedionu östrojene çevirerek östrojen (estradiol/E2) üretilmesini sağlar. Sentezlenen östrojen, folikülü saran stromaya dönerek kan damarlarından kana geçip tüm vücuda dağılır.

Ayrıca interstisyel hücreler de östrojen kaynağıdır. Artan östrojen miktarı granuloza hücrelerinin çoğalmasını uyararak foliküllerin büyümesini sağlarlar (Tasaki vd., 2013).

Ovulasyon yaklaştıkça olgun foliküllerden birkaçı gelişimlerini tamamlar. Ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce ön hipofiz bezi uyarılarak buradan LH salınımları artırılır FSH salınımı azaltılır. LH artışı sonucu olarak, granuloza hücrelerindeki LH reseptörlerinin sayısı azaltılır. Bu yüzden granuloza hücreleri östrojen üretemezler.

LH' daki bu artışla birlikte bu olgunlaşmış foliküllerdeki primer oosit, mayoz bölünmenin I. evresini tamamlayarak sekonder oosit ile 1. kutup cisimciğini oluşturur (Scheffer vd.,1999; Girgin vd., 2010).



Şekil 16. Sekonder ve graaf folikülleri  
(Junqueira vd., 2003)

## 2) Ovulasyon Evresi:

FSH seviyesi düşüp LH seviyesi artınca folikül ovulasyona girer Graaf folikülü ovaryumun yüzeyine doğru yaklaştıkça folikülün duvarı incelir. Ovaryum yüzeyine temas eden graaf folikülü, germinatif epitele basınç yaparve folikülün germinal epitelle temas eden kısımlarında kan akışı kesilir. Bunun sonucu olarak da ovaryum yüzeyinde Stigma (Macula pellucida) denen bir şişkinlik oluşur (Ross ve Pawlina, 2006; Gürsoy ve Ergin, 2007; Girgin vd., 2010).

LH'daki artış sonucu, graaf folikülünün duvarındaki proteoliz ve apoptoz uyarılır Bunun sonucu olarak graaf folikülü yırtılır (Robker vd., 2000; Crespo vd., 2015). Folikül sıvısının yaptığı basınç sonrası, sekonder oosit ve etrafındaki Korona Radyata hücreleri hep birlikte ovidukta atılır. Ovulasyon böylece gerçekleşmiş olur. Oosit ovidukta döllenebilir (Guyton ve Hall, 2001; Gürsoy ve Ergin, 2007; Girgin vd, 2010).

Ovulasyondan sonra fertilizasyon olmazsa; II. Mayoz bölünme tamamlanmaz, metafaz aşamasında durur ve sekonder oosit dejenere olur. Fertilizasyon sırasında ise; sekonder oositte ovum ve II. polar cisimciği oluşur. Ardından granüloza ve teka hücreleri luteinize olarak progesteron üretirler (Scheffer vd, 1999; Gürsoy ve Engin, 2007; Girgin vd., 2010).

## Atretik Foliküller:

Ovaryumdaki foliküllerin çok az bir kısmı ovulasyona uğrar. Foliküler atrezi, ovulasyon gerçekleşikten sonra gelişmekte olan bir folikülün hormonal etkinin yetersizliği sonucu gelişim dönemlerinden birinde gelişimini durdurması ve gerilemeye başlamasıdır (Colgar, 2006; Girgin vd, 2010). Atrezi, Apoptozis de denen programlanmış hücre ölümü ile gerçekleşir. Apoptozis, ovaryumların normal gelişimleri ve fonksiyonları için gerekli, dişilerde biyolojik zamanlamayı ayarlayan bir olaydır. Foliküler atreziyi yöneten endokrin faktörler FSH ve LH gibi gonadotropinlerdir (Kaipia ve Hsueh, 1997).

Atretik folikülün görünümü, bulunduğu gelişim evresine göre değişir. Primordial folikülden büyüyen folikül evresine olan atrezide (dejenereasyon); önce oosit ardından granüloza hücreleri dejenere olurken önce granüloza hücreleri daha sonra oosit de dejenere

olabilir sıranın önemi yoktur. Primer foliküldeki atrezide; önce oosit daha sonra da folikül epitel hücreleri dejenerasyona uğrar. Sekonder foliküldeki atrezide ise oosit ve granüloza hücreleri aynı anda atreziye uğrar. Granüloza hücrelerindeki atrezi sırasında mitoz durur ve granüloza hücreleri bazal laminadan ayrılır. Bunun sonucu olarak da oosit ölür (Gürsoy ve Ergin, 2007; Girgin vd., 2010).

### 3) Luteal Evre:

Ovulasyon sırasında olgun folikül yırtılır ve yırtılan folikülün içindeki folikül sıvısı boşalır, kandaki östrojen seviyesi azalır. Ovulasyondan sonra arta kalan graaf folikülü artığının granüloza ve teka hücrelerinden oluşan folikül duvarı, foliküldeki katlanmalar sonucu kıvrılır. Önce teka internada bulunan kan damarları folikül boşluğuna doğru kanayarak Korpus Hemorajikum denen özel bir yapının meydana gelmesine sebep olur. Buradaki kan, önce pıhtılaşır ve daha sonra bu kan doku yerini bağ dokuya bırakır. Bu bağ dokusu ile birlikte ortadan kaldırılan kan pıhtısı artıkları KL'un en iç kısmını oluşturur. Ardından stromada bulunan dokular, folikül boşluğuna doğru göç ederler. Folikül artığının granüloza hücreleri ve teka interna hücreleri artar, farklılaşırlar ve hipertrofiye uğrayarak granüloza lutein hücreleri ile teka lutein hücrelerini şekillendirerek KL (sarı cisim) denilen geçici bir iç salgı bezini oluştururlar KL'un şekillendiği bu olaya Luteinleşme denir (Junqueira vd., 2003; Girgin vd., 2010; Tomac vd., 2011; Accialini vd., 2016).

Büyük ve poligonal biçimli olan luteal hücrelerin genel özellikleri şöyledir;

**Granüloza Lutein Hücreleri:** Granüloza hücreleri ovulasyondan sonra boyutlarını 20-35 µm çapında arttırarak büyük, merkezi yerleşimli ve steroid salgılayan granüloza lutein hücrelerini oluştururlar. Bu hücreler KL'un parankima hücrelerinin yaklaşık %80'ini kapsarlar (Ross vd., 1985; Junqueira vd., 2003).

**Teka Lutein Hücreleri:** Teka internanın hücreleri ovulasyondan sonra granüloza lutein hücrelerine oranla daha küçük yaklaşık 15 µm çapında, periferik yerleşimli ve ona göre yoğun boyanan teka lutein hücrelerine dönüşürler. Bu hücreler KL duvarının kıvrımlarına yerleşerek onun oluşumuna katkıda bulunur. KL'un zengin damar ağı, teka internanın kan ve lenf damarlarından oluşan damar ağının KL içine doğru gelişmesiyle oluşur (Ross vd., 1985; Syropvd., 1999; Junqueira vd., 2003; Girgin vd., 2010).

Rodentlerde KL oluşumundan, hipofizden salgılanan LH ve Prolaktin (PRL) hormonları birlikte sorumludur. Bu iki hormonun birlikte etkisiyle yapısal değişiklikler başlar. Prolaktin granüloza hücrelerinde bulunan LH reseptörlerinin iyi bir uyarıcısıdır. Luteal fonksiyonların düzenlenmesinde PRL reseptörleri önemlidir (Ross ve Pawlina, 2011; Accialini vd., 2016). Ovaryumun korteksinde bulunan KL, bir endokrin bez gibi çalışarak progesteron salgılar. Salgıladığı bu progesteron sayesinde hipofizin FSH salgılamasını engelleyerek ovaryum korteksinde yeni primer foliküllerin gelişmesini ve ovulasyonu engeller (Girgin vd., 2010; Ross ve Pawlina, 2011).

Döllenme olmazsa, KL birkaç gün içinde geriler. KL'daki luteal hücrelerin sitoplazmaları yağ damlacıklarıyla dolmaya başlar ve sonuç olarak hücrelerin boyutları artar. Luteal hücrelerin sitoplazmalarındaki yağ damlacıkları içinde lipokrom denen yağda çözülebilen bir pigment birikerek bu hücrelerin sarımtırak gözükmelerine neden olur. Daha sonra bu hücreler otolize uğrayarak dejenere olurlar. Dejenerasyona uğrayan KL'un luteal hücreleri arasında hiyalin denen bir maddenin birikmesiyle Korpus Albicans denen bir yapı oluşur. Korpus Albicans belirli bir zaman sonra kaybolan beyaz bir yara izine dönüşür (Syropvd., 1999; Ross ve Pawlina, 2011).

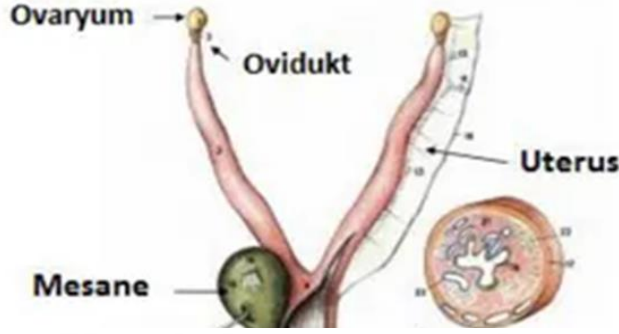
### **1.6.2. Uterus:**

İçinde embriyonun geliştiği, doku değişimi ve yeniden yapılanma kapasitesi en yüksek olan dişi üreme sisteminin en büyük organıdır. Salgılanan östrojen miktarına ve doğum sayısına bağlı olarak uterusun ağırlığı, şekli ve boyutu değişmektedir. Öncelikli fonksiyonu implante olan embriyoyu beslemektir. Ovaryumdan ve gebelik boyunca da embriyodan gelen hormonların uyarılarına bağlı olarak uterusun morfolojisinde bazı değişiklikler gerçekleşir. Hamilelik sırasında miyometriyal düz kas tabakasının hipertrofi ve hiperplaziye uğramasından dolayı uterusun ağırlığı aşırı artar. Kemirgenlerde uterus bikornual yapıda olup uterusu çoklu gebelikler meydana gelir (Cunningham vd., 2010).

Ovaryumdan salgılanan steroid hormonların etkisiyle uterusu meydana gelen olaylar:

a) Fertilizasyon olmamışsa; insanlarda menstrual döngü, kemirgenlerde de östrus döngüsü denen döngüsel bir süreç meydana gelir.

b) Fertilizasyon olmuş ve gebelik gelişmişse; uterusun endometrium stroma hücreleri farklılaşmasıyla başlar (Socol, 2011).



Şekil 17. Dişi rodentlerde üreme sistemim yapısı  
(Oflamaz, 2015)

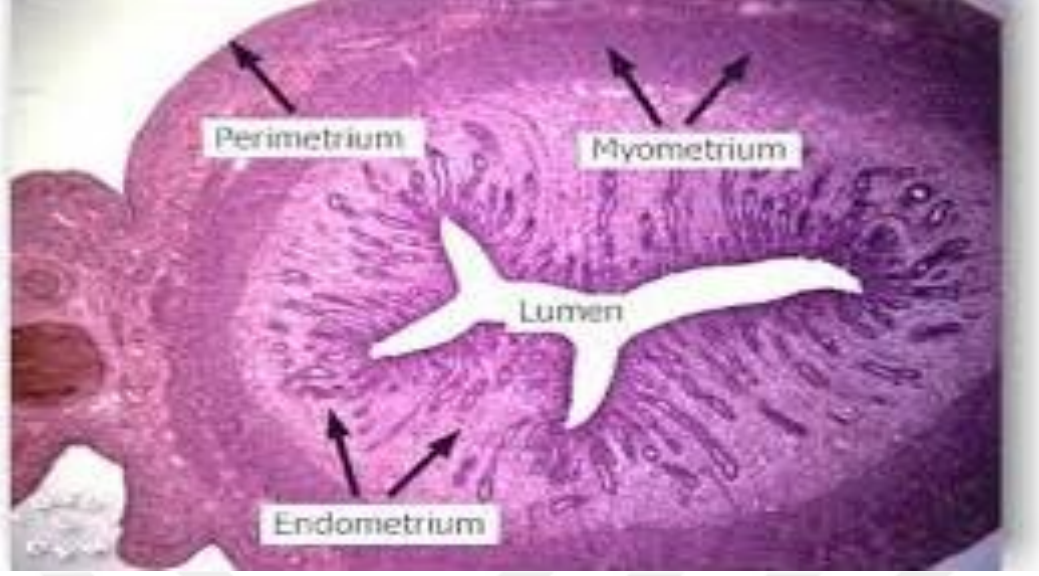
### **Uterusun histolojisi:**

Histolojik olarak uterus duvarı üç katmandan oluşur (Karaöz, 2002; Eşrefoğlu, 2016).

1. Perimetrium (Tunika seroza)
2. Myometrium (Tunika muskularis)
3. Endometrium (Tunika mukoza) (Junqueira ve Carneiro, 2009; Eşrefoğlu, 2016).

#### **1. Perimetrium (Tunika seroza):**

Üstte tek sıra mezotel hücreleri ile bunların altında uzanan elastik lifler bakımından zengin gevşek bir bağ dokusuyla desteklenmiş, Seroza olarak da adlandırılan uterusun en dış tabakasıdır. Peritonun iç yaprağı olup uterusun posterior yüzünü ve anterior yüzünün üst bölgesini örter. Uterusun anterior yüzünün alt yarısı ise peritonsuz bölge olup Adventisya adını alır ve burada uterusu giren damarlar, sinirler bulunur (Eşrefoğlu, 2016).



Şekil 18. Uterusun histolojisi  
(“Uterus histolojisi”, 2022)

## 2. Myometrium (Tunika muskularis)

Uterusun en kalın tabakasıdır. Bu yapı birbirinden bağ dokusu ile ayrılmış ve farklı görevler üzerine özelleşmiş üç farklı düz kas demetlerinden oluşmuş bir tabakadır. Bu kas demetleri uterustaki görevlerine göre şöyle sınıflandırılmıştır:

**a) Subvasküler Tabaka (Stratum subvaskülare):** Myometriumun iç tarafında, mukozanın altında uzunlamasına yerleşmiş düz kaslardan oluşan bir tabakadır.

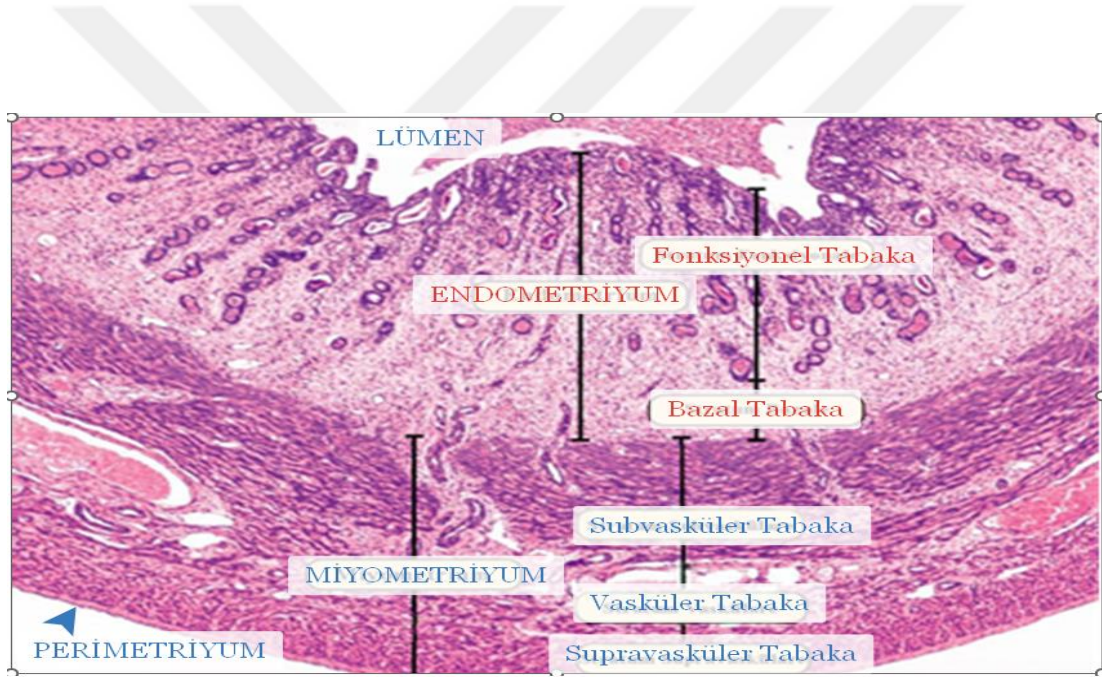
**b) Vasküler Tabaka (Stratum vaskülare):** Myometriumun ortasındaki tabakadır. Bu tabakada sirküler konumlu kaslar, fazla miktarda kan ve lenf damarları bulunur (Ross ve Pawlina, 2014).

**c) Supravasküler Tabaka (Stratum supravaskülare):** Myometriumun dış tarafında, perimetriumun altında bulunan bu tabakada uzunlamasına yerleşmiş düz kaslar mevcuttur (Kierszenbaum, 2006; Sözen, 2008; Ross ve Pawlina, 2014).

### 3. Endometrium (Tunika mukoza):

Uterusun en iç tarafında bulunan ve adına Endometrium ya da Uterus Mukozası da denen bu tabakanın içine fetus yerleşip gelişir. Endometrium yapısal ve işlev açısından bazal tabaka ve fonksiyonel tabaka olmak üzere iki bölüme ayrılır:

a) **Fonksiyonel tabaka (Stratum fonksiyonalis):** Endometriumun lümenine yakın 2/3'lük en kalın kısmı olup endometriumun apikal kısmını oluşturur. Endometriumdaki birçok değişim burada gerçekleşir. Bu tabakada yüzey epiteli ile endometriumdaki bezlerin boyun ve gövde kısımlarının bulunduğu Lamina Propria yer alır (Ross ve Pawlina, 2014; Eşrefoğlu, 2016).



Şekil 19. Uterus histolojisi ve katmanları

(“System cell Biology”, 2022)

Uterusun yüzey epiteli, salgı yapan mikrovilluslu tek tabakalı prizmatik epitel hücrelerinden meydana gelir ancak salgı epiteli hücreleri arasında az sayıda silyalı hücreler de bulunur. Uterus epiteli, lamina propria içerisine doğru uzayıp katlanmalar yaparak basit tübüler yapıdaki çok sayıda uterus bezlerini meydana getirirler (Ross ve Pawlina, 2013).



Endometrial stroma da denen lamina propria çok sayıda fibroblast, düzensiz tip III kollojen lifler, oval çekirdekli-yıldız şekilli-geniş stromal hücreler, lenfositler, makrofajlar, granüler lökositler ve çok sayıda retiküler lifler ve bezler içeren, kalın ve gevşek özelleşmiş bir bağ dokusudur. Bu retiküler lifler, epitelin altında yoğunlaşmış bazal laminayı meydana getirirler (Sözen, 2008; Junqueira ve Carneiro, 2009). Lamina proprianın derinlerine kadar uzanan uterus bezleri, burada dallanmış tübüler halde bulunabilirler. Lamina propriada bulunan bezlerin yapısını oluşturan hücreler, epitel kökenli olup şöyle sıralanabilir; salgı hücreleri, bazal hücreler, proliferatif hücreler ve silyalı hücreler (Sözen, 2008; Ross ve Pawlina, 2011; Eşrefoğlu, 2016).

**b) Bazal tabaka (Stratum bazale):** Uterus bezlerinin son kısımlarından oluşan ve endometriumun daha derinlerinde bulunan 1/3'lük kısmıdır. Fonksiyonel tabakanın yenilenmesi sırasında kaynak olarak kullanılır. Menstruasyon (rodentlerde östrus siklusu) boyunca bazal tabaka varlığını korur (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011; Ross ve Pawlina, 2013; Ross ve Pawlina, 2014; Eşrefoğlu, 2016).

Endometriumda, ovaryumunda gerçekleşen sekresyon olaylarıyla paralellik gösteren siklik bazı değişiklikler meydana gelir. Memelilerde bu değişiklikler sırasında gerçekleşen siklus sonunda, damar bütünlüğü bozulur ve endometriumda kısmi bir doku ve kan kaybı olur. Vajina yolu ile gerçekleşen bu olaya da Menstruasyon denir. Bu siklik değişiklikler pubertenin başlamasından menopoza kadar devam eder (Eşrefoğlu, 2009; Ross ve Pawlina, 2013; Eşrefoğlu, 2016).

Endometrium tabakası, olgun ovaryumlardaki foliküllerden üretilen östrojenin birincil hedef organıdır (Greaves vd., 2013; Hapangama, 2015). Yüksek seviyedeki östrojen (E2) hormonu uterus hücre bölünmesini uyarak endometrial büyümeyi gerçekleştirir. Progesteron, östrojenle hazırlanmış endometriumu kalıcı bir duruma dönüştürmekten sorumludur (Groothuis, 2007; Hapangama, 2015). Östrojenler, endometriumun epitelyal ve stromal hücrelerinin çekirdeklerinde bulunan spesifik reseptörler aracılığıyla hareket eder. Östrojenler bu reseptörlerin sentezini uyarır ve progesteron onların sentezini engeller (Bergeron, 2002). Östrojen hormonun etkileri endometriumda iki ana klasik östrojen reseptörü (ER) izoformu, ER $\alpha$  ve ER $\beta$  yoluyla ve G-protein-bağlı östrojen reseptörü (GPER; eski adıyla GPR 30) yoluyla uygulanır (Holm

ve Nilsson, 2013; Hapangama, 2015). ER $\alpha$ , uterus hücresi proliferasyonunu destekler ve artan (Endometrial cancer) EC riski ile önemli derecede ilişkilidir. ER $\beta$  ise ER $\alpha$  fonksiyonu üzerinde zıt etkilere sahiptir. GPER, anormal (Endometrial hiperplazi) EH'de yüksek oranda ifade edilir (Kun Yu vd., 2022). Östrojen etkisi ile başlayan proliferasyon sonucu stroma hücreleri ve endotel hücreleri hızlıca proliferolurlar (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011). Kemirgenlerdeki rahim büyüme tepkileri, tek bir E2 dozu ile ilişkili olarak erken ve geç tepkiler olarak gruplandırılır. Genellikle östrojen uygulamasından sonraki ilk 6 saat içinde ortaya çıkan erken tepkiler, RNA ve protein sentezindeki artışları içerir. Geç östrojen tepkileri, E2 uygulamasından 10-16 saat sonra başlayan DNA sentezi ve epitel hücre mitoz döngülerini içerir. Yaklaşık 16 saat sonra bir dalga ve yaklaşık 24 saat sonra başka bir dalga şeklinde genellikle iki mitotik aktivite dalgası görülür. Rahim büyüme uyarısının büyüklüğü büyük ölçüde biyolojik olarak kullanılabilir E2 süresine ve reseptör etkileşimine bağlıdır (Agarwal vd., 1982). Endometriumun ana işlevi olan embriyonun implantasyonudur (Hapangama, 2015). İmplantasyon için uterus duyarlılığını indüklemek için gereken minimum E2 dozu 1.5-3 ng aralığındadır (Ma vd., 2003).

### **1.7. Suriye Hamsteri (*Mesocricetus auratus*):**

Rodentia ordosunun *Cricetidae* familyasına ait olan bu canlılar ışığa oldukça duyarlı olup kısa sürede üreyebilmeleri ve fotoperiyodik özellikleri sayesinde deneysel çalışmalarda sıkça kullanılırlar. Fotoperiyodik olma özelliklerinden dolayı çeşitli fizyolojik ve hormonal aktivitenin işleyişi, ışığın süresiyle ilişkilidir. Işık, seksüel olgunlaşmanın gerçekleşmesinde ve özellikle üreme dönemlerinin belirlenmesinde en önemli çevresel faktördür (Waterhouse, 1839; Beasley vd., 1981). Gonadların gelişimi, uzun süre ışığa maruz kalmakla uyarılırken kısa süre ışığa maruz kalma gonadal gelişimin baskılanmasına neden olur. Hamsterlerin gonadal gelişimi için aydınlık periyodun süresi en az 12,5 saat olması gereklidir. Bu sürenin altında ışığa maruz kalırlarsa seksüel davranışlarda azalma veya seksüel isteksizlik olabilir (Stetson vd., 1975). Hamsterlerin üremeleri için kayda değer diğer etkenler gıda miktarı ve ortam sıcaklığıdır (Hoffman ve Illnerova, 1986). Suriye hamsterlerinin sırasıyla proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evrelerinden oluşan 4 günlük östrus siklusları, diğer laboratuvar hayvanlarına göre daha rahat tahmin edilebilir

ve gözlemlenebilir. Vajinal smear yöntemi bu evrelerin saptanması için kullanılan en pratik metottur (Kanter vd., 1996). Suriye hamsterlerinin östrus siklus evrelerinin süreleri şöyledir: Proöstrus 12 saat, östrus 12-24 saat, metöstrus 6-8 saat, diöstrus 52-60 saat (Petroianu vd., 2005). Diöstrus evresi boyunca vajinal smearde farklı hücreler gözlemlendiğinden diöstrus evresi diöstrus 1 (D1) ve diöstrus 2 (D2) olmak üzere iki safhada incelenir. Aydınlik ve karanlık siklusu, östrus siklusunun düzenli bir şekilde gerçekleşmesini kontrol eder. Aydınlik ve karanlık siklusunun bozulması halinde, östrus siklusu kayması ve bozulma meydana gelebilir (Kanter vd., 1996; Widmaier vd., 2010).

### **1.7.1. Suriye Hamsteri'nin Östrus Siklusu Safhalarının Saptanması:**

Suriye Hamsterlerinde üremeyi artırmak için östrus siklusu evrelerinin saptanmasında kullanılan yöntemler şöyle sıralanabilir: Davranışların gözlemlenmesi, Elektrik iletkenliğinin ölçülmesi, Vajinanın sitolojik incelenmesi.

**a) Davranış Değişikliği:** Östrus evresindeki bir dişide davranış değişikliği olarak hareketlerinde artış, hayvanın başına ve sırtına vurulduğunda kulaklarında titreme, pelvik bölgeye dokunulduğunda da lordosis pozisyonu aldığı gözlenmektedir (Marcondes vd., 2002).

**b) Elektrik İletkenliğinin Ölçülmesi:** Vajinal mukustaki elektriksel direncin ölçülmesi esasına dayalı bu yöntemde vajina kısmına yerleştirilen prob ile ölçümler yapılır. Buna göre proöstrus evresinde vajinadaki direnç en yüksek seviyededeyken, östrus evresinde ise en düşük seviyededir (Ramos vd., 2001).

**c) Vajinanın sitolojik incelenmesi:** Rodentlerdeki östrus siklusu insanlardaki genital siklusa benzer bir şekilde çeşitli hormonlarla kontrol edilir (Sapmaz, 2008). Östrus siklusu sırasında cinsiyet hormonlarının kontrolünde vajinal epitelin histolojik görünümünde vajinal smear yöntemiyle tespit edilebilen belirgin bazı değişiklikler meydana gelir (Cora vd., 2015). Östrus siklusunun evrelerinin tespitinde hormonal analiz ve vajinal sitoloji oldukça kullanışlıdır (Karim, Baktiar vd., 2003). Vajinal smear yöntemiyle rodentin bulunduğu östrus siklusu evresi tespit edilebilirken hipotalamus-hipofiz bezi ve gonadlar arasındaki mekanizmanın işleyişi hakkında da bilgi sahibi olunabilir (Cora vd., 2015).

Östrus siklusu evrelerinin tespit edilmesinde kolay uygulanabilmesi ve net sonuçlar verebilmesi sebebiyle en yaygın olarak kullanılan vajinal sitolojik inceleme yöntemi vaginal smear yöntemidir. Sonuçların doğruluğu açısından smear örneklerinin günün aynı saatlerinde alınması gerekir (Ramos vd., 2001; Marcondes vd., 2002). Stockard ve Papanicolou tarafından, ilk olarak 1917 yılında guinea pig'ler üzerinde yapılan östrus siklusu çalışmalarında kullanılmış olup günümüzde farklı memeli türlerinin östrus siklusu evrelerini belirlemek için kullanılan yaygın bir yöntemdir (Champlin vd., 1973). Rodentlerde 4-5 gün süren östrus siklusu sırasında uygulanan vajinal smear yönteminde, vajinal duvardan alınan sürüntü örneklerinden ya da vajinal yıkamayla elde edilen örneklerden hazırlanan preparatlarda epitelial hücre, kornifiye hücre ve lökositlerin bulunma oranlarına göre östrus siklusu evreleri histolojik olarak tanımlanabilir (Marcondes vd., 2001).

Laboratuvar hayvanlarında vajinal smear uygulamasının sıkça yapılması hayvanın vajinal epitelinde kornifikasyona, yalancı gebeliği uyarılmasına ve uzun siklusların oluşmasına sebep olmaktadır (Petroianu vd., 2005).

Vajinal epitel hücrelerinin büyümesi ve farklılaşması östrojen (E2) ve progesteron (P4) seks steroid hormonları tarafından düzenlenir. Epitel hücrelerindeki östrojen reseptörü  $\alpha$  (ER $\alpha$ , ER1), vajinal epitel hücrelerinin farklılaşmasını düzenlemek için vajinanın (alt dişi üreme yolunun/LFRT) epitel hücrelerinde gereklidir (Li vd., 2018).

Vajinal epitel hücre duvarı üç tabakadan oluşur:

1. Birinci tabaka; Dış tabakadır. Az veya çok mukus içeren, piknotik nükleuslu hücrelerden oluşur.

2. İkinci Tabaka; Stratum Granülozum denen bu tabaka, dış tabakanın altında yer alır ve östrus evresinin başlamasıyla Stratum Korneum'a dönüşür.

3. Üçüncü tabaka: Yaklaşık yedi hücre tabakası kalınlığında olan bu tabakaya Stratum Germinativum denir (Petroianu vd., 2005).

Vajinal epitel, östrus döngüsü sırasında döngüsel, östrojene bağımlı hücre proliferasyonu ve skuamöz farklılaşma sergiler. Vajina üç hücre katmanına sahip atrofik bir epitel gösterirken, östrojen uygulaması bazal katmanda hızla epitelial hücre

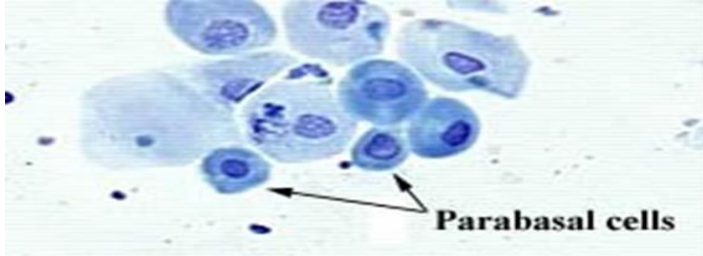
proliferasyonunu indükler. Suprabazal hücreler artık mitojenik değildir, epitelden yukarı doğru hareket ederken farklılaşır ve apikal hücrelerin keratinizasyonuna neden olur. Epiteliyal ER1, vajinada hücre proliferasyonu ve skuamöz hücre farklılaşması arasındaki geçişe aracılık etmek için östrojen ve büyüme faktörü sinyalini entegre eder (Miyagawa ve Iguchi, 2015).

Vajinal epitel duvarında bulunan hücre tipleri şöyle sıralanabilir;

- 1) Epidermal hücreler: Bazal-parabazal, İntermediyal ve Süperfisiyal hücreler,
- 2) Keratinize süperfisiyal (kornifiye) hücreler
- 3) Nötrofil lökositler (Cora vd., 2015).

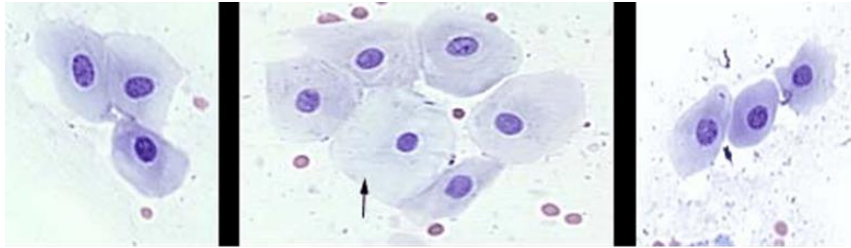
#### 1) Epidermal Hücreler:

Bazal-parabazal hücreler: Küçük, yuvarlak veya oval şekilli ve büyük çekirdekli epitel hücrelerdir.



Şekil 20. Parabazal hücreler (“Vajinal epitel histolojisi”, 2022),

İntermediyal hücreler: Parabazal hücelere göre daha büyük, değişken şekil ve boyutlardaki, daha küçük çekirdekli epitel hücrelerdir.

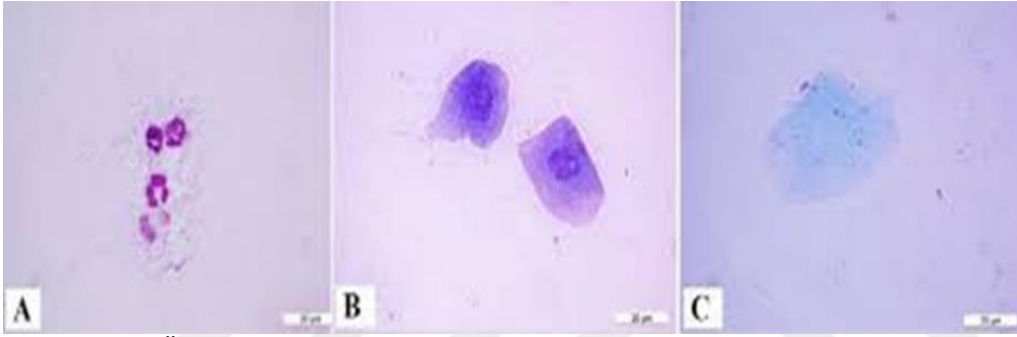


Şekil 21. İntermediyal hücreler (“Vajinal epitel histolojisi”, 2022)

Süperfisiyal hücreler: Düzensiz yassı kenarlı ve çekirdekleri piknotik olan en büyük hücrelerdir.

**2) Kornifiye veya Keratinize Süperfisiyal Hücreler:** Sitoplazmalarında sitoplazmik katlanmalar bulunan çekirdeksiz süperfisiyal hücrelerdir.

**3) Nötrofil Lökositler:** Sitoplazmik sınırları düzgün, oval ya da yuvarlak şekilli, genellikle çok sayıda çekirdeği olan, ayrı ayrı bulunabildiği gibi gruplar halinde de bulunan en küçük hücrelerdir (“Vajinal epitel histolojisi”, 2022).

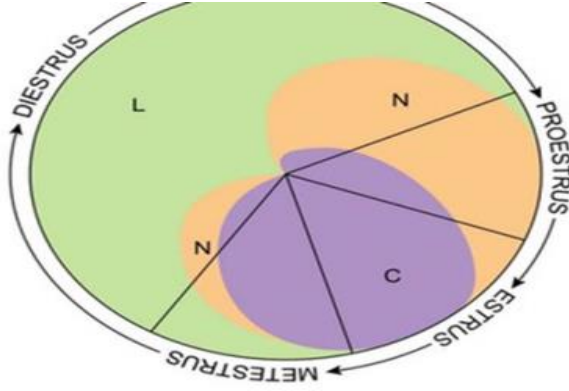


Şekil 22. Östrüs siklus dönemlerinde karakteristik olan 3 farklı hücre çeşidinin mikroskopik görüntüleri.

(A) Nötrofil lökositlerinin parçalı/loblu çekirdek yapısı, (B) koyu çekirdekli süperfisiyal hücreler, (C) çekirdeğini kaybetmiş kornifiye veya keratinize süperfisiyal hücrenin sınırları dozlanmış sitoplazmik görüntüsü (Giemsa boyama, x1000)

(Köylü vd., 2021).

Çok katlı yassı epitel hücrelerden oluşan vajinal epitel hücre tabakalarında, östrüs siklusu evrelerinin endokrin dalgalanmalarındaki değişikliklere bağlı olarak morfolojik bazı değişiklikler gözlenir (Cora vd., 2015).



Şekil 23. Östrus dönemlerinde görülen hücre tiplerinin oranları. L: Lökositler; N: Nukleuslu epitel hücreleri; C: Kornifiye hücreler

(Cora vd., 2015)

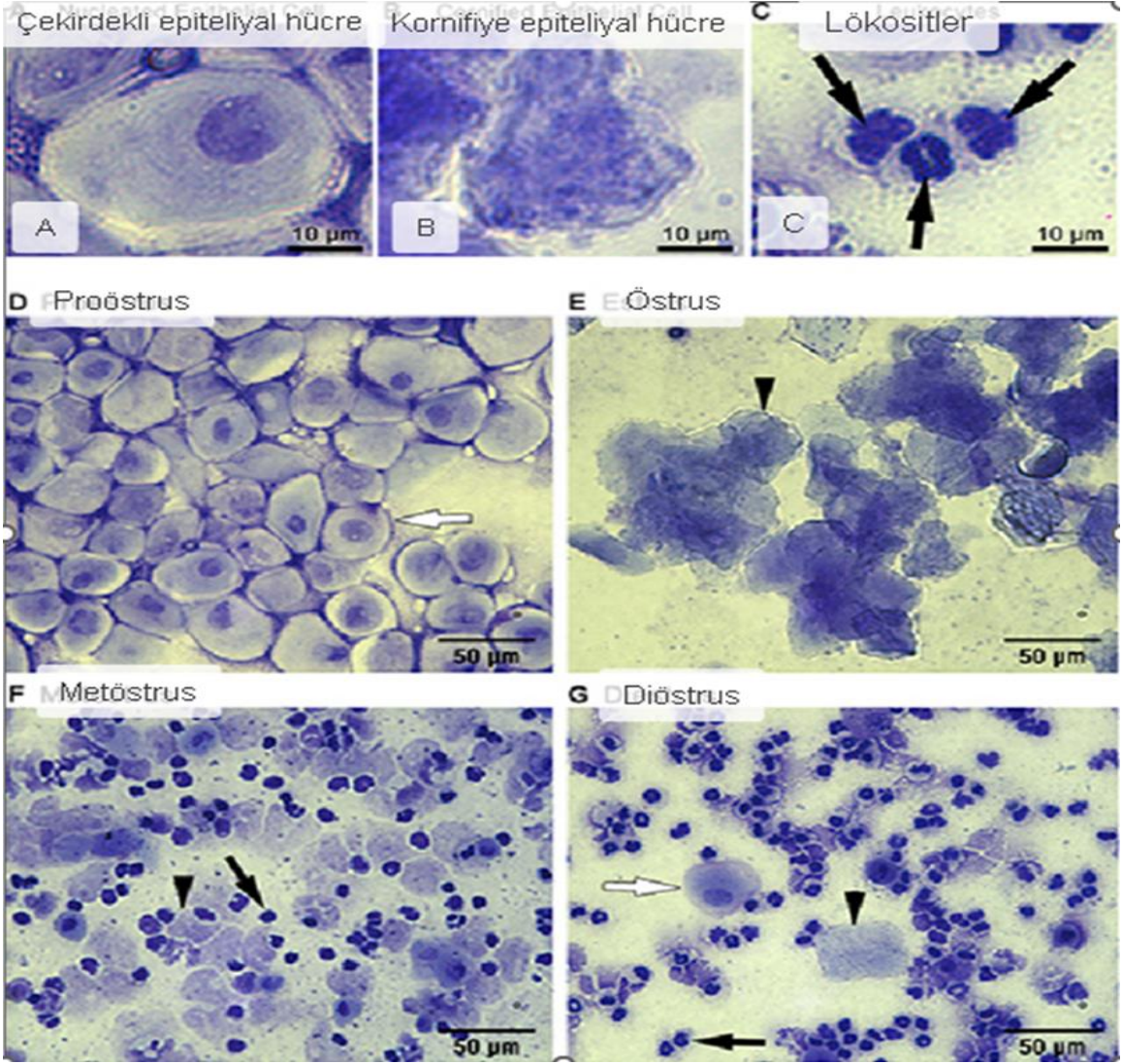
Tablo 4.

Vajinal smeardeki hücre morfolojisi ile östrus siklus safhalarının sınıflandırılması

HÜCRE TİPİ				
Siklus safhası	Lökositler	Nukleuslu epitel	Kornifiye epitel	Smear yoğunluğu
Proöstrus	0/+ Sık dejenere	+/+++ İyi gelişmiş (Predominant)	0/+	Orta
Östrus	0	0	++/+++ göreceli olarak küçük hücreler (predominant)	Ortadan şiddetliye
Metöstrus	0/++	0	++/+++ östrustakinden daha geniş, daha düz ve daha kümelenmiş	Ortadan şiddetliye
Diöstrus	+/+++ (Predominant)	+/+++ çoğunlukla düzensiz şekilli ve vakuollü	0 ya da +/++	İnce ya da ortadan şiddetliye

(Hücre yoğunluğu: 0 = yok, + = az, ++: orta yoğunlukta, +++: şiddetli)

(Nelson vd., 1982)



Şekil 24. Vajinal yaymaların sitolojik değerlendirmesi

(A) Çekirdekli epitel hücreleri, (B) kornifiye epitel hücreleri, (C) lökositler, (D) proöstrus, (E) östrus, (F) metöstrus veya (G) diöstrus. E, F ve G'deki siyah ok uçları temsili kornifiye epitel hücreleri; C, F ve G'deki siyah oklar lökositleri; D ve G'deki beyaz oklar temsili çekirdekli epitel hücreleri belirtir.

(McLean vd., 2012)

Proöstrus süresince ve erken östrusta, vajinal smearde karakteristik olarak tek tip görünüşte ve boyutta olan çok sayıda küçük, yuvarlak, büyük nükleuslu, düzenli hücre sınırlarına sahip epitelyum hücreleri hakimdir. Bu hücreler vajinal smearde birbirinden ayrı bulunabildikleri gibi genellikle birbirine bağlı kümeler halinde tespit edilirler (Marcondes



vd., 2001; Petroianu vd., 2005; Cora vd., 2015). Vajinal smearde bu evrede tipik olarak lökosit görülmemesine rağmen rodentlerde diöstrustan proöstrusa geçişte ya da erken proöstrusta lökositlere nadiren rastlanır. Ayrıca daha düşük sayıda büyük epitel hücreleri ve nükleusu olmayan keratinize hücreler de vajinal smearde tespit edilir (McLean vd., 2012; Cora vd., 2015). Östrus fazına yaklaşıldığında ise keratinize hücreler sayıca artmaktadır. Uterusun endometrium tabakasındaki yüzey epitel hücrelerinin proliferasyon hızı proöstrusun öncesine oranla azalır. Tek katlı prizmatik yüzey epitel hücrelerinin boyları artarak yüksek prizmatik hücrelere dönüşürler. Uterus oldukça küçülmüş olup kaslardaki kasılmalar azalmıştır. Uterusun lümeninde sıvı birikir ve uterusun kasları kasılmaya başlar. Gebelik sonrası süt verme bu dönemde gerçekleşir (Mendoza-Rodriguez vd., 2002; Cora vd., 2015).

Östrus evresinin başlangıcında çekirdekli süperfisiyal hücreler çok sayıda (75%) keratinize (kornifiye) olmuş süperfisiyal hücreler az sayıda da (25%) mevcuttur. Fakat dönemin sonuna doğru sayısı artan çekirdeksiz keratinize epitel hücreleri dejenere olur ve üst üste gelerek epitelial bir yığıntı görünümü oluşturur (Marcondes., 2000; Petroianu vd., 2005; Lohmiller ve Swing, 2006; McLean vd., 2012). Östrus evresinde asla lökosit görülmez. Geç östrusta lökositlerin ortaya çıkmasından önce büyük ve oval şekilli, nükleuslu, epitel hücreleri fazla sayıda görülmeye başlar. Bu durum metöstrus evresine yaklaştığının bir işareti olarak kabul edilir (Orchard vd., 2002). Ovulasyondan sonra görülen evre ise metöstrus dönemidir. Büyüyen uterusların lümenlerine sıvı dolduğu için şişerler (“Sıçanlarda östrus siklusu”, 2022). Uterusun endometriumundaki yüzey epitel hücrelerinde proliferasyon meydana gelmez. Hücreler maksimum boyutlarına ulaştıkları için de yüzey epitel kalınlaşır. Yüzey epitelinin bazı yerlerinde yalancı çok katlı epitel hücreleri de tespit edilmiştir. Ayrıca bu evrede apoptotik indeks arttığı için epitelde apoptotik hücrelere de rastlanmaktadır (Mendoza-Rodriguez vd., 2002). Ovulasyonun gerçekleştiği bu fazda uterusun yüzey epitelinde meydana gelen bu değişikliklerin amacı blastosistin implantasyonu gerçekleştirebilmektir (Orchard vd., 2002).

Tüm tabakanın dökülmesi metöstrus evresinin başladığının karakteristik bir özelliğidir. Erken metöstrusta epitel hücreleri çoğunlukta metöstrus ilerledikçe lökositlerin sayısı, epitel hücrelerinin sayısını geçer (Marcondes vd., 2001; Petroianu vd., 2005). Vajinal smearde genel olarak çok sayıda lökosit ve az sayıda büyük, çekirdeksiz

kornifiye epitel hücreleri görülür (McLean vd., 2012). Bu evrede serum progesteron ve estradiol seviyelerinin düşmesiyle uterusun kanlanması azalmıştır (Mendoza-Rodriguez vd., 2002). Uterusdaki kan damarları küçülmüş, uterus kaslarındaki kasılmalar da azalmıştır (“Sıçanlarda östrus siklusu”, 2022).

Diöstrus evresinde vajinal smear örneklerinde lökosit sayısı oldukça fazlayken az sayıda da çekirdekli epitel hücreleri gözlenir (Marcondes vd., 2001). Diöstrus 1’de gözlenen nükleuslu hücre miktarındaki artış, dökülme işleminin artık bittiğini gösterir. Stratum germinativumun birkaç yüzeysel tabakasında ise lökosit sayısındaki artışı oldukça dikkat çekicidir. Diöstrus 2’de en içteki stratum germinativum tabakası büyür. Erken proöstrus ile birlikte yüzeydeki stratum germinativum tabakasının altında çok sayıdaki hücre tabakasıyla stratum granulozum tabakası yer alır ve böylece siklus tamamlanır. Bu dönemde helezon şeklindeki mukus görüntüleri tipiktir (Petroianu vd., 2005). Diöstrus evresinde uteruslar oldukça küçülmüş olup kasların kasılması da azalmıştır (“Sıçanlarda östrus siklusu”, 2022). Ayrıca bu sırada endometriyal rejenerasyon da başlamaktadır (Levine vd., 1985).

Tablo 5.

#### Östrus siklusu safhalarının özellikleri

Proöstrus	Östrus:	Metöstrus:	Diöstrus:
Çok küçük, yuvarlak, düzenli hücre sınırlarına sahip, büyük çekirdekli epitel hücreleri hakimdir. Bu hücreler ayrı ayrı görülebilirlerken genellikle birbirlerine bağlı kümeler şeklinde de görülürler. Tipik olarak lökosit görülmez (Marcondes vd., 2002; Cora vd., 2015; McLean vd.,2012).	Çekirdeksiz büyük kornifiye hücreler çok sayıda olup östrus evresinin sonuna doğru dejenere olurlar, üst üste gelerek, birbirine yapışmış bir yığın meydana getirir. Lökosit görülmez (Marcondes vd., 2002).	Çok sayıda lökosit ve az sayıda büyük, çekirdeksiz kornifiye epitel hücreleri görülür (Marcondes vd., 2002; McLean vd., 2012).	Dağınık bir şekilde ve fazla sayıda lökosit ve az sayıda da çekirdekli epitel hücreler görülür (Marcondes vd., 2001).

## İKİNCİ BÖLÜM: ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Oleuropeinin antioksidan özelliği ile kuvvetli bir antioksidan olan vitamin E'nin karşılaştırıldığı bir çalışmada oleuropeinin antioksidan etkilerinin vitamin E'den daha fazla olduğu kaydedilmiştir (Le Tutour ve Guedon, 1992). Oleuropein, güçlü antioksidanlar olan vitamin E ve C' nin süperoksit anyon oluşumu, hipoklorik asit oluşumu ve mitokondrial solunum patlaması üzerindeki süpürücü aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, oleuropeinin radikal temizleyici etkilerinin daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Visioli ve Bellomo, 1998). Zeytin yaprağı ekstresinin antioksidan özelliğinin gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında gıda bozunumuna neden olan lipid oksidasyonunu önlediği, sonuç olarak gıdaların raf ömrünü uzattığı belirlenmiştir (Bouaziz ve Sayadi, 2005). Diyabetli ratlarda zeytin yaprağının etil alkolde hazırlanan ekstresinin antioksidan özelliğinin incelendiği bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstresinin antioksidan özellik gösterdiği, diyabet ve buna bağlı komplikasyonların sebep olduğu oksidatif stresi azalttığı ortaya konmuştur (Ağgöl, 2012).

Mitokondriyal DNA hasarı ve oksidatif stres (serbest radikallerin artması, antioksidant seviyenin azalması gibi nedenlerle ortaya çıkan vücut için zararlı durum) yaşlanmada, nöronların fonksiyonel özelliklerini kaybetmesi sonucu oluşan sinirsel hastalıklardan olan Parkinson ve Alzheimer'da, diyabet gibi dejeneratif hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde etkili faktörlerdir. Oleuropeinin nöroprotektif özelliğini incelemek için yapılan bir çalışmada oleuropeinin, Parkinson hastalığıyla ilgili olan dopaminerjik sinirlerin zarar görmesini veya kayıplarını engellediği tespit edilmiştir. Böylelikle Parkinson hastalığının tedavisinde yeni bir umut olarak ifade edilmektedir. Zeytin yaprağı ekstraktının nörodejeneratif hastalıklardan olan Alzheimer Hastalığı (AH) ve Parkinson Hastalığının (PD) önlenmesinde antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, antioksidan etkileri olan zeytin yaprağı ekstresinin nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi için iyi bir potansiyel terapötik etkiye sahip olduğu görülmektedir (Sarbishegi., 2018).

Diyabetik erkek sıçanlarda hidro-alkolik zeytin yaprağı ekstraktının gonadotropin (LH, FSH) ve seks hormonlarının (progesteron, östrojen) düzeylerine etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, hidro-alkolik zeytin yaprağı ekstrelerinin gonadotropinler ve

cinsiyet hormonları seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir (Mokhtari vd., 2014). Dişi ratlara 10 hafta boyunca 200-400 mg/kg zeytin yaprağı ekstresi verilen bir çalışmada, yüksek dozda zeytin yaprağı ekstresi alımının sonucu olarak serum estradiol seviyesi önemli ölçüde artmış olarak tespit edilmiştir (Yoon vd., 2015). Zeytin yaprağı ekstraktının bir toksik madde olan rotenona (ROT) maruz bırakılan sıçanların testislerinde sperm kalitesi ve antioksidan kapasite üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstraktının sperm kalitesini iyileştirdiği ve kısırlılığı tedavi edebileceği tespit edildi (Sarbishegi vd., 2017). Zeytin yaprağının alkollü ekstraktının erkek sıçanlarda serum FSH, LH ve testosteron üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstraktının oral yoldan verilmesinin testosteron seviyesindeki azalmayı engelleyebileceği kaydedilmiştir (Nasirzadeh, 2017). Başka bir çalışmada, farklı mevsimlerde (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) toplanılan zeytin yapraklarından elde edilen zeytin yaprağı ekstraktlarının, erkek Suriye hamsterlerinin sirkadiyen ritimleri ve testosteron hormonları (erkek cinsiyet hormonu) üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmanın sonunda kış mevsimine ait zeytin yaprağı ekstresinin sirkadiyen ritim üzerinde yaptığı değişimlerin en yüksek görüldüğü, yaz mevsimine ait zeytin yaprağı ekstresinin de testosteron hormonu değerlerini yükselttiği tespit edilmiştir (Kortun, 2018). Zeytin yaprağı ekstraktının erkek sıçan üreme sistemi organı olan testisler üzerinde yıkıcı bir etkiye sahip olan Busulfan (BU)'nın sebep olduğu hasarlar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 250 ve 500 mg/kg dozlarında zeytin yaprağı ekstraktının oral yoldan verilmesinin, sıçan testislerinde BU'nun neden olduğu toksisiteyi iyileştirmeye yardımcı olabildiği tespit edilmiştir (Ganjalikhan, 2019).

Oleaceae ailesinden olan zeytin (*Olea europaea*), lignan ve fenolik bileşikler içerdiğinden fitoöstrojen bitki bileşiği olarak bilinir. Zeytin stilbenoidler, fenolik asit, flavonoidler içerir ve oleuropein varlığından dolayı antioksidan, anti-hiperlipidemik ve anti-iskemik etkiye sahiptir. Ayrıca zeytin, sedef hastalığı ve atopik dermatit gibi dermatolojik hastalıkların tedavisinde de kullanılır. Ayrıca bitki antimikrobiyal, antivirüs ve mantar önleyici özelliklere sahiptir. Zeytinin menopozdaki kadınlarda osteoporozu azalttığı belirtilmektedir. Bu nedenle, bu bitkinin fitoöstrojenik etkileri ile ilgili olarak, bu çalışmada zeytin ekstraktının dişi hamsterlerde üreme sistemi ile ilgili yapı ve hormon üzerindeki etkileri ayrıntılı incelenmiştir.

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM: MATERYAL VE YÖNTEM

### 3.1. Zeytin Yaprağı (*Olea europaea*) Ekstraktının Hazırlanışı:

Ezine'nin Geyikli beldesinden Temmuz ayı içinde (Kortun, 2018) toplanan zeytin yaprakları üç hafta oda ısısında bekletilip kurutuldu. Kuruyan zeytin yaprakları toz haline getirildi ve buzdolabında muhafaza edildi. Tartılan 50 g zeytin yaprağı tozu, filtre kağıdı içine konuldu. Daha sonra soxhlet cihazının cam kısmına yerleştirildi. Zeytin yaprağında bulunan ve antioksidan özelliğine sahip olan başta oleuropein olmak üzere önemli fenolik bileşikler zeytin yaprağından izole etmek için etanol kullanıldı (Okere vd., 2014). Soxhlet cihazının balon joesine 400 ml %70'lik etanol (Merck 100983 Ethanol Absolute For Analysis Bitkisel Kökenli Emsure® Acs, Iso, Reag. pH Eur 2.5 L) konuldu. Soxhlet cihazı musluğa bağlanıp açıldı ve suyla dolması sağlanarak cihaz çalıştırıldı. Yirmi dört saat sonra balon jodede açık yeşil renkte zeytin yaprağı alkol ekstraktı elde edildi. Zeytin yaprağı alkol ekstraktı karışımı bir cam behere konulup ısıtıcı su banyosuna alındı ve içindeki alkol uçana kadar ısınmaya bırakıldı. Beherdeki alkol uçunca beher zemininde kalan zeytin yaprağı alkol ekstraktı kazınarak çıkarıldı. Daha sonra falcon tüpünde ağzı kapalı bir şekilde buzdolabında muhafaza edildi. Zeytin yaprağı ekstraktı suda çözünmediği için çözücü olarak fizyolojik su (9 g NaCl/1000 ml distile suyu) kullanıldı.

### 3.2. Hayvan Denekleri:

Bu çalışmada kullanılan yetişkin dişi Suriye hamsterleri (*Mesocricetus auratus*) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nün Deney Hayvanları Ünitesi'nde bulunan hamster kolonisinden elde edilmiştir. Seçilen dişi hamsterlerin en az 3-4 aylık olmalarına ve yetişkin ağırlıklarının birbirlerine en yakın olacak şekilde seçilmesine dikkat edilmiştir (100-110 g). Hamsterler deney süresi boyunca plastik kafesler içerisinde (16x31x42 cm) talaş kullanılarak bakılmıştır. Hayvanlar kafeslerde en fazla 4 hayvan olacak şekilde tutulmuşlardır. Besin (Bilyem-Rat Yemi) ve musluk suyu (ad libitum) standartlar içerisinde karşılanmıştır. Hayvanlar havalandırılmalı odalarda tutulup oda sıcaklıkları  $22 \pm 2$  °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Hamsterler doğumlarından itibaren 16L: 8D (16 saat ışık, 8 saat karanlık) tutulmuştur. Işıklar otomatik

zaman ayarlayıcı sayaçlarla kontrol edilmiştir (ışıklar saat 06:00'da açılıp 20:00'da kapanmaktadır). Fotoperiyot odalarındaki ışık şiddeti en az 200 lüks olacak şekilde beyaz floresan ışık ile ayarlanmıştır. Çalışmanın tümü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan izin ile gerçekleşmiştir (27.12.2019 tarihli 2019/10 numaralı karar ile).

**Kontrol Grupları:** Kontrol grubu için seçilen hayvanların vücut ağırlıkları 100-110 g aralığında bulunmaktadır.

**Deney Grupları:** Yaz mevsiminde (Kortun, 2018) toplanılan zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktların, dişi Suriye hamsterlerinin östrus siklusu üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Çalışma toplam 4 gruptan oluşmaktadır. Her grupta n=5 olacak şekilde hayvan kullanılmıştır.

**1) Birinci Deney Grubu:** Birinci grup için seçilen dişi hamsterlerin vücut ağırlıkları deney başlamadan ölçülmüştür. Zeytin yaprağı ekstraktının 20 mg'ı 10 ml serum fizyolojik içinde çözülüp intraperitoneal olarak 0,1 ml enjekte edilmiştir. Enjeksiyon 30 gün devam etmiştir.

**2) İkinci Deney Grubu:** İkinci grup için seçilen dişi hamsterlerin vücut ağırlıkları deney başlamadan ölçülmüştür. Zeytin yaprağı ekstraktının 40 mg'ı 10 ml serum fizyolojik içinde çözülüp intraperitoneal olarak 0,1 ml enjekte edilmiştir. Enjeksiyon 30 gün devam etmiştir.

**3) Üçüncü Deney Grubu:** Üçüncü grup için seçilen dişi hamsterlerin vücut ağırlıkları deney başlamadan ölçülmüştür. Zeytin yaprağı ekstraktının 80 mg'ı 10 ml serum fizyolojik içinde çözülüp intraperitoneal olarak 0,1 ml enjekte edilmiştir. Enjeksiyon 30 gün devam etmiştir.

### **3.3. Zeytin Yaprağı Ekstraktlarının Hayvanlara Uygulanması:**

Zeytin yaprağı ekstraktları (20 mg/kg, 40 mg/kg, 80 mg/kg) Okere ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında kullanılan yöntem esas alınarak hamsterlere 30 gün boyunca öğleden sonra (12:00 – 13:00) intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir.

### **3.4. Vajinal Smear Uygulaması:**

Deney gruplarındaki dişi Suriye hamsterlerinin geçirmekte olduğu östrus sikluslarının fazlarının tespitlerini yapabilmek için, hayvanlardan alınan vajinal smear örneklerinin her biri ışık mikroskobunda tek tek incelenip fotoğraflanmıştır. Her hayvan için ayrı takılan pipet uçlarına vajinal smear uygulaması yapmak için yaklaşık 0,5 ml serum fizyolojik çekilmiş hayvanın karnı yukarı bakacak şekilde tutulup pipet ucu vajinaya yerleştirildikten sonra pipetteki serum fizyolojik vajinadan içeriye verilmiş, pipet ucu vajinadan dışarıya çıkarılmadan verilen sıvı tekrar pipetle geri çekilmiştir. Pipetle geri çekilen sıvı temiz bir lamın üzerine alınıp, lam kurumaya bırakılmıştır (Nishino ve Totsukawa, 1996).

Lamların kenarlarına grupları belirten etiketler yapıştırılmıştır. Lamlar kuruduktan sonra %70'lik metanole daldırılıp bekletilmeden çıkarılmış ve oda ısısında kurutularak fiksasyonu sağlanmıştır (Hayıroğlu vd., 2016). Lamlar kuruduktan sonra içlerinde metilen mavisi çözeltisi (Rokim-K214008-0200-200 ml) bulunan şalelere yerleştirilmişlerdir. Burada 5 dakika bekletildikten sonra lamlar boyadan çıkarılıp akan musluk suyu altında yıkanmıştır. Lamlardaki örnekler kurutulduktan sonra lamelle üstleri kapatılmadan mikroskop altında incelenip hangi östrus siklusu safhasında oldukları tespit edilmiştir (Nishino ve Totsukawa, 1996; Hayıroğlu vd, 2016). Fazların fotoğraflanması Zeiss Scope A1 marka mikroskop ve mikroskoba takılı Axiocam 503 Color kamera ile sağlanmıştır.

### **3.5 Dekapitasyon, Kan Alımı, Diseksiyon ile Ovaryumların ve Uterusların Çıkarılması:**

Otuz günden sonra deney hayvanları dekapite edilmiştir. Dekapitasyondan sonra hayvanların kanları tüplere alınıp kapakları kapatılmıştır. Tüplerin üzerine grup adının, tarihin yazılı olduğu etiketler yapıştırılmıştır. Bu tüpler santrifüj cihazında 4200 devirde 10 dakika santrifüjlenmiştir. Tüpte üstte kalan şeffaf kısım ependorflara konmuştur. Örnekler derin dondurucuya (-20 0C) kaldırılmıştır. Diseksiyon uygulanan deney hayvanlarından bekletilmeden disekte edilen ovaryum ve uteruslar içlerinde formaldehit (Tekkim- TK. 060160. 02501- 2,5 L) bulunan küçük kavanozlara konmuştur. Formaldehit alınan dokunun en az 10 katı olacak şekilde uygulanmıştır.

### 3.6. Alkol Serisinden Geçirme:

Tablo 6.

Alkol serisinden geçirme

Alkol	Süre	Açıklama
%70'lik alkol	1 saat	%70'lik alkolde uzun süre kalabilir.
%80'lik alkol	1 saat	%70'lik alkolden pensle çıkarılan örnek, kağıt havluya konup biraz kurutulur, daha sonra pensle alınıp %80 alkole konulur.
%90'lik alkol	1 saat	%80'lik alkolden pensle çıkarılan örnek, kağıt havluya konup biraz kurutulur, daha sonra pensle alınıp %90 alkole konulur.
%96'lik alkol	1 saat	%90'lik alkolden pensle çıkarılan örnek, kağıt havluya konup biraz kurutulur, daha sonra pensle alınıp %96 alkole konulur.
Absolut I	30 dk.	%96'lık alkolden pensle çıkarılan örnek, kağıt havluya konup biraz kurutulur, daha sonra pensle alınıp absolute I'e konulur.
Absolut II	30dk.	Absolut I'den pensle çıkarılan örnek, kağıt havluya konup biraz kurutulur, daha sonra pensle alınıp absolut II'e konulur.
Aseton	15 dak.	Absolut II'den pensle çıkarılan örnek, kağıt havluya konup biraz kurutulur, daha sonra pensle alınıp asetona konulur.
Ksilen + Alkol (K+A)	30 dk.	Asetondan pensle çıkarılan örnek kağıt havluda kurutulmadan K+A'e konulur.
Ksilen I	15 dk.	K+A'dan pensle çıkarılan örnek kağıt havluda kurutulmadan Ksilen I'ekonulur.
Ksilen II	15 dk.	Ksilen I'den pensle çıkarılan örnek, kağıthavluda kurutulmadan Ksilen II'e konulur.
Ksilen + Parafin (Etüvde)	30 dk.	Ksilen II'den pensle çıkarılan örnek, Ksilen+Parafin'e konulur.
Parafin I (Etüvde)	1 gece	Ksilen+Parafin'den çıkarılan örnek, Parafin I'e konulur.
Parafin II (Etüvde)	1 saat	Parafin I'den çıkarılan örnek, Parafin II'ye konulur.

(McMaus ve Mowry, 1964)

#### 3.6.1. Kullanılan Kimyasallar:

Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra pure Tekkim- TK.090270.01000 – 1 L

%96'luk Teksol Alkol (5 lt) Tekkim- TK.200650.05001

Merck 100983 Ethanol Absolute For Analysis Bitkisel Kökenli Emsure® Acs, Iso, Reag.pH Eur 2.5 L

Boncuk Parafin Tekkim- TK.200661.00502 – 500 gr

Aseton Tekkim- TK.010050.02501 – 2,5 L



### 3.7. Parafinleme:

Alkol serisinden geçen ovaryum örneklerine ertesi gün parafinleme işlemi uygulanmıştır. Etüvde erimiş sıvı halde bulunan parafin etüvdeki metal küvetlere konmuştur. Etüvdeki parafin II'den çıkarılan ovaryum örnekleri içinde sıvı parafin bulunan küvetin zeminine yerleştirilmiştir. Daha sonra küvet soğuması için etüvden dışarı çıkarılmıştır. Bir bıçak yardımıyla küvetten kenarları kazıyarak çıkartılmıştır.

### 3.8. Kesit Alma:

Parafin blokların mikrotomda (Mikrotom cihazı-Mikrom HM 325) 10 µ kalınlıkta alınan kesitleri, temiz lamaların üzerine alınmıştır. Alınan lamalar etüvde bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün lamalar etüvden alınıp boya serisinden geçirilmiştir.

### 3.9. Boya Serisinden Geçirme:

Tablo 7.

Boya serisinden geçirme

Boyanın Adı	Bekletme Süresi	Açıklamalar:
Ksilol I	10dak.	10 dakika sonra lamaların fazla alkolünü süzdürmek için filtre kağıdı üzerinde biraz tutulup diğer alkole daldırılmıştır.
Ksilol II	10dak.	
Absolut I	5 dak.	5 dakika sonra lamaların fazla alkolünü süzdürmek için filtre kağıdı üzerinde biraz tutulup diğer alkole daldırılmıştır.
Absolut II	5 dak.	
%80 Alkol	5 dak.	
%70 Alkol	5 dak.	
%50 Alkol	5 dak.	5 dakika alkolde beklettikten sonra lamaların fazla alkolü süzdürmek için filtre kağıdı üzerinde biraz tutup süzdürülmüştür. Daha sonra hematoskilene daldırılıp 3 dakika boyanmıştır
Hematoksilen	3 dak.	
Eosin	20 dak.	Eosinde 20 dakika boyandıktan sonra suda yıkanmıştır.
%50 Alkol	5 d dak.	5 dakika sonra lamaların fazla alkolünü süzdürmek için filtre kağıdı üzerinde biraz tutulup diğer alkole daldırılmıştır
%70 Alkol	5 dak.	
%80 Alkol	5 dak.	
Absolut I	5 dak.	
Absolut II	5 dak.	
Ksilen I	5 dak.	
Ksilen II	5 dak.	
Entellan		Ksilen ikiden çıkarılan lamalar ince çubuklar üzerine düzgünce yerleştirilmiştir. Lamaların üzerinde boyanmış haldeki kesitlerin üzerine birer damla entellan konmuş lamın üzeri ince lamellerle arada hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılmış ve kurumaya bırakılmıştır.

(McMaus ve Mowry, 1964)

### **3.9.1.Kullanılan Kimyasallar:**

Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra pure Tekkim- TK.090270.01000 – 1 L

%96'lık Teksol Alkol (5 lt) Tekkim- TK.200650.05001

Harris' hematoxylin solution Merck- M109253.0500 – 500 ml

Eosin Y Tekkim- TK.930088.00102 – 100 gr

Entellan Merck- M107961.0100 – 100 ml

Merck 100983 Ethanol Absolute For Analysis Bitkisel Kökenli Emsure® Acs, Iso, Reag.pH Eur 2.5 L

### **3.10. Kan Alımı ve Hormon Ölçümü**

Dekapitasyondan sonra hayvanların kanları tüplere alınıp kapakları kapatılmıştır. Bu tüpler santrifüj cihazında 10 dakika 4200 devirde santrifüjlenmiştir (L500 tabletop low speed centrifuge) ve serumları ayrılmıştır.

Ayrılan serumlar ependorflara konup -20°C'de soğutucuda muhafaza edilmiştir. Hayvanların kan östrojen değerleri, enjeksiyonu yapılan zeytin yaprağı ekstraktlarının her bir deney grubu için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Serumda östrojen hormon ölçümü BT-LAB Elisa Kit marka Rat Estrogen ELISA ölçüm kiti ile yapılmıştır (BioAssay-Technology Laboratory, Rat Estrogen ELISA, E1121Ra).

Absorbans okuması Thermo Scientific Multiskan FC Mikroplaka Okuyucu cihazında yapılmıştır (Sonuçlar ng/L olarak verildi. R<sup>2</sup> değeri: 0,99).

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM: ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

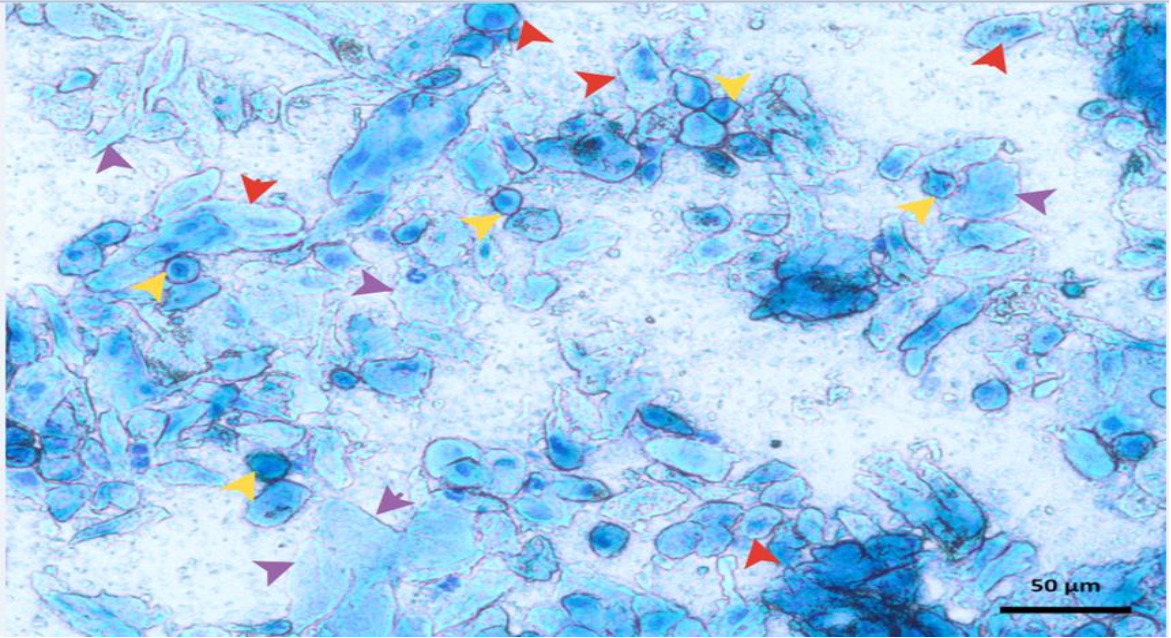
### 4.1. Araştırma Bulguları

#### 4.1.1. Östrus Siklusunu Sonuçları

**Kontrol Grubu:** Kontrol grubu olarak seçilen deney hayvanlarına zeytin yaprağı-alkol ekstresi enjekte edilmedi. Vajinal smear uygulamasının öğlen 12:00-13:00 saatleri arasında ve hep aynı saatlerde yapılmasına özen gösterildi. Buna göre kontrol grubu deney hayvanlarının östrus sikluslarının vajinal smear değerlendirilmesi aşağıdaki gibi tespit edildi.

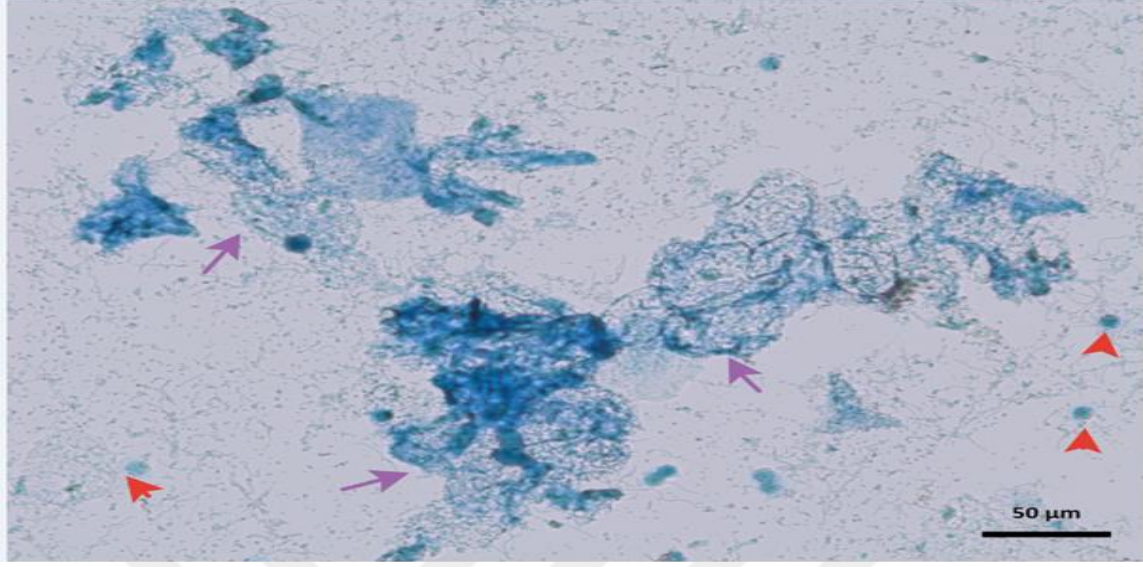
Vajinal smear örneklerinin incelenmesinde Kırmızı ok ucu: İntermediyal hücreleri; Sarı ok ucu: Parabazal hücreleri; Mor ok ucu: Kornifiye hücreleri; Yeşil ok ucu: Lökositleri belirtir.

#### Proöstrus Evresi:



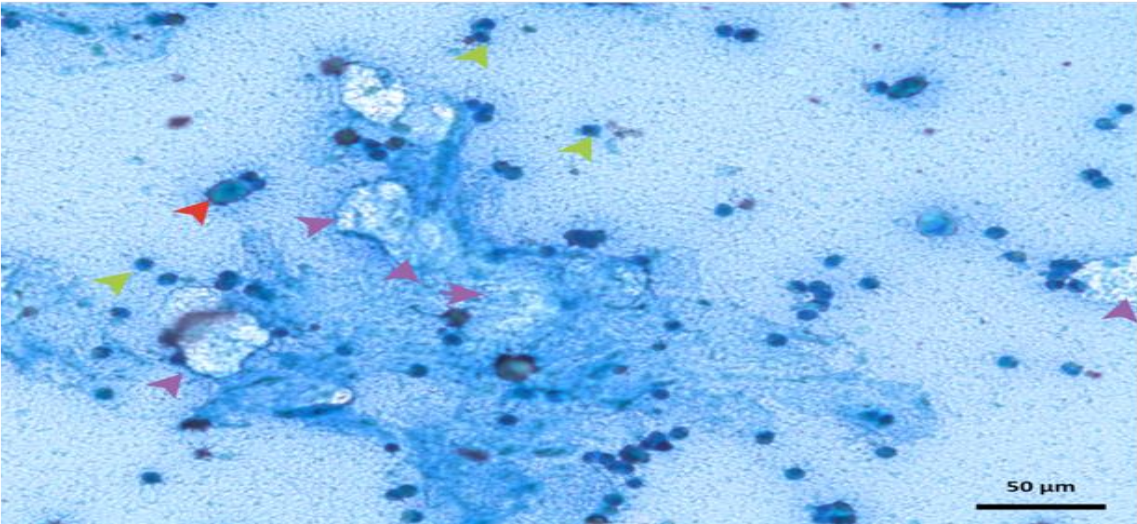
Şekil 25. Kontrol grubu proöstrus evresi (20X). Lökosit görülmedi. Fazla sayıda intermediyal çekirdekli hücre, daha az sayıda parabazal hücre ve nadiren kornifiye çekirdeksiz hücreler gözlemlendi.

### Östrus Evresi:



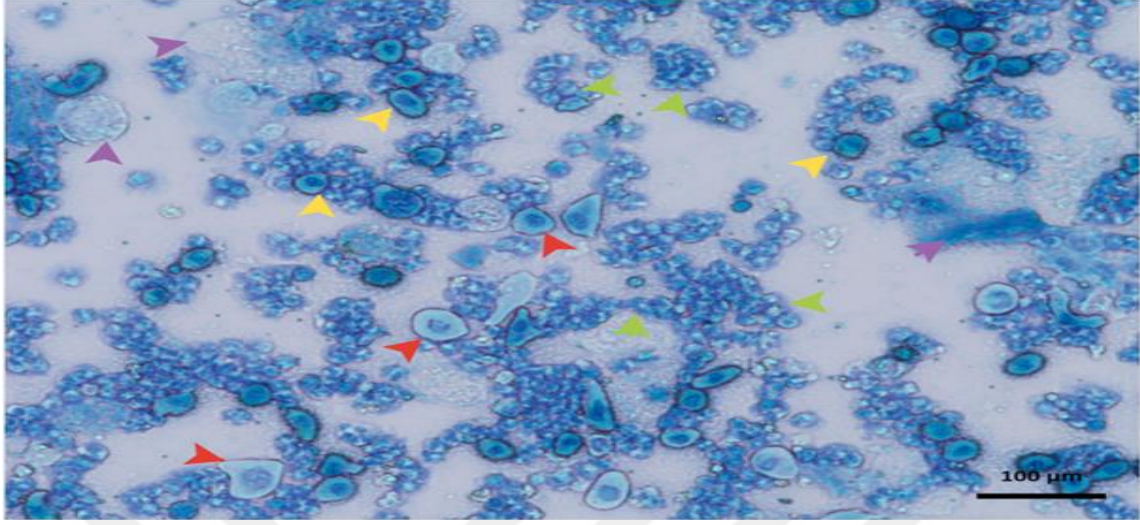
Şekil 26. Kontrol grubu östrus evresi (20X). Az sayıda çekirdekli epitel hücreler, ayrı ayrı bulunan çok sayıda çekirdeksiz büyük keratinleşmiş kornifiye süperfisiyal hücreler belirlendi, evresinin sonuna doğru bu hücrelerin dejenere olduğu, üst üste gelerek birbirine yapışmış bir yığın meydana getirdiği, lökositlerin görülmediği tespit edildi.

### Metöstrus Evresi:



Şekil 27. Kontrol grubu metöstrus evresi (20X). Az sayıda çekirdekli epitel hücreleri, çok sayıda çekirdeksiz keratinleşmiş kornifiye büyük epitel hücrelerinden oluşan hücre yığını ve oldukça fazla sayıda da lökosit tespit edildi.

## Diöstrus Evresi:



Şekil 28. Kontrol grubu diöstrus evresi (20X). Yaygın olarak lökositler ve aralarında daha az sayıda çekirdekli küçük intermediyal hücreler ve parabazal hücre ile birkaç tane de çekirdeksiz kornifiye hücre tespit edildi.

## **Kontrol Grubu:**

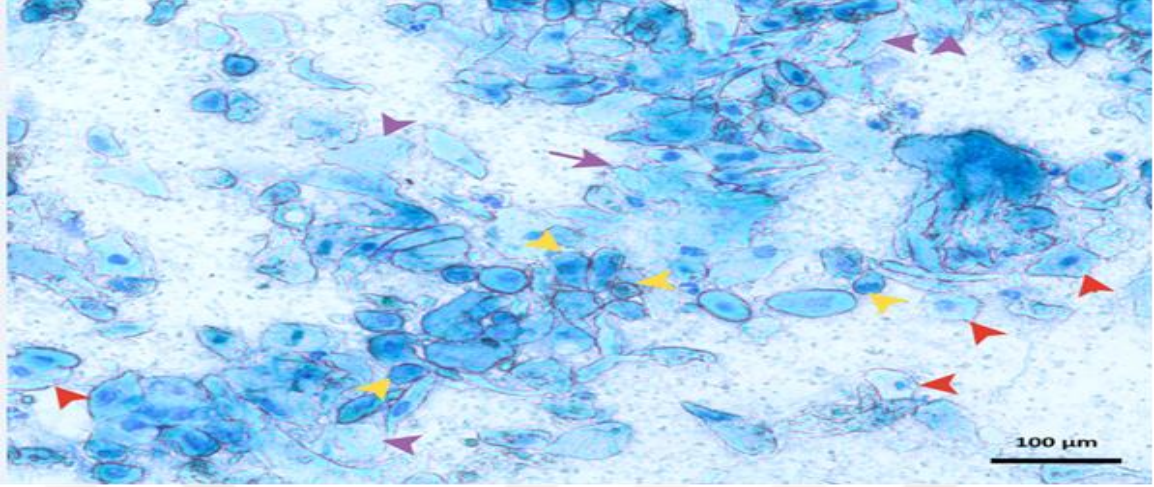
Tablo 8.

Kontrol grubu vajinal smear sonuçları

Proöstrus:	Östrus	Metöstrus	Diöstrus
Lökosit görülmedi. Fazla sayıda intermediyal çekirdekli hücre, daha az sayıda parabazal hücre ve nadiren kornifiye çekirdeksiz hücreler tespit edildi.	Az sayıda çekirdekli epitel hücreler, ayrı ayrı bulunan çok sayıda çekirdeksiz büyük keratinleşmiş kornifiye süperfisiyal hücreler belirlenmiş, evresinin sonuna doğru bu hücrelerin dejenere olduğu, üst üste gelerek birbirine yapışmış bir yığın meydana getirdiği, lökositlerin görülmediği tespit edildi.	Az sayıda çekirdekli epitel hücreleri, çok sayıda çekirdeksiz keratinleşmiş kornifiye büyük epitel hücrelerinden oluşan hücre yığını ve oldukça fazla sayıda da lökosit tespit edildi.	Yaygın olarak lökositler ve aralarında daha az sayıda çekirdekli küçük intermediyal hücreler ve parabazal hücre ile birkaç tane de çekirdeksiz kornifiye hücre tespit edildi.

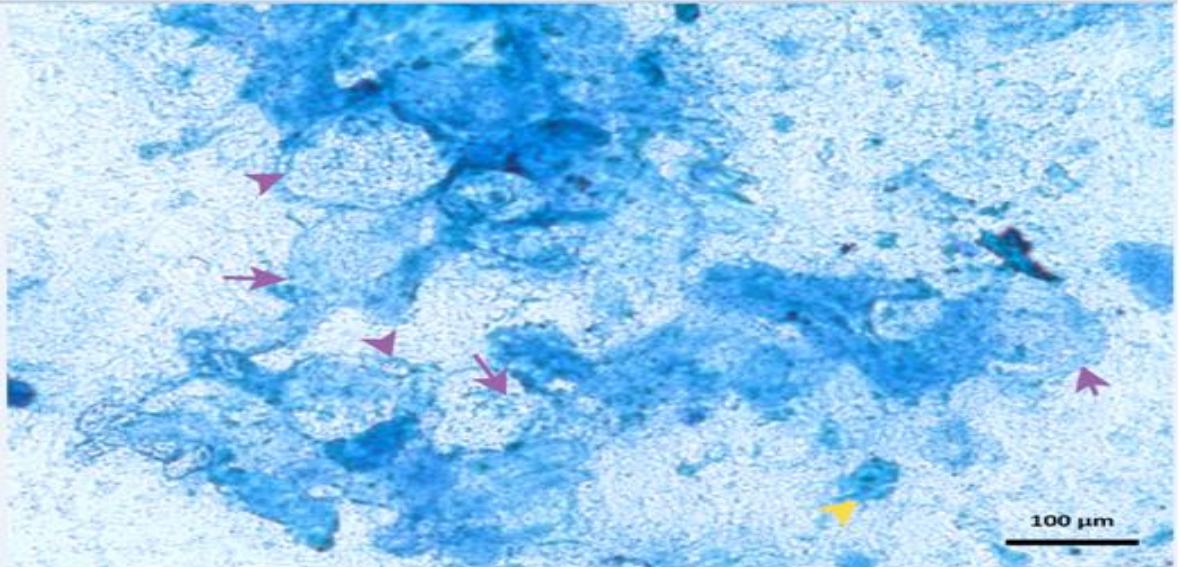
**Birinci Grup:** Bu grup için seçilen deney hayvanlarının zeytin yaprağı-alkol ekstresi enjeksiyonu ve vajinal smear uygulaması öğlen 12:00-13:00 saatleri arasında ve hep aynı saatlerde yapılmasına özen gösterildi. Buna göre birinci grup deney hayvanlarının östrus sikluslarının vajinal smear değerlendirmesi aşağıdaki gibi tespit edildi.

### Proöstrus Evresi:



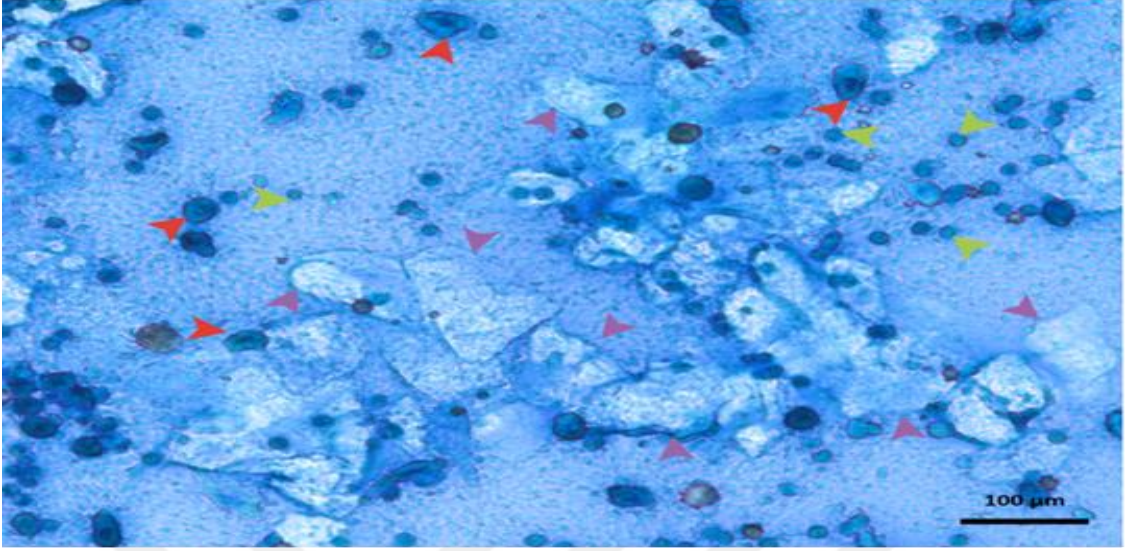
Şekil 29. Birinci grup proöstrus evresi (20X). Çok sayıda intermediyal çekirdekli hücre, daha az sayıda parabazal hücre ve nadiren kornifiye çekirdeksiz hücrelere rastlanırken lökosit gözlenmedi.

### Östrus Evresi:



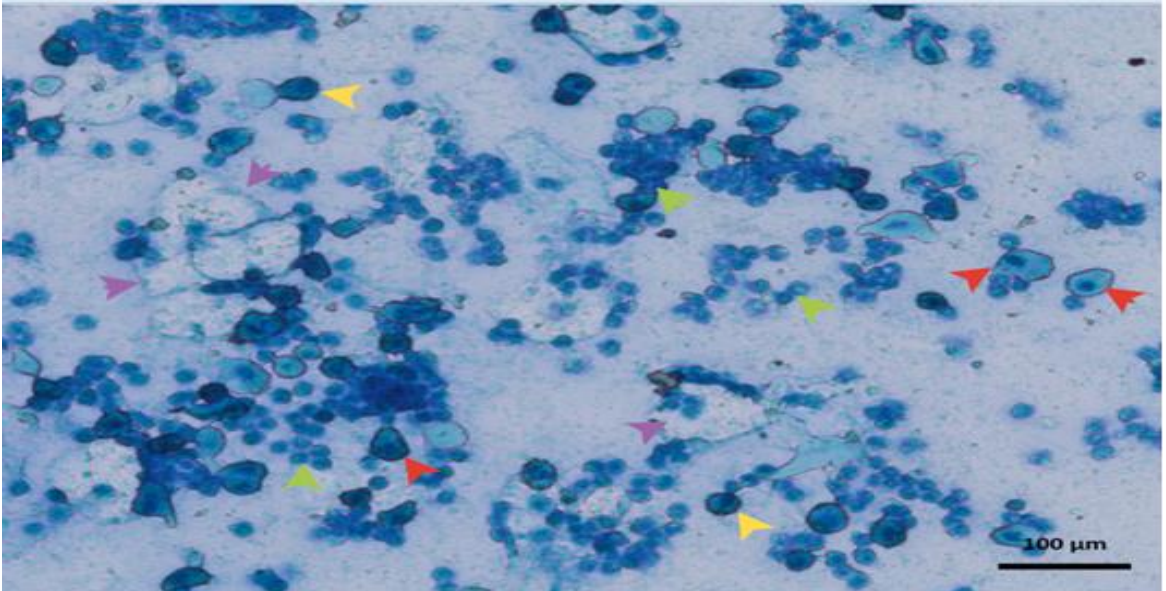
Şekil 30. Birinci grup östrus evresi (20X). Az sayıda çekirdekli epitel hücreler, ayrı ayrı bulunan çok sayıda çekirdeksiz büyük keratinleşmiş kornifiye süperfisiyal hücreler belirlendi, evresinin sonuna doğru bu hücrelerin dejenere olduğu, üst üste gelerek birbirine yapışmış bir yığın meydana getirdiği, lökositlerin görülmediği tespit edildi.

Metöstrus Evresi:



Şekil 31. Birinci grup metöstrus evresi (20X). Lökosit çok sayıda olup çekirdeksiz kornifiye süperfisiyal büyük hücrelerden oluşan hücre yığınları çok sayıda ve az sayıda çekirdekli küçük epitel hücreleri tespit edildi.

Diöstrus Evresi:



Şekil 32. Birinci grup diöstrus evresi (20X). Yaygın olarak lökositler ve aralarında daha az sayıda çekirdekli küçük intermediyal hücreler ve parabazal hücre ile birkaç tane de çekirdeksiz kornifiye hücre belirlendi.

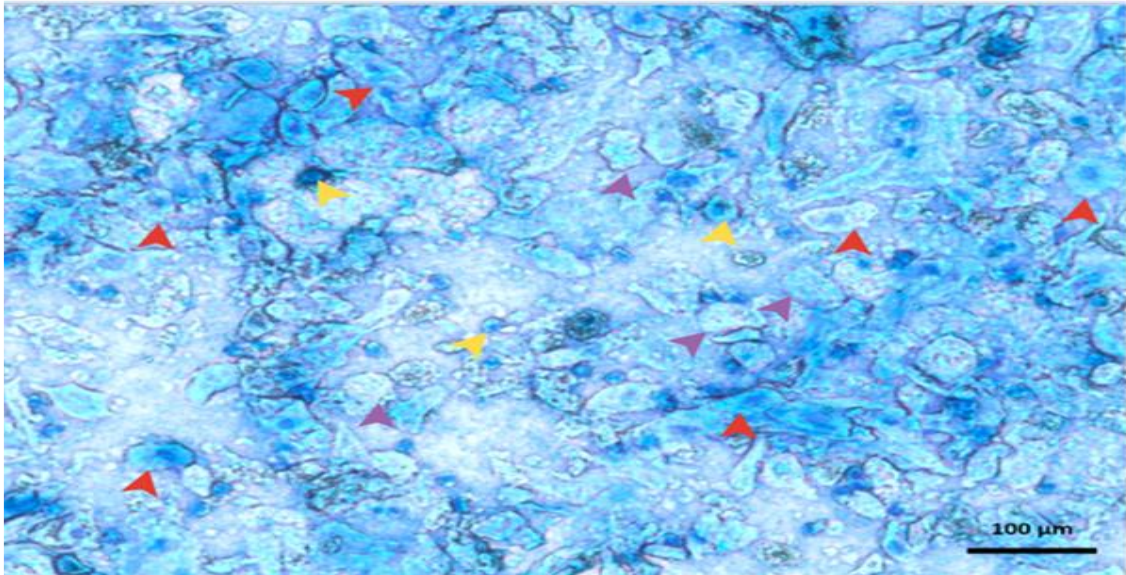
Tablo 9.

Birinci grubun vajinal smear sonuçları

Proöstrus:	Östrus	Metöstrus	Diöstrus
Çok sayıda intermediyal çekirdekli hücre, daha az sayıda parabazal hücre ve nadiren kornifiye çekirdeksiz hücrelere rastlanırken lökosit gözlenmedi.	Az sayıda çekirdekli epitel hücreler, ayrı ayrı bulunan çok sayıda çekirdeksiz büyük keratinleşmiş kornifiye süperfisiyal hücreler belirlendi, evresinin sonuna doğru bu hücrelerin dejenere olduğu, üst üste gelerek birbirine yapışmış bir yığın meydana getirdiği, lökositlerin görülmediği tespit edildi.	Lökosit çok sayıda olup çekirdeksiz kornifiye süperfisiyal büyük hücrelerden oluşan hücre yığınları çok sayıda ve az sayıda çekirdekli küçük epitel hücreleri tespit edildi.	Yaygın olarak lökositler ve aralarında daha az sayıda çekirdekli küçük intermediyal hücreler ve parabazal hücre ile birkaç tane de çekirdeksiz kornifiye hücre belirlendi.

**İkinci Grup:** Bu grup için seçilen deney hayvanlarının zeytin yaprağı-alkol ekstresi enjeksiyonu ve vajinal smear uygulaması öğlen 12:00-13:00 saatleri arasında ve hep aynı saatlerde yapılmasına özen gösterildi. Buna göre ikinci grup deney hayvanlarının östrus sikluslarının vajinal smear değerlendirmesi aşağıdaki gibi tespit edildi.

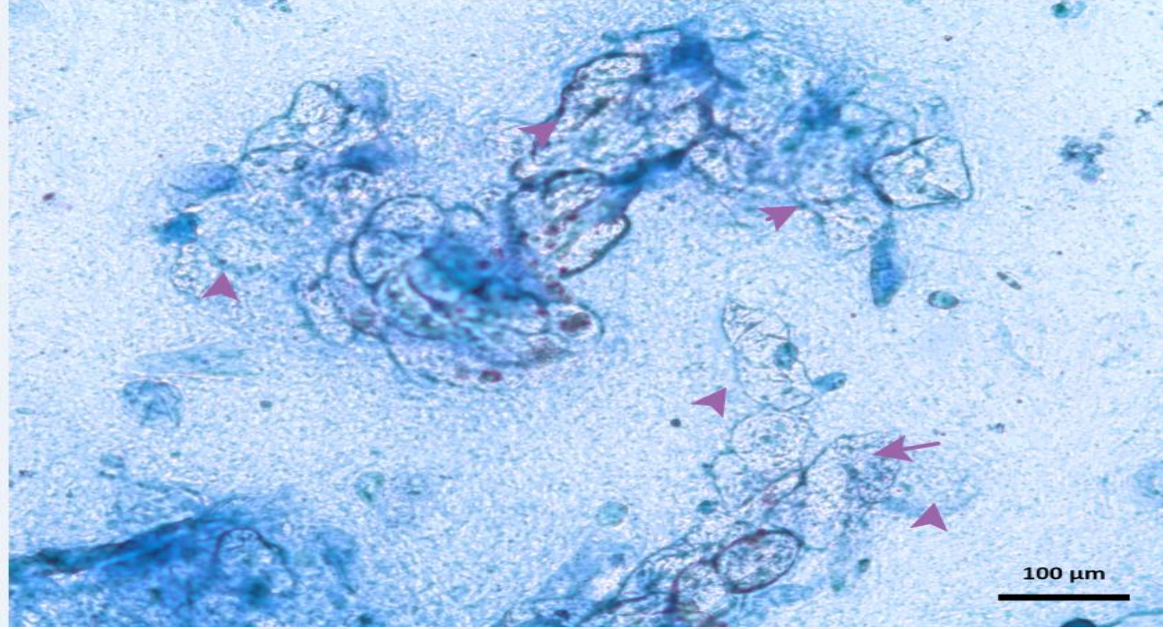
Proöstrus Evresi:



Şekil 33. İkinci grup proöstrus evresi (20X). Kornifiye keratine çekirdeksiz büyük hücrelerin intermediyal çekirdekli hücreler kadar çok sayıda olduğu, parabazal küçük hücrelerin nadir olduğu ve lökositlerin gözlenmediği tespit edildi.

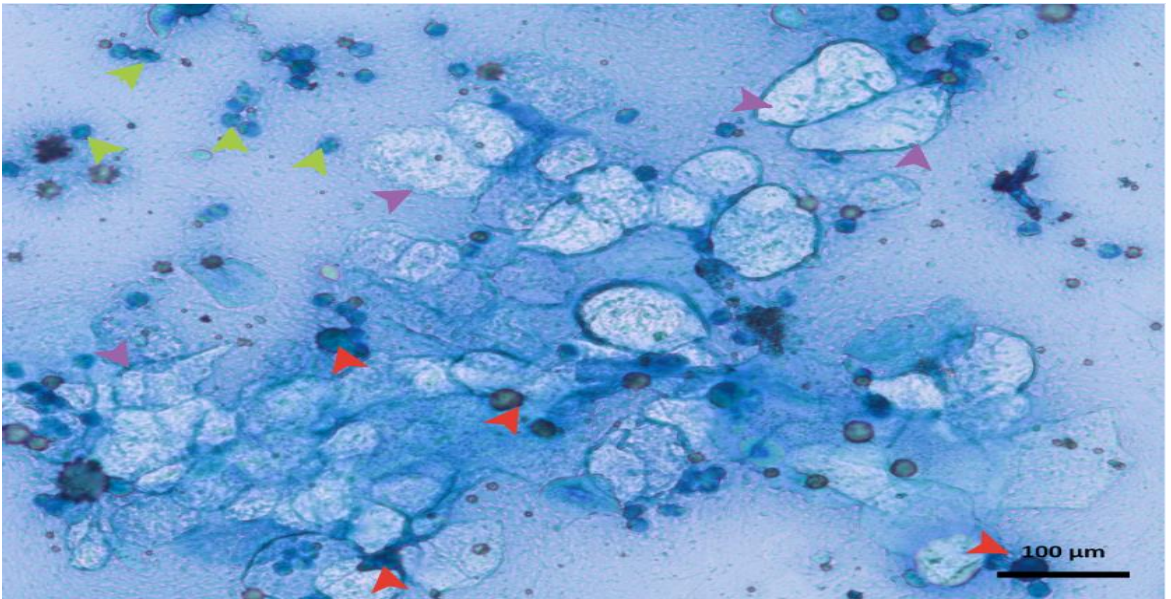


Östrus:



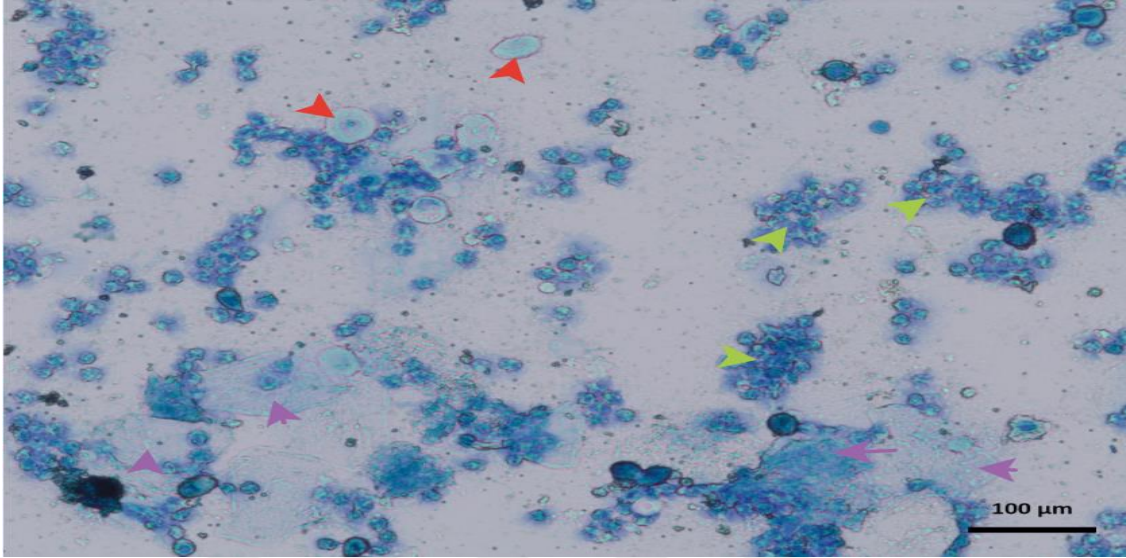
Şekil 34. İkinci grup östrus evresi (20X). Yığınlar oluşturmuş çekirdeksiz keratinize olmuş kornifiye süperfisiyal hücreler gözlemlendi.

Metöstrus:



Şekil 35. İkinci grubun metöstrus evresi (20X). Az sayıda çekirdekli küçük epitel hücreleri, çok sayıda lökosit gözlenirken çekirdeksiz kornifiye hücre sayısında artış belirlendi.

### Diöstrus:



Şekil 36. İkinci grubun diöstrus evresi (20X). Çok sayıda çekirdeksiz, düzensiz kenarlı kornifiye süperfisiyel hücreler, çekirdekli küçük intermediyal hücreler ve lökositler belirlendi.

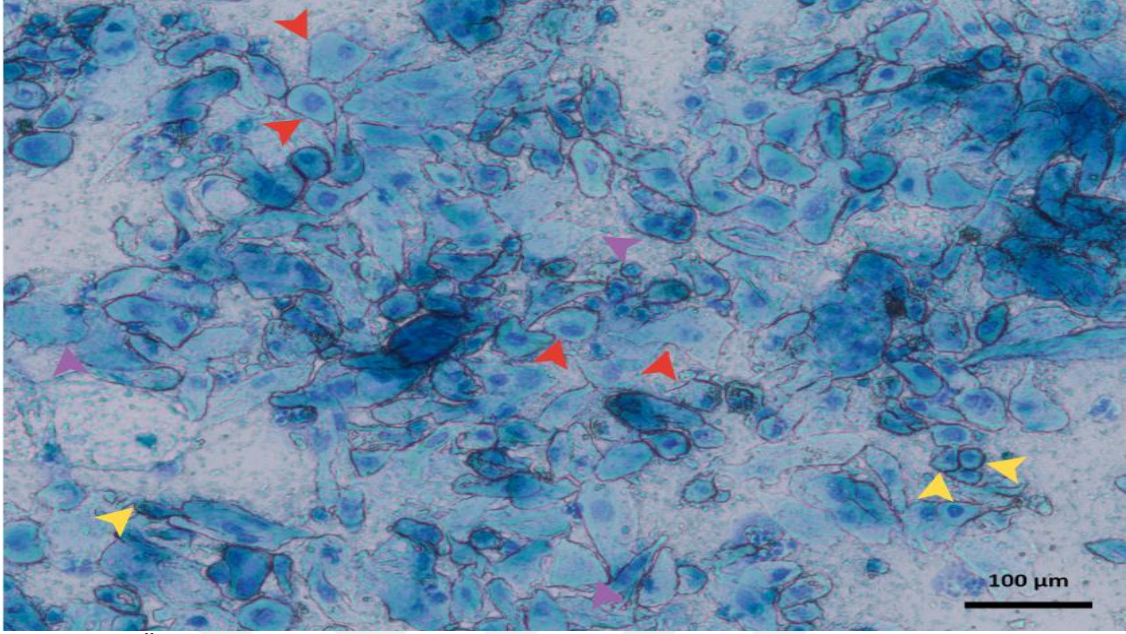
### Tablo10.

#### İkinci grubun vajinal smear sonuçları

Proöstrus:	Östrus	Metöstrus	Diöstrus	
Kornifiye keratine büyük çekirdeksiz hücrelerin intermediyal çekirdekli hücreler kadar çok sayıda olduğu, parabazal küçük hücrelerin nadir olduğu ve lökositlerin gözlenmediği tespit edildi.	Yığınlar oluşturmuş çekirdeksiz olmuş süperfisiyel hücreler gözlendi.	oluşturmuş keratinize kornifiye hücreler	Az sayıda çekirdekli küçük epitel hücreleri, çok sayıda lökosit gözlenirken çekirdeksiz kornifiyehücre sayısında artış belirlendi.	Çok sayıda çekirdeksiz, düzensiz kenarlı kornifiye süperfisiyel hücreler, çekirdekli küçük intermediyal hücreler ve lökositler belirlendi.

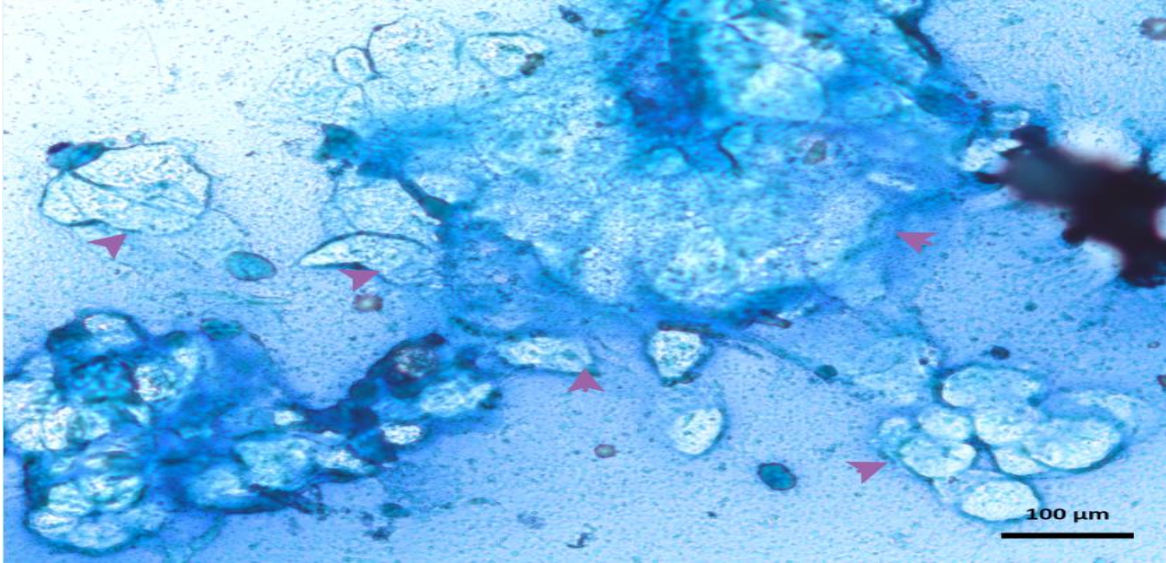
**Üçüncü Grup:** Bu grup için seçilen deney hayvanlarının zeytin yaprağı-alkol ekstresi enjeksiyonu ve vajinal smear uygulaması öğlen 12:00-13:00 saatleri arasında ve hep aynı saatlerde yapılmasına özen gösterildi. Buna göre üçüncü grup deney hayvanlarının östrus sikluslarının vajinal smear değerlendirmesi aşağıdaki gibi tespit edildi.

Proöstrus Evresi:



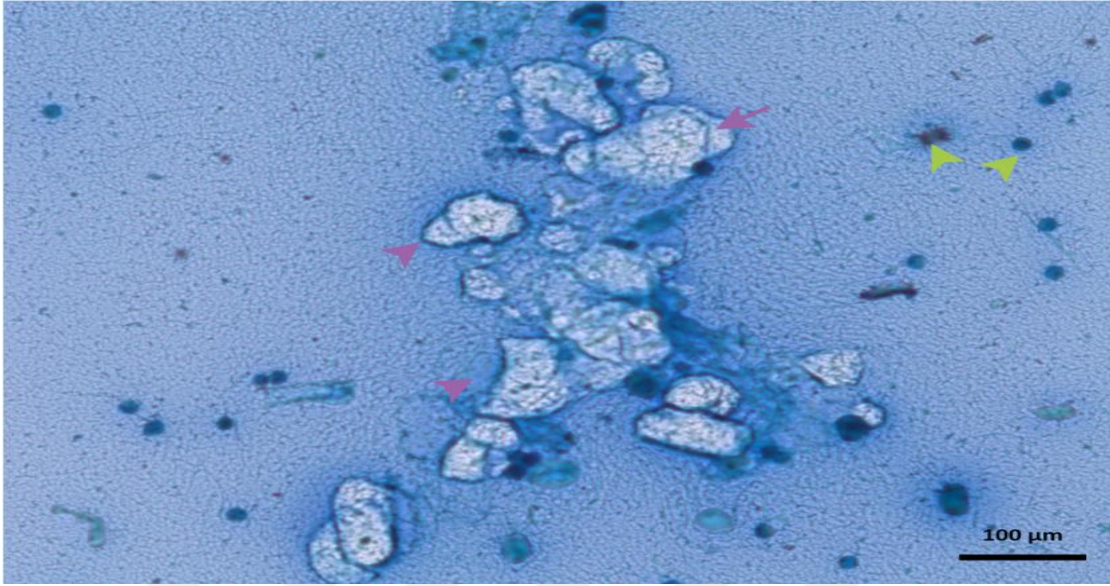
Şekil 37. Üçüncü grubun proöstrus evresi (20X). Çok sayıda intermediyal hücre ve az sayıda parabazal küçük epitel hücre mevcutken birkaç tane de çekirdeksiz kornifiye hücreler de gözlemlendi.

Östrus Evresi:



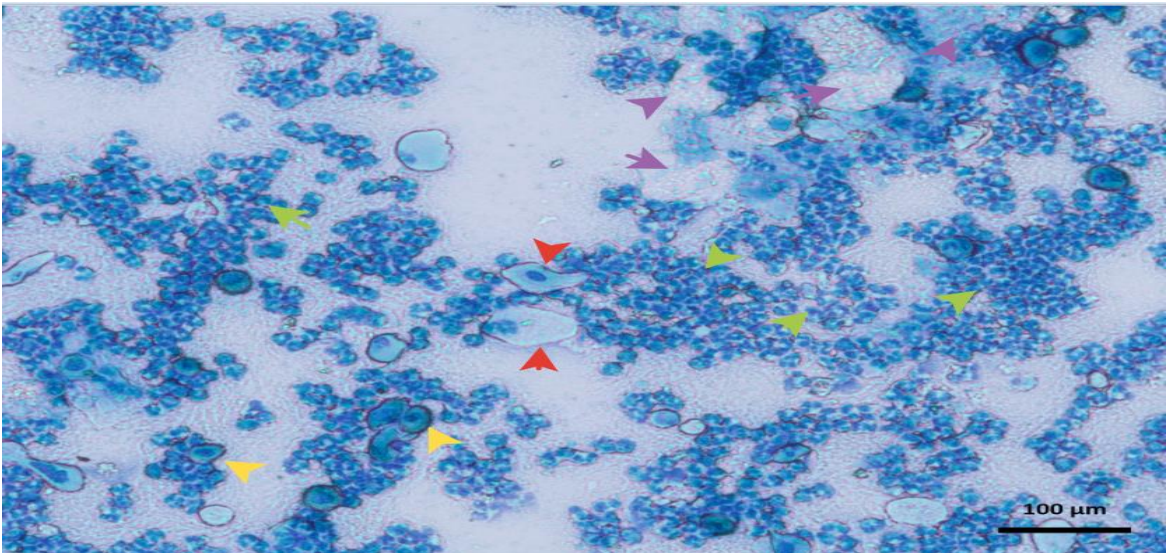
Şekil 38. Üçüncü grubun östrus evresi (20X). Keratinize kornifiye çekirdeksiz hücrelerin sayısında artış olduğu ve onların oluşturdukları hücre yığınlarının daha belirgin olduğu tespit edildi.

Metöstrus Evresi:



Şekil 39. Üçüncü grubun metöstrus evresi (20X). Çekirdeksiz kornifiye hücre sayısının aşırı arttığı ve çok sayıda lökositin varlığı belirlendi.

Diöstrus Evresi:



Şekil 40. Üçüncü grubun diöstrus evresi (20X). Çok sayıda lökosit, az sayıda küçük, çekirdekli intermediyal hücreler ve çok sayıda düzensiz kenarlı, çekirdeksiz kornifiye hücreler belirlendi.

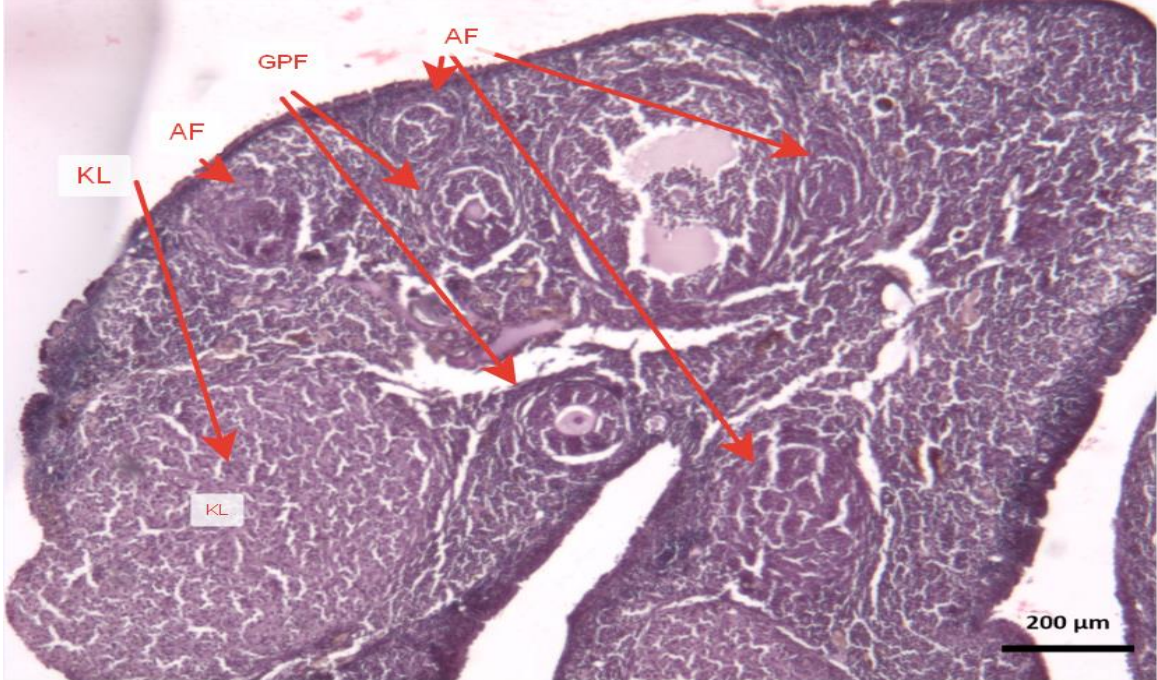
Tablo11.

Üçüncü grubun vajinal smear sonuçları

Proöstrus:	Östrus	Metöstrus	Diöstrus
Çok sayıda intermediyal hücre ve az sayıda parabazal küçük epitel hücre mevcutken birkaç tane de çekirdeksiz kornifiye hücreler de gözlemlendi.	Keratinize kornifiye hücrelerin sayısında artış olduğu ve onların oluşturdukları hücre yığınlarının daha belirgin olduğu tespit edildi.	Çekirdeksiz kornifiye hücre sayısının aşırı arttığı ve çok sayıda lökositin varlığı belirlendi.	Çok sayıda lökosit, az sayıda küçük, çekirdekli intermediyal hücreler ve çok sayıda düzensiz kenarlı, çekirdeksiz kornifiye hücreler belirlendi.

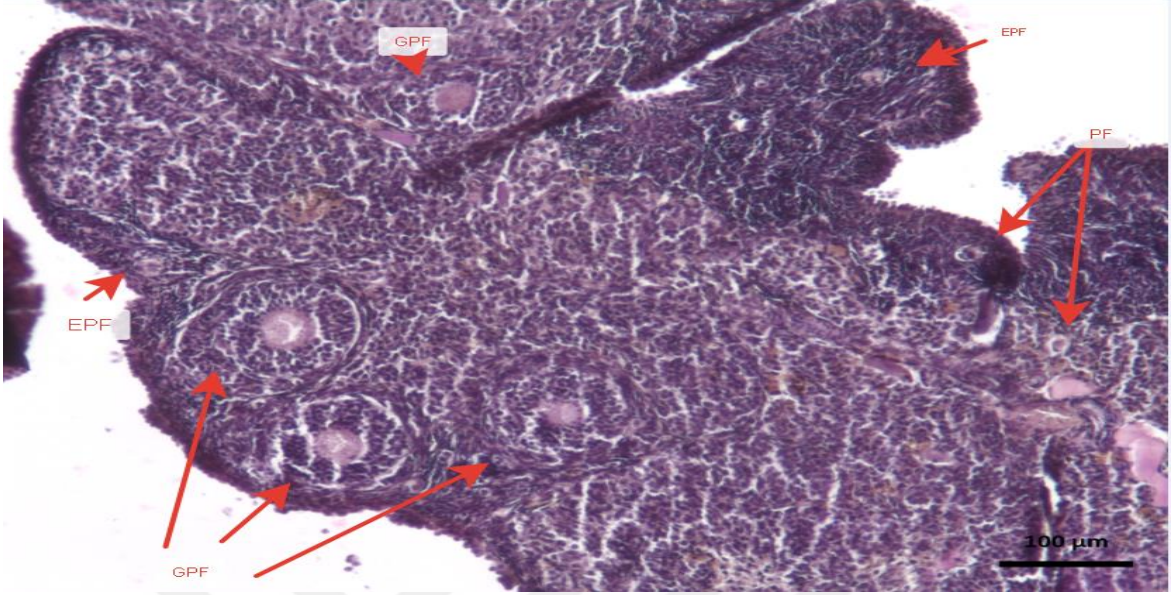
#### 4.1.2. Ovaryum Sonuçları

##### Kontrol Grubu:



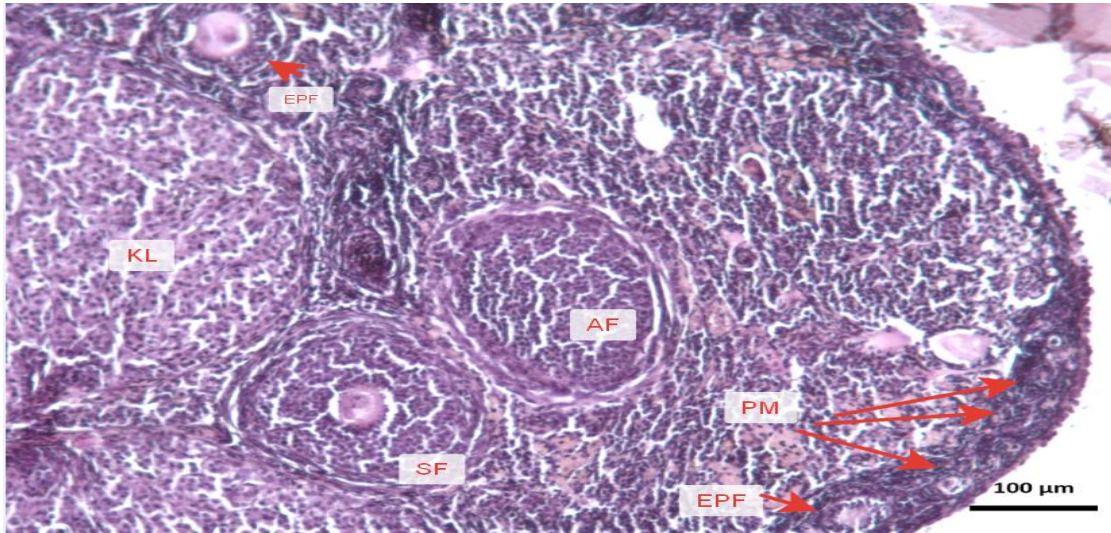
Şekil 41. Kontrol grubu ovaryum enine kesiti (4X). KL: Korpus luteum; AF: Atretik folikül; GPF: Geç primer folikül. Olgun ovaryumunun korteksinde farklı gelişim aşamalarındaki foliküller tespit edildi.

### Birinci Grup:



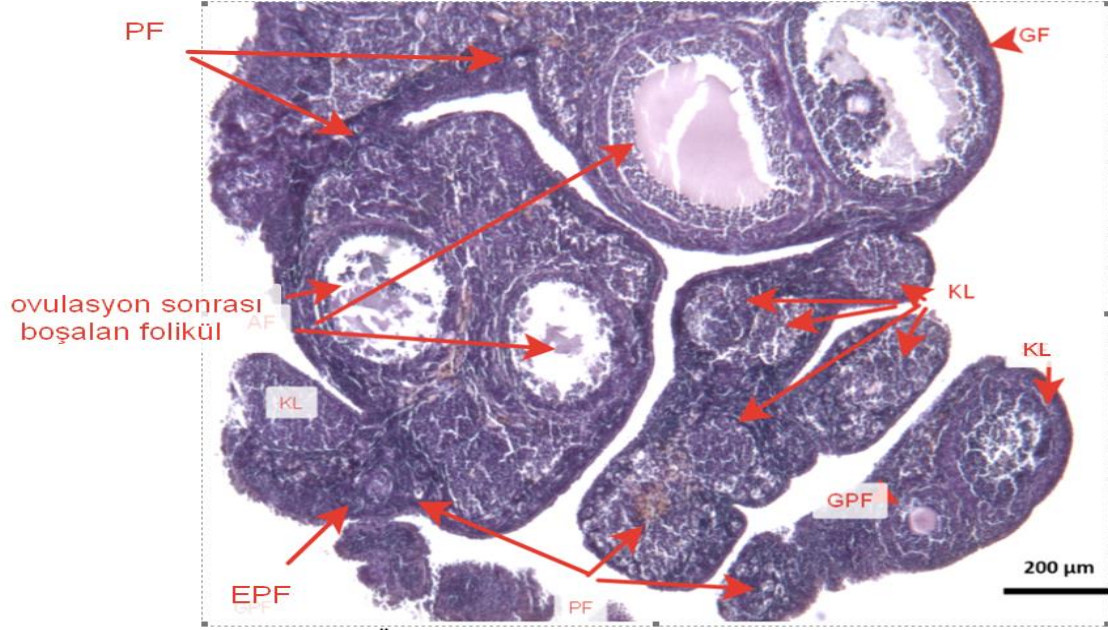
Şekil 42. Birinci grup ovaryum enine kesiti (10X). PF: Primordial folikül; EPF: Erken primer folikül. Olgun ovaryumunun korteksinde farklı gelişim aşamalarındaki foliküller tespit edil.

### İkinci Grup:



Şekil 43. İkinci grup ovaryum enine kesiti (10X). Ovaryum kesitinde erken ve geç primer folikülü ile sekonder folikül oluşumunda artış tespit edildi.

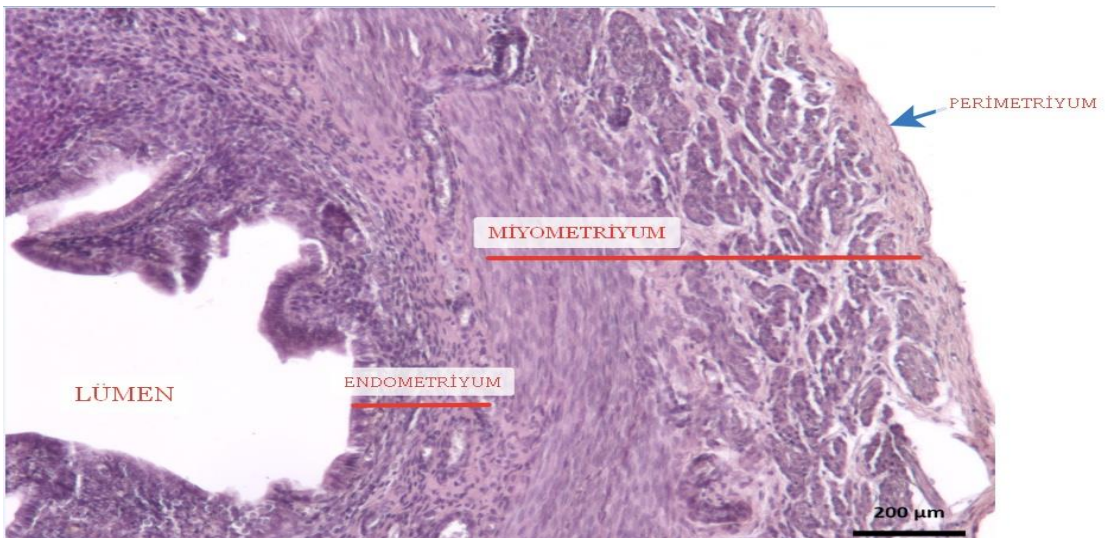
### Üçüncü Grup:



Şekil 44. Üçüncü grup ovaryum enine kesiti (4X). Ovaryum enine kesitinde sekonder folikül sayısında, ovulasyona uğrayan folikül sayısında, korpus luteuma dönüşen folikül sayısında artış tespit edildi.

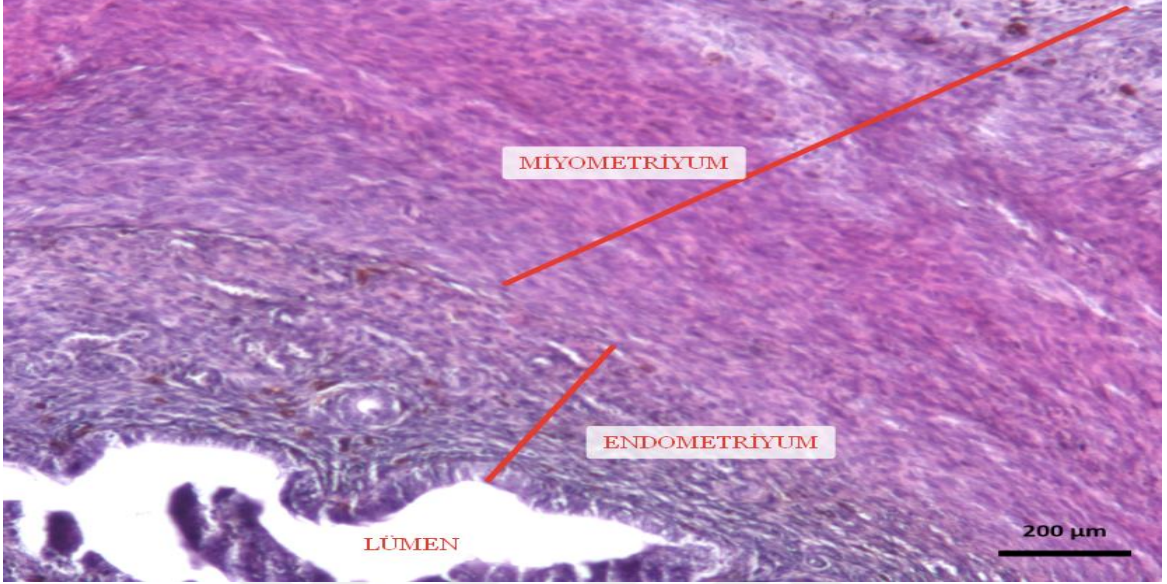
### 4.1.3. Uterus Sonuçları

#### Kontrol Grubu:



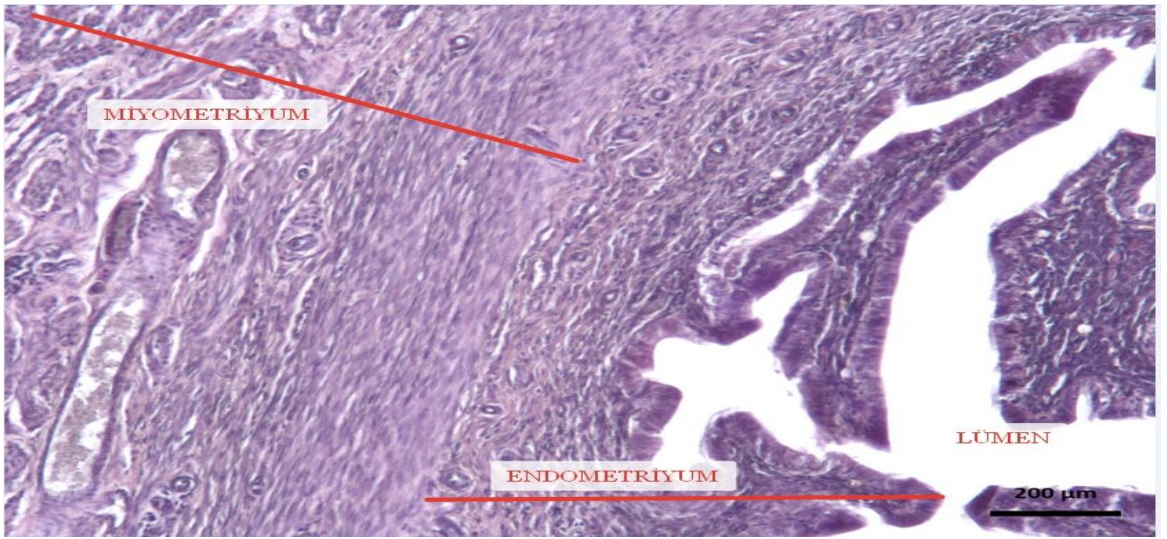
Şekil 45. Kontrol grubuna ait uterus dokusunun enine kesiti (10X). Endometrium, Myometrium ve Perimetrium tabakaları ayırt edildi.

### Birinci Grup:



Şekil 46. Birinci gruba ait uterus dokusunun enine kesiti (10X). Endometrium, Myometrium ve Perimetrium tabakaları ayırt edildi.

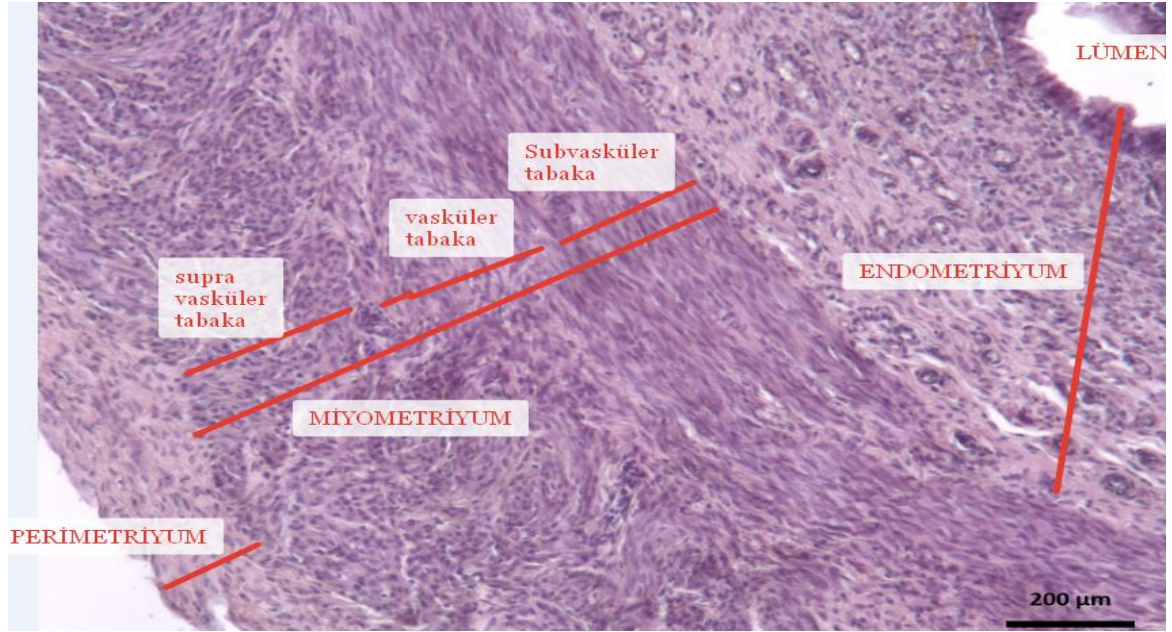
### İkinci Grup:



Şekil 47. İkinci gruba ait uterusun enine kesiti (10X). Endometrium tabakasında kalınlaşma tespit edildi.



### Üçüncü Grup:



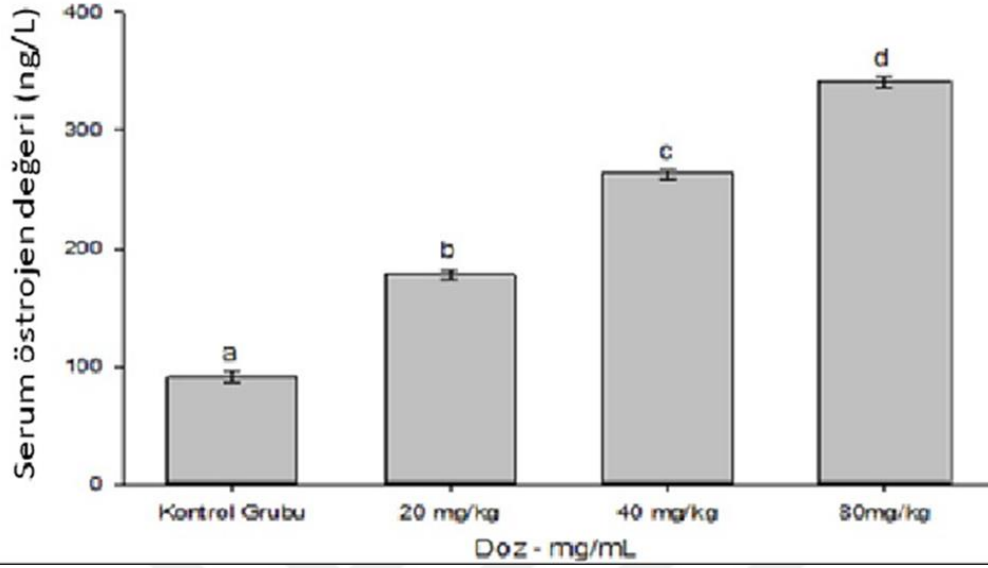
Şekil 48. Üçüncü gruba ait uterusun enine kesiti (10X). Endometrium tabakasında kalınlaşma tespit edildi.

Tablo 12.

#### Ovaryum ve uterus enine kesitlerinin incelenme sonuçları

GRUPLAR	Ovaryum Enine Kesit İncelemesi	Uterus Enine Kesit İncelemesi
Kontrol Grubu	Olgun ovaryumunun korteksinde farklı gelişim aşamalarındaki foliküller bulunur.	Endometrium, Myometrium ve Perimetrium tabakaları ayırt edilmektedir.
Birinci Grup	Olgun ovaryumunun korteksinde farklı gelişim aşamalarındaki foliküller bulunur.	Endometrium, Myometrium ve Perimetrium tabakaları ayırt edilmektedir.
İkinci Grup	Ovaryum kesitinde erken ve geç primer folikülü ile sekonder folikül oluşumunda artış tespit edilmektedir.	Endometrium tabakasında kalınlaşma tespit edilmektedir.
Üçüncü Grup	Ovaryum enine kesitinde sekonder folikül sayısında, ovulasyona uğrayan folikül sayısında, korpus luteuma dönüşen folikül sayısında artış tespit edilmektedir.	Endometrium tabakasında kalınlaşma tespit edilmektedir.

#### 4.1.4. Hormon Analizi Sonuçları:



Şekil 49. Östrojen hormon analizi

Uygulanan tüm dozlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak östrojen seviyesini arttırmıştır ( $p < 0,01$ ). En fazla artış 80 mg/kg zeytin yaprağı ekstresinde görülmüştür.

#### 4.2. Tartışma

Bu çalışmanın en önemli bulguları uygulanan en yüksek dozdaki zeytin yaprağı ekstraktının diğer dozlara göre;

- (1) Vajinal smear örneklerinde büyük çekirdeksiz kornifiye hücre sayısını artırması,
- (2) Serum estradiol seviyesini yükseltmesi,
- (3) Ovaryumda ovulasyona giren folikül sayısını ve sekonder folikül sayısını artırması,
- (4) Uterusun endometrium tabakasında daha fazla kalınlaşmaya neden olmasıdır.

Çalışmadaki vajinal smear sonuçları 80 mg/kg'lık ekstraktların östrus ve metöstrus evresinde kornifiye hücrelerin sayısında artışa neden olduğunu göstermiştir. Çünkü östrojen, östrus evresini gösteren vajinal kornifikasyona sebep olabilir ve tam bir kornifikasyonun oluşması, dolaşımdaki östrojen seviyesinin daha yüksek olmasını gerektirir (Safranski vd., 1993).

Ayrıca, yapılan başka bir çalışmada, fare vajinasında üç tabakalı vajinal epitelin ER1'nin, östrus döngüsü sırasında döngüsel östrojene bağımlı hücre proliferasyonu ve skuamöz hücre farklılaşması arasındaki geçişe aracılık etmek için östrojen ve büyüme faktörü sinyalini entegre ettiği tespit edilmiştir. Östrojen uygulaması sonucu bazal katmanda hızla epitelyal hücre proliferasyonunu indüklediği ve mitojenik olmayan suprabazal hücrelerin, epitelden yukarı doğru hareket ederken farklılaştığı, apikal hücrelerin keratinizasyonuna neden olduğu belirlenmiştir (Miyagawa ve Iguchi, 2015).

Li S. ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı bir çalışmada, vajinal epitel hücrelerinin büyüme ve farklılaşmasının östrojen (E2) ve progesteron (P4) seks steroid hormonları tarafından düzenlendiği, epitel hücrelerindeki östrojen reseptörü  $\alpha'$  nın (ER1), vajinal epitel hücrelerinin farklılaşmasını düzenlemek için alt dişi üreme yolunun (LFRT) epitel hücrelerinde gerekli olduğu tespit edilmiştir (Li vd., 2018).

Çalışmada 20mg/kg, 40mg/kg ve 80mg/kg'lik ekstraktlar östrojen miktarlarında kademeli bir artış sağlamış olup bu artış en fazla 80mg/kg zeytin yaprağı ekstraktı uygulanan hayvanlarda görülmüştür. Estradiol hipotalamus-hipofiz ekseninde önemli bir düzenleyici olup gonadotropinlerin ovulasyon öncesi dalgalanmasında başlıca faktör olduğu düşünülmektedir. Hipotalamus-hipofiz ekseninin fonksiyonel çalışabilmesi memeli üremesi için gereklidir. Hipotalamustan salınan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) hipofizdeki reseptörleri aktive edip steroid hormonların sentezinden sorumlu olan luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormonun (FSH) salınmasını sağlar (Chimento vd., 2014). Dolayısıyla zeytin yaprağı ekstraktının östrojen seviyelerinde artışa sebep olması hipotalamus-hipofiz ekseninin endokrin fonksiyonu ile ilişkili olabileceğini gösterebilir. Ayrıca çalışmanın sonuçları diğer çalışmalarla da uyumluluk göstermektedir. Örneğin, sıçanlara 10 hafta boyunca 200-400 mg/kg zeytin yaprağı ekstresi verilen bir çalışmada, yüksek dozda zeytin yaprağı ekstresi alımının sonucu olarak serum estradiol seviyesinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (Yoon vd., 2015). Diyabetik erkek sıçanlarda hidro-

alkolik zeytin yaprağı ekstraktının gonadotropin (LH, FSH) ve cinsiyet hormonlarının (östrojen, progesteron) düzeylerine etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, hidro-alkolik zeytin yaprağı ekstrelerinin gonadotropinler ve cinsiyet hormonları seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir (Mokhtari vd., 2014). Farklı mevsimlerde (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) toplanılan zeytin yapraklarından elde edilen zeytin yaprağı ekstraktlarının, kış mevsimine ait zeytin yaprağı ekstraktının sirkadiyen ritim üzerinde yaptığı değişimlerin en yüksek görüldüğü, yaz mevsimine ait zeytin yaprağı ekstraktının da testosteron hormonu değerlerini yükselttiği tespit edilmiştir (Kortun, 2018).

Ayrıca fitoöstrojenlerin estradiol seviyelerinde önemli bir azalma sağlamadığı yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Weber vd., 2001; Glazier ve Boman, 2001). Fakat Dehghani ve Panahi'nin (2005) *Actinidia chinensis*'in erkek sıçanların spermatogenezi üzerindeki etkisine ilişkin bir çalışmada, estradiolde bir artış olduğu gösterilmiştir.

Bununla birlikte diğer bazı sonuçlar ise elde ettiğimiz bulgular ile tutarlı değildir. Fitoöstrojenlerin testosteron üzerindeki etkileri üzerine yapılan bir çalışmada testosteron seviyesinin düştüğü, farelerde LH seviyesinin genisteine (Ana kaynağı soya fasulyesi olan Genistein bir izoflavon olup, östrojene çok benzeyen özellikler taşıyarak tümörlerin büyümesine neden olan “tyrosin kinase” adlı bir proteini bloke eder. Bu sayede tümörün büyümesini engeller) maruz kalmanın bir sonucu olarak düştüğünü tespit edildi (Roberts vd., 2000; Mc Garvey vd., 2001). Burda dikkat edilmesi gereken *A. chinensis*'in genisteinin dahil olduğu flavonidlere ait olduğu ve zeytinin lignan grubundan olduğu, incelenen farklı fitoöstrojen türleri ve kullanılan konsantrasyonlardaki farklılıklar nedeniyle farklı deneylerin sonuçlarının birbirleri ile çelişebileceği göz önüne alınmalıdır.

Elde edilen sonuçlarla ilgili olarak, zeytin yaprağında bulunan ve en etkili olduğu düşünülen oleuropein hem agonistik hem de antagonistik özelliklere sahip olan östrojen reseptörleri aracılığıyla işlev görmesi nedeniyle, bu maddenin dişi üreme sistemi üzerindeki farklı etkilerinin östrojenik ve anti-östrojenik etkilerden kaynaklanma olasılığı vardır. Oleuropeinin toplanan zeytin yaprağının tipine ve lokasyonuna bağlı olarak etkileri farklılık gösterebilir. Örneğin, izoflavonlar östrojen reseptörlerine estradiolden daha az bağlanan çok zayıf agonistlerdir (Bowers vd., 2000).

Diğer bir bulgu, artan östrojen miktarı sonucu olarak da ovaryumda ovulasyona giren folikül sayısında ve sekonder folikül sayısında diğer deney gruplarından daha fazla

bir artış olmasıdır. Östrojen steroid bir hormon olup hipotalamus-hipofiz-gonadal ekseninin son ürünüdür. FSH uyarısının bir sonucu olarak granüloza hücreleri tarafından üretilir ve salgılanır. Gonadotropinler, foliküler gelişimi tetikleyerek yumurtanın atılmasına ve luteinizasyona yol açar. Gonadotropin reseptörleri, bir folikül uyarıcı hormon reseptöründen (FSHR) ve bir luteinize edici hormon reseptöründen (LHR) oluşur. FSHR ekspresyonu, teka hücrelerini androjen salgılaması için uyaran ve granüloza hücrelerinde FSHR'nin indüklenmesinde önemli bir rol oynayabilen oosit türevli GDF9 (Growth Differentiation Factor/Büyüme Farklılık Faktörü 9) tarafından tetiklenir. FSHR ekspresyon seviyesi, küçük antral foliküler aşamada zirve yapar ve foliküler olgunlaşma ilerledikçe azalır (Kishi vd., 2018).

Çalışmada, uygulanan en yüksek dozun uterusun endometrial tabakasında kalınlaşmaya neden olduğu görülmüştür. Bu durum, uterusun endometrium tabakasının, olgun ovaryumlarda gelişen foliküllerden üretilen dişi seks steroid hormonu östrojenin hedef organı olduğu, yüksek dozlarda östrojen (E2) uygulamasının hücre bölünmesini uarması ile açıklanabilir (Hapangama, 2015). Östrojen etkisi ile başlayan proliferasyon sonucu stroma hücreleri ve endotel hücrelerinin hızlıca proliferere oldukları ve bunun sonucu olarak da östrojen hormonunun uterusu endometrial tabakanın kalınlaşmasını uyardığı tespit edilmiştir (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011; Hapangama, 2015). Ayrıca, endometrial proliferasyon, yumurtalık estradiol üretimi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir ve bu nedenle yumurtalık fonksiyonuna bağlıdır. Estradiol üretimi, endometriyal kalınlık ve gebelik sonucu genellikle aynı yönde değişir. Bu nedenle, kalın endometrium gelişimi artan östrojen ile ilgili olabilir. Bu çalışmada da uygulanan en yüksek dozun östrojen seviyelerini artırması ve endometriyal kalınlaşmanın görülmesi birbiriyle tutarlı sonuç ortaya koymuştur (Barker vd., 2009).

Sonuç olarak fitoöstrojenler hem insan vücudunda hem de hayvan modellerinde çeşitli fizyolojik etkiler üretir. Erkek ve dişi üreme sistemi üzerindeki etkileri, fitoöstrojen tipine, konsantrasyona ve incelenen modele bağlıdır.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Zeytin yaprağının sağlık üzerine yararları uzun yıllardır insanlar tarafından bilinmekte olup son zamanlarda bilimsel çalışmalarla da desteklenmektedir. Geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan zeytin yaprağının tedavi edici özelliği, onun modern tıpta da değerlendirilmesine sebep olmuştur. Zeytin yaprağındaki oleuropeinin sahip olduğu biyolojik aktiviteler sayesinde günümüzde yeni ilaçların geliştirilmesine sebep olmakta ve eczacılık teknolojisine katkıda bulunmaktadır.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada zeytin yaprağı ekstraktının genital siklusta görevli gonadotropinlerin (LH, FSH) ve seks hormonu olan östrojenin seviyelerini yükselttiği gözlenmektedir. Zeytin yaprağının farklı dozlardaki alkol ekstraktının ön hipofiz bezinden salınan ve ovaryumların gelişimleri ile fizyolojileri üzerine etkili hormonlar olan LH ve FSH üzerine etkilerinin araştırıldığı daha çok sayıda araştırmanın yapılması teşvik edilmelidir. Zeytin yaprağı ekstresi, dişi yetişkin hamsterlerde doza bağlı olarak doğurganlık parametrelerini önemli ölçüde arttırmıştır. Bununla birlikte, zeytin yaprağı ekstraktının insan üzerinde henüz bilinmeyen doğurganlık etkilerini oluşturma mekanizması hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu araştırmaların ışığında insanlarda doğurganlığın artırılması ve menapoza girmenin geciktirilebileceği yeni tedavi ilaçların yapılması hususunda modern tıbbı ve ilaç sektörüne yön verilebilir.

Günümüzün önemli üreme problemlerinden birisi de döllenmiş yumurtanın endometrial tabakaya tutunma sorunudur. Henüz nedeni tam olarak bilinmeyen bu konuda özellikle endometrial doku tabakasının yumurtayı reddetmesi öne çıkmaktadır. Bu tabakanın kan damarlarınca iyice beslenememesi ve gerekli kalınlığa ulaşamaması döllenmiş yumurtaya ev sahipliği yapmayı zorlaştırmaktadır. Tüp bebek tedavilerinin en zor aşaması bu evredir. Bu tür tedavilerde dışarıda döllen ve bölünmeye başlayan yumurtanın (zigot) doğrudan endometrial dokuya gömülmesi (yerleştirilmesi) ve dokunun bu yapıyı kabullenmesi tedavinin başarısını belirlemektedir. Çalışmamızdaki dozların endometrial tabakayı genişlettiği dikkate alınır, bu tür tedavilerde zeytin yaprağı kullanımını önerilebilir.

Son olarak, genellikle testosteron hormon seviyesine yönelik çalışmaların daha çok yapıldığı için östrojen ile ilgili çalışmaların artırılması gerektiği ve mevsimsel faktörün dişi hamsterlerin seks hormonu üzerindeki etkisine dair çalışmalar da yapılabilir. Buna ilaveten, bu hayvan modelindeki bulgularımız göz önüne alındığında, zeytin yaprağı ekstraktının gelecekte dişilerde infertilite sorunlarının giderilmesinde kullanılması önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abraham, L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Palme yay: Ankara.
- Accialini, P., Hernandez, S., Abramovich, D., Tesone, M., (2016). “*The Life Cycle of the Corpus Luteum*”. Meidan R. (ed) in: *The Rodent Corpus Luteum*. (pp.117-131). Springer, Cham: Switzerland.
- Agarwal, A.K., Durani, S., Setty, B.S. (1982). “*Dose dependent modulation of receptor dynamics and uterine growth in immature rat by estradiol: importance of an additional nuclear binding at 24 h for long-term (72 h) uterine growth.*” *Endokrinologie*.
- Ağgöl, A.G. (2012). *Diyabetli Ratlarda Zeytin Yaprağı Ekstresinin Etkilerinin İncelenmesi*. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık -Biyokimya Anabilim Dalı. Erzurum.
- Karim, B. O., Landolfi, J. A., Christian, A., Ricart-Arbona, R., Qiu, W., McAlonis, M., ... & Huso, D. L. (2003). *Estrous cycle and ovarian changes in a rat mammary carcinogenesis model after irradiation, tamoxifen chemoprevention, and aging*. *Comparative medicine*, 53(5), 532-538.
- Barker, M.A., Boehnlein, L.M., Kovacs, P. et al. (2009). “*Follicular and luteal phase endometrial thickness and echogenic pattern and pregnancy outcome in oocyte donation cycles*”. *J Assist Reprod Genet*. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9312-z>
- Beasley, L. J., Jonston, P.G., Zucker I. (1981). “*Photoperiodic Regulation of Reproduction in Postpartum Peromyscus leucopus*”. *Biol. Reprod.* (24), 962-966.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., ve Del Rio, J.A. (2000). “*Antioxidant Activity of Phenolics Extracted from Olea europaea L. Leaves*”. *Food Chemistry*. (68), 457-462.
- Bergeron, C. (2002). “*Effets sur l'endomètre des oestrogènes et des antioestrogènes [Effect of estrogens and antiestrogens on the endometrium]*”. *Gynecol Obstet Fertil: French*.doi: 10.1016/s1297-9589(02)00486-1. PMID: 12661281.
- Bouaziz, M. ve Sayadi, S. (2005). “*Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of Tunisian cultivar olive tree*”. *European Journal of Lipid Science and Technology*. (107), 497-504.
- Bowers, J.L., Tyulmenkov, V.V., Jernigan, S.C., Klinge, C.M. (2000). “*Tesveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta*”. *Endocrinology*



- Champlin, A.K., Dorr, D.L. (1973). “*Determining the stage of the estrous cycle in the Mouse by the appearance of the vagina*”. Biol Reprod. (8). 491-4.
- Chimento, A., Sirianni, R., Casaburi, I., & Pezzi, V. (2014). “*Role of estrogen receptors and G protein-coupled estrogen receptor in regulation of hypothalamus–pituitary–testis axis and spermatogenesis*”. Frontiers in endocrinology.
- Colgar, U. (2006). *In PCOS ve İnfertilite*. Medikal Yayıncılık: İstanbul.
- Cora, M.C., Kooistra, L., Travlos, G. (2015). “*Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears*”. Toxicol Pathol. 43 (6). 776-793.
- Crespo, D., Goetz, F.W., Planas, J.V. 8. (2015). “*Luteinizing hormone induces ovulation via tumor necrosis factor  $\alpha$ -dependent increases in prostaglandin F 2 $\alpha$  in a nonmammalian vertebrate*”. Scientific Reports. (5). 14210.
- Cunningham, F.G., Leveno, K.J., Bloom, S.L., Hauth, J.C., Rouse, D.J ve Spong, C.Y. (2010), Eds., Williams Obstetrics, 23rd Edition, McGraw-Hill, New York, 143.
- Dehghani, F., Panahi, Z. (2005). “*The effects of hydroalcoholic extract of Actinidia chinensis on sperm count and motility, and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats*”. Arch Iran Med.
- Delilbaş, L. (2008). *In Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri*. Güneş Tıp Kitabevi: İstanbul.
- Edson, M.A., Nagaraja, A.K., Matzuk, M.M. (2009). “*The mammalian ovary from genesis to revelation*”. Endocrine reviews. 30 (6). 624-712.
- El, S.N., Karakaya, S. (2009). “*Olive tree (Olea europaea) leaves: potential beneficial effects on human health*”. Nutr Rev. 67 (11). 63 2-8. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00248. x.
- Eşrefoğlu, M. (2009). *Özel Histoloji*. Medipres Matbaacılık: Malatya.
- Eşrefoğlu, M. (2016). *Özel Histoloji*. İstanbul Tıp Kitabevi: İstanbul.
- Fair, T. (2003). “*Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence*”. Animal Reproduction Science. 78 (3-4). 203-216.
- Ficarra, P., Ficarra, R., de Pasquale, A., Monforte, M. T., Calabro, M. L. (1991). “*HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of Olea europaea L*”. Farmaco. 46 (6). 03-15.
- Fortune, J. E. (1994). “*Ovarian follicular growth and development in mammals*”. Biology of reproduction. 50 (2). 225-232.

- Freeman, M. E. (1988). “*The ovarian cycle of the rat*”. by E Knobil, J Neill, LL Ewing, GS Greenwald, CL Markert and D W Pfaff, 1893-1928.
- Gandolfi, F., Brevini, T.A.L., Cillo, F., Antonini, S. (2005). “*Cellular And Molecular Mechanisms Regulating Oocyte Quality And The Relevance For Farm Animal Reproductive Efficiency*”. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 24 (1). 413-423.
- Ganjalikhan, Hakemi S., Sharififar, F., Haghpanah, T., Babae A., Eftekhari-Vaghefi, S. H. (2019). “*The effects of olive leaf extract on the testis, sperm quality and testicular germ cell apoptosis in male rats exposed to busulfan*”. Int J Fertil Steril. DOI: 10.22074/ijfs.2019.5520.
- Gikas, E., Bazoti, F. N. ve Tsaropoulos, A. (2007). “*Conformation of oleuropein, the major bioactive compound of Olea europea, Journal of Molecular Structure*”. Theochem. 821 (1). 125-132.
- Girgin, A., Alabay, B., Limann, Özfiliz, N., Gülmez, N., Özcan, Z., Yörük, M., Erdost, H., Aslan, Ş., Ergün, L., Zık, B. (2010). *Veteriner Özel Histoloji*. Nobel Yayın Dağıtım: Ankara.
- Glazier, M. G., Bowman, M. A. (2001). “*A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy.*” Arch Intern Med. 161. 1161-72.
- Gordon I, Lu KH. *Production of embryos in vitro and its impact on livestock production*. Theriogenology 1990; 33: 77-87
- Groothuis, P.G., Dassen, H.H.N.M., Romano, A. (2007). “*Punyadeera, Estrogen and the endometrium: lessons learned from gene expression profiling in rodents and human*”. Human Reproduction Update, 13 (4). DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmm009>
- Greaves, E., Collins, F., Critchley, H.O., Saunders, P.T. (2013). “*Uterus endotel hücreleri üzerindeki ERbeta'ya bağlı etkiler hücreye özgüdür ve Sp1 aracılığıyla aracılık eder*”. Hum Reprod. Oxford, İngiltere.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. (2001). *Textbook of medical physiology (Tıbbi fizyoloji)*. (10. Baskı). Çavuşoğlu H. A. (çev.), Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul.
- Gülle, K. (2008). *Fare Ovaryumunda Poli (ADP-Ribozil) Asyon Yolu*. Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Isparta.
- Gürsoy, E., Ergin, K. (2007). *Dişi Üreme Sistemi Atlası*. Nobel Tıp Kitabevleri: Ankara.

- Han, J., Talorete, T.P., Yamada, P., Isoda, H. (2009), “*Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells.*” Cytotechnology. (59). 45–53.
- Hansen, M. (2002). *Olive Leaf Extract*. Goldgolf Pty Publisher: Australia
- Hayiroğlu, A, Karaca, T., Demirtaş, S. (2016). *Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Ovaryum ve Uterus Dokularında Mast Hücrelerinin Dağılımının Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi*. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne
- Himelstein-Braw, R., Byskov, A.G., Peters, H., Faber, M. (1976). “*Follicular atresia in the infant human ovary*”. Journal Reproduction Fertility. 46 (1). 55-59.
- Hoffman, K., Illnerova, H. (1986). “*Photoperiodic effects in the Djungarian hamster*”. *Neuroendocrinology*. (43). 317–321.
- Holm, A., Nilsson, B. O. (2013). “*Vasküler östrojen sinyalleşmesinde yeni mekanizmaların tanımlanması ve karakterizasyonu*”. Basic Clin Pharmacol Toksikol.
- Hutt, K.J., Mc Laughlin, E.A., Holland, M. K. (2006). “*Kit ligand and c-Kit have diverse roles during mammalian oogenesis and folliculogenesis*”. Molecular Human Reproduction. 12 (2). 61-69
- Inouye, H., Yoshida, T., Tobita, S., Tanaka, K., Nishioka, T. (1970). *Mutlak struktur des oleuropeins und einiger verwandter glukozit*. Tefruhedron Letters.11(28).2459-2464[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)98255-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)98255-3).
- Jungeara, L. J, Carnerio, J., Kelley, R. O. (1992). *The female reproductive system. Basic Histology (7.th edition)*. Appleton & Lange: London.
- Junqueira, L. C. Carneiro J. (2003). *Temel Histoloji. (10. baskı)*. Nobel Tıp Kitap Evleri: Ankara.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J. (2009). *Temel Histoloji*. Seyhun S., Yener A. (çev.). Nobel Tıp Kitapevleri: İstanbul.
- Kaipia, A., Hsueh, A. J. (1997). “*Regulation of Ovarian Follicle Atresia*”. Annual Review of Physiology. (59). 349-363.
- Kanis, J. S. (1994). *Osteoporosis*. Black-Well Science: Oxford.
- Kanter, M., Öztaş, E. ve Dalçık, C. (1996). “*Sıçan, fare ve kobaylarda gebeliğin ilk gününü tayin etmede vajinal simir yönteminin kullanılması*”. Van Tıp Dergisi. (2). 112-116.

- Karabulut, O., Delilbaşı L. (2007). “*Oogenezis, Oosit Toplama Prosedürü, Oosit Morfolojisi in vitro Matürasyon*”. İçinde Delilbaşı L. (ed). IVF Laboratuvar Yöntemleri.85-86.
- Karaöz, E. (2002). *Özel Histoloji*. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi: Isparta.
- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Patolojiye Giriş. Palme Yayıncılık: Ankara.
- Kishi, H., Kitahara, Y., Imai, F., Nakao, K., & Suwa, H. (2018). “*Expression of the gonadotropin receptors during follicular development*”. Reproductive Medicine and Biology.
- Kortun, O. (2018). *Zeytin Yaprağı Ekstratlarının Erkek Suriye Hamsterlerinde (Mesocricetus Auratus) Sirkadyen Ritmi ve Testosteron Hormonu Üzerine Etkileri*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü: Çanakkale.
- Köylü, et al. (2021). “*Sıçanlarda Vajinal Yayma Örneklerinin Sitolojik Değerlendirilmesi*”, Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences. 11 (1). 94-99.
- Kun Yu, Zheng -Yuan Huan, Xen-Ling Xu, Jun Li, Xiang- wei Fu ve Shou Long Deng. (2022). *Estrogen Receptor Function Impact on the Human Endometrium*. Doi. 10.3389.
- Kuyucu, Y., Tap, Ö. (2009). “*Oosit olgunlaşma süreci ve düzenleyici faktörler*”. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 18 (4), 227-240.
- Levine, J. E, Norman, R. J, Gliesman, P. M, Oyama, T. T, Bansgberg, D. R, Spies, H. G. (1985). *In vivo gonadotropin-releasing hormone release and serum luteinizing hormone measurments in ovariectomized, estrogen treated rehesus macaques*. Endocrinology. (117). 711-721
- Li, S., Herrera, G. G, Tam, K.K., Lizarraga, J.S., Beedle, M.T., Winuthayanon, W. (2018). “*Estrogen action in the epithelial cells of the mouse vagina regulates neutrophil infiltration and vaginal tissue integrity*”. Sci Rep. DOI: 10.1038/s41598-018-29423-5.
- Lohmiller, J.J. and Swing, S.P. (2006). *Reproduction and breeding*. pp. 147-164. In: The Laboratory Rat (Suckow, M.A., Weisbroth, S.H., and Franklin, C.L. eds.), Elsevier Academic Press, Burlington, MA

- Malik, N.S.A. ve Bradford, J.M. (2006). "*Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in 'Arbequina' olives*". Scientia Hort. (110). 274-278.
- Malayoğlu- Basmacıoğlu H., Aktaş, B. (2011). *Zeytinyağı işleme yan ürünlerinden zeytin yaprağı ile zeytin karasuyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri*, Hayvansal Üretim. 52 (1). 49-58.
- Ma, W.G., Song, H., Das, S.K., Paria, B.C., Dey, S.K. (2003). "*Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation*". Proc Natl Acad Sci: USA.
- Manna, C., Galletti, P., Cucciolla, V., Montedoro, G., Zappia, V. (1999). "*Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages*". J Nutr Biochem. 10 (3). 159-65.
- Marcondes, F.K, Miguel, K.J., Melo, L.L., Spadari-Bratfisch, R. C. (2001). "*Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test*". Physiology, Behavior. 74 (4-5). 435-440.
- Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., Tanno, A. P. (2002). "*Determination of the estrous cycle phases of rats: Some helpful considerations*". Brazilian Journal of Biology. (62). 609-614.
- McLean, A.C., Valenzuela, N., Fai S., Bennett, S.A. (2012). "*Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification*". Journal of Visualized Experiments. (67). 43-89.
- Mc Gee, E.A ve Hsueh, A.J. (2000). *Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles*. Endocrine Reviews. 21 (2). 200-214.
- McGarvey, C., Cates, P.A., Brooks, A., Swanson, I.A., Milligan, S.R., Coen, C.W., et al. (2001). "*Phytoestrogens and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity and pituitary luteinizing hormone release in the rat*". Endocrinology.
- McManus, J.F.A. and Mowry, R.W. 1964. Staining Methods: Histologic and Histochemical (1th ed.). A Hoeber International Reprint: London and Tokyo. 423p.
- Mendoza-Rodriguez, C.A., Merchant-Larios H., Segura-Valdez L., Moreno-Mendoza, N., Cruz, M.E., Arteaga-Lopez, P., et al. (2002). "*Expression of p53 in luminal and glandular epithelium during the growth and regression of rat uterus during the estrous cycle*". Mol Reprod Dev. 61 (4). 445-52.

- Michael, H.R., Edward, J.R., Lynn, J.R. (1989). *Female Reproductive System*. Histology: A text and Atlas. (2 ed.), Williams & Wilkins: USA.
- Miyano, T. (2005). “Apr. *In Vitro* Growth Of Mammalian Oocytes”. J Reprod Dev. 51 (2). 169-76
- Miyagawa, S., Iguchi T. (2015). “*Epithelial estrogen receptor 1 intrinsically mediates squamous differentiation in the mouse vagina*”. Proc Natl Acad Sci: USA. doi: 10.1073/pnas.1513550112.
- Mohagheghi, F., Bigdeli, M.R., Rasouljan, B., Hashemi, P., Pour, M. R. (2011). “*The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia*”. Phytomedicine. 18 (2-3). 170-5.
- Moore, P. (2002). *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevi: Ankara.
- Morrison, L.J., Marckiewicz, J.L. (2002). “*Tumor necrosis factor enhances oocyte/follicle apoptosis in the neonatal rat ovary*”. Biology of Reproduction. (66). 450-457.
- Mosleh, G., Mohagheghzadeh, A., Faridi, P. (2016). “*Olive leaf: from tradition to clinic*”. Trends in Pharmaceutical Sciences. 2 (4). 241-52.
- Mülazımoğlu, S.B., İde, T., Aslan, S. (2012). *Küçük Deney Hayvanlarından “Ratlarda üreme”*. Matris Tanıtım Baskı Hizmetleri: Ankara.
- Nasirzadeh, M. R. (2017). *Effect of alcoholic extract of olive leaves on Serum Level of FSH, LH and Testosterone following renal ischemic- reperfusion injury in Male Rats*. Yafte. 19 (1). 54-62.
- Nelson, J.F., Felicio, L.S., Randall, P.K., Sims, C., Finch, C.H.A. (1982). “*Longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J Mice: I. Cycle frequency, Length and vaginal cytology*”. Biol Reprod. (27). 327-39.
- Nishino, N. ve Totsukawa, K. (1996). “*Study on the Östrus Cycle in the Mongolian Gerbil (Meriones unguiculatus)*”. Exp.Anim. (45). 283-288.
- Oflamaz, A. (2015). *STZ-İndüklenmiş Diyabetik Fare Ovaryumunda Endoplazmik Retikulum Stresi (ERS) İlişkili Protein Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi*. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı: Antalya.

- Okere, O. S., Sangodele, J. O., Adams, M. D., Anyanwu, G. O., Ifeonu, S. C. (2014). "Effect of ethanolic extract of *Olea europaea* on *Plasmodium falciparum* infected mice". International Journal of Biomedical Research. 5 (6). 400-404.
- Orsini, M.W. (1961). "The External Vaginal Phenomena Characterizing the Stage of the Östrus Cycle, Pregnancy, Pseudopregnancy, Lactation and Anöstrus Hamster, *Mesocricetus auratus* Waterhouse". Proc. Anim. Care. Panel. (11). 193-206.
- Orchard, M.D., Murphy, C.R. (2002). "Alterations in tight junction molecules of uterine epithelial cells during early pregnancy in the rat". Acta Histochem. 104 (2). 149-55.
- Öktem, Ö. ve Oktay, K. (2008). "The Ovary: Anatomy and Function throughout Human Life". New York Academy of Sciences. (1127). 1-9.
- Petroianu, A., Vasconcellos, L.S., Alberti, L.R., Nunes, M.B. (2005). "The influence of venous drainage on autologous ovarian transplantation". J Surg Res. (124). 175-179.
- Popesko, P., V. Rajtová, and J. Horák. (1990). *Anatomic Atlas of Small Laboratory Animals*. Priroda: Bratislava.
- Pritchett, K.R., Taft, R.A. (2007). "Reproductive biology of the laboratory Mouse". In: Fox J. G., Davission MT, Quimby FW, Barthold SW, Newcamer CE, Smith AL (eds): The Mouse in Biomedical Research.vol: III. Chapter: 3. (Second ed.). Elsevier: USA.
- Ramos, S.D., Lee, J.M. ve Peuler, J.D. (2001). "An Inexpensive Meter to Measure Differences in Electrical Resistance in the Rat Vagina During the Ovarian Cycle". J. Appl. Physiol. (91). 667–670.
- Rankin, T., Dean, J. (1996). "Preimplantation embryology: The molecular genetics of the zona pellucida: mouse mutations and infertility". MHR: Basic Science of Reproductive Medicine. 2 (11). 889-894.
- Reddy, P., Zheng, W., Liu, K. (2010). *Mechanisms maintaining the dormancy and survival of mammalian primordial follicles*. Trends in Endocrinology Metabolism. 21 (2). 96-103.
- Richardson, V. (2003). *Diseases of Small Domestic Rodents*. Blackwell Publishing.
- Roberts, D., Veeramachaneni, D.N., Schlaff, W.D., Awoniyi, C.A. (2000). "Effects of chronic dietary exposure to genistein, a phytoestrogen, during various stages of development on reproductive hormones and spermatogenesis in rats". Endocrine.

- Robker, R.L., Russell, D.L., Yoshioka, S., Sharma, S.C., Lydon, J.P., O'Malley, B.W., Richards, J.S., (2000). "Ovulation: a multi-gene multi-step process". *Steroids*. 65 (10-11). 559-570.
- Ross, H. M, Reith, J.E. (1985). *Histology a text and atlas*. Harper Int Ed: New York.
- Ross, H.M., Kaye, G.I., Pawlina, W. (2003). *Histology: A Text and Atlas*. (4nd ed.). Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia.
- Ross, H.M. ve Pawlina, W. (2006). *Histology a Text And Atlas*. (Fifth ed.). Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia.
- Ross, M.H. ve Pawlina, W. (2011). *Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*. (Sixth ed.). Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia.
- Ross, H. M., Pawlina, W. (2013). *Dişi üreme sistemi*. İçinde: Baykal, B. (ed.). *Histoloji*. Palme Yayıncılık: Ankara.
- Ross, M.G., Pawlina, W. (2014). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Baykal, B. (çev.). Palme Yayıncılık: İstanbul.
- Rostamzadeha, A., Amini-khoeib, H., Javad Mardani Koranib, M., Rahimi-madisehb, M. (2020). "Comparison effects of olive leaf extract and oleuropein compounds on male reproductive function in cyclophosphamide exposed mice." *Heliyon*. 6(4).<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03785>
- Rugh, R. (1968). *The Mouse, Its Reproduction and Development Minneapolis*. Burgess Publishing Company.
- Russell, L.D. (1992). "Normal Development of the Testis". *Pathobiology in the Aging Rat*. (1). 395-405.
- Ryan, D., Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., Lavee, S. (2002). "Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea L*". *Sci. Hortic*. (92). 147-176.
- Sadler, T.W. (1995). *Langman's Medical Embryology*. (7th edition). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Safranski, T.J., Lamberson, W.R., Keisler, D.H. (1993). "Correlations among three measures of puberty in mice and relationships with estradiol concentration and ovulation". *Biol Reprod*. DOI: 10.1095/biolreprod48.3.669.
- Sapmaz, M. (2008). *Normal ve Süperovule Farelerde İyonizan Radyasyonun Ovaryum Morfolojisi, Östrus Siklusu ve Ovulasyon Oranı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*.



Yayımlanmamış Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Edirne.

- Sarbishegi, M., Alhagh Charkhat Gorgich, E., Khajavi, O. (2017). *Olive leaves extract improved sperm quality and antioxidant status in the testis of rat exposed to rotenone*. Nephro-Urol Mon. 9(3): e47127. DOI: 10.5812/numonthly.47127.
- Sarbishegi, M., Gorgich, E., Ozra, Khajavi., Gholamreza, K. ve Saeedeh S. (2018). *Antioxidant Effects of Olive Leaf Extract in Prevention of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease*. Gene Cell Tissue. 5(1): e79847. doi: 10.5812/gct.79847.
- Sarı, İ. (2016). Oil – *Kutsal Yiyecek Zeytin*. Net Medya Yayıncılık: Antalya.
- Sato, H., Genet, C., Strehle, A., Thomas, C., Lobstein, A., Wagner, A., et al., (2007). *“Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from”*. Biochem Biophys Res Commun. 362 (4). 793-8.
- Scheffer, G.J., Broekmans, F.J., Dorland, M., Habbema, J.D., Looman, C.W. Te Velde, E.R. (1999). *“Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility”*. Fertility Sterility. 72 (5). 845-851.
- Servili, M., Baldioli, M., Selvaggini, R., Macchioni, A., Montedoro, G. F. (1999). *“Phenolic compounds of olive fruit: one and twodimensional nuclear magnetic resonance characterization of nuezhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit”*. J Agric Food Chem. (47). 12-18.
- Socol, E.R. (2011). *“Clinical anatomy of the uterus, fallopian tubes, and ovaries”*. Glob Libr. Women's Med. (2). 672-673.
- Soylu, S.M. (2011). *“Rat fizyolojisi”*. Journal of Clinical and Analytical Medicine. (431). 1-3.
- Sözen, E. O. (2008). *Menstrüel Döngüde Siçan Uterus Epitelinde Sıkı ve Oluklu Bağlantı Proteinlerinin Dağılımlarının İmmünohistokimyasal Olarak Belirlenmesi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Ankara.
- Stetson, M.H, Elliott, J.A. ve Menaker, M. (1975). *Photoperiodic Regulation of Hamster Testis: Circadian Sensitivity to the Effects of Light*. Department of Zoology, University of Texas: Austin.
- Stilley, J.A, Birt, J.A, Sharpe-Timms, K.L. (2012). *“Cellular and molecular basis for endometriosisassociated infertility”*. Cell Tissue Res. 349 (3). 849-62.
- Syrop, C.H., Willhoite A and Van Voorhis BJ. (1995). *“Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction”*. Fertility Sterility. 64 (6). 1167-1171.

- Syrop, C.H., Dawson, J.D., Husman, K.J., Sparks, A.E., Van Voorhis, B. J. (1999). "Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3". Human Reproduction. 14 (7). 1752-1756.
- Tasaki, H., Iwata, H., Sato, D., Monji, Y., Kuwayama, T. (2013). "Estradiol has a major role in antrum formation of porcine preantral follicles cultured in vitro". Theriogenology. 79 (5). 809-814.
- Tekelioğlu, M. (2002). *Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme*. Antıp AŞ yayınları: Ankara.
- Tepeköy, F. (2011). *Fare Ovaryumunda Protein kinaz C İzotiplerinin Dağılımı ve Folikülogenezle İlişkisi*. Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı: Antalya.
- Thomas, F.H, Vanderhyden, B.C. (2006). "Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth". Reproductive Biology and Endocrinology. 4 (1). 19.
- Tokuşoğlu, Ö. (2010). *Özel Meyve Zeytin*. Kimyası, Kalite ve Teknolojisi. Seher Matbaacılık: İzmir.
- Tomac, J., Cekinović, Đ., Arapović, J. (2011). "Biology of the corpus luteum". Periodicum Biologorum. 113 (1). 43-49.
- Le Tutour, B. ve Guedon, D. (1992). *Olea europaea yapraklarının antioksidatif aktiviteleri ve ilgili fenolik bileşikler*. Fitokimya. (31). 1173-1178.
- Türköz, G., Baydar, T., Sözbilen, M., Hışıl, Y. (2008). "Oleuropein ve Ekstraksiyon Yöntemleri". I. Ulusal Öğrenci Kongresi, 17-18 Mayıs: Balıkesir.
- Ünlüel, İ., Aydın, Ö. (2016). *Bir zeytin fenoliği olan oleuropeinin sağlığımız üzerine etkileri*. Zeytin Bilimi. 6 (2). 77-14.
- Visioli, F. ve Bellomo, G. (1998), "Zeytinyağı polifenollerinin serbest radikal temizleyici özellikleri". Bioc. And Biop. (247). 60-64.
- Waterhouse, G. R. (1839). *The zoology of the voyage of H. M. S. Beagle, under the command of Captain Fitzroy, R. N., during the years 1832 to 1836. Part II. Mammalia*. Smith, Elder and Co.: London.
- Weber, K.S., Setchell, K.D., Stocco, D.M., Lephart, E.D. (2001). "Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5alpha-reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats". J Endocrinol.

- Wildmaier, E.P., Raff, H. ve Strang, K.T. (2010). *Vander İnsan Fizyolojisi*. İzmir Güven Kitapevi: İzmir.
- Yıldız, G., Uylaşer, A. (2011). “Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein”. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi.
- Yiğit, A. ve ark. (2019). “Dişi Ratlarda Üreme Fizyolojisi”. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 12 (2): 163- 167.
- Yoon, L., Liu, Y.N., Park, H., Kim, H.S. (2015). “Olive leaf extract elevates hepatic PPAR  $\alpha$  mRNA expression and improves serum lipid profile in ovariectomized rats”. J Med Food. 18 (7). 738-44
- Young, B., Heath, J.W. (2000). *Wheater’s Functional Histology a Text and Colour Atlas*. Copyright Licensing Agency Ltd.: London.
- Zarzuelo, A., Duarte, J., Jimenez, J., Gonzalez, M., Utrilla, M.P. (1991). “Vasodilator effect of olive leaf” ., *Planta Med*.57(5):417-419. doi: 10.1055/s-2006-960138.
- Zheng, J., Wei, J. T., Liu, J. F., Liu, Y. W. (2016). “Research progress on biological activities of *Olea europaea* leaf extract”. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 41 (4). 613-618.

### İnternet Kaynakları:

1. Sıçanlarda östrus siklusu. (20.04.2022). Erişim adresi: [www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt](http://www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt)
2. Uterus histolojisi. (20.04.2022). Erişim adresi: <http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcaplan/anat2/histology/histo%20c%20female%20reproductive.htm>
3. Vajinal epitel histolojisi. (18.08.2022). Erişim adresi: [https://www.petveteriner.com.tr/saglik\\_kosesi/kopek\\_vaginal\\_smear.php](https://www.petveteriner.com.tr/saglik_kosesi/kopek_vaginal_smear.php)
4. System cell Biology. Female Reproductive System Lab. (18.04.2022). Erişim adresi: ([http://medcell.med.yale.edu/systems\\_cell\\_biology/female\\_reproductive\\_system\\_lab.php](http://medcell.med.yale.edu/systems_cell_biology/female_reproductive_system_lab.php))