

ÖSTRUS SIKLUSUNUN FARKLI DÖNEMLERİNDE İNEKLERİN OVIDUKT EPİTELİ ÜZERİNDE IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK ÇALIŞMALAR¹

Asuman ÖZEN²

Light and electron microscopic studies on the oviduct epithelium of cows during the different phases of the oestrus cycle

Summary: *The aim of this study was to investigate the histologic and histochemical characteristics of oviduct epithelium of cows during the different phases of the oestrus cycle on the level of light and electron microscopy. As a material, 30 oviducts provided from the cows aged between 2-5 years and showed follicular and luteal phases were used.*

As a result of light and electron microscopical examinations two main cell types as secretory and ciliated cells were determined in lamina epithelialis formed by simple columnar epithelium. In addition, the cells which thought to have reserve function and peg cells were observed.

In the phases of oestrus and metestrus, the heights and secretory materials of cells were more than those observed in the phases of diestrus and early proestrus. In addition, histochemical methods showed that the secretory materials of cells were composed of sulphated and carboxylated acidic mucosubstance and neutral mucosubstance. In oestrus phase, it was observed that the sulphated and carboxylated acidic mucosubstance were dense in apical parts of long mucosal folds faced to lumen, while the neutral mucosubstance increased in the crypts.

The amounts and situations of glycogen, hyaluronic acid, chondroitin sulphate A, C and sialic acid according to the phases were determined by applying digestion of diastase, hyaluronidase and sialidase, respectively.

Key words: *Cow, histochemistry, oviduct, sexual cycle.*

Özet: *Bu araştırmada, ineklerde seksüel siklusun değişen fazlarında, ovidukt epitelinin histolojik ve histokimyasal özelliklerinin, ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlandı. Materyal olarak, folliküler ve luteal fazdaki, yaşları 2-5 arasında değişen, Çubuk mezbahasından sağlanan 30 ineğin oviduktunu kullanıldı.*

Işık ve elektron mikroskopik düzeyde yapılan incelemeler sonucunda, tek katlı prizmatik epitelden oluşan lamina epiteliyalisin, salgı yapan hücreler ve silyumlu hücrelerden oluştuğu tespit edildi. Bunların yanında, rezerv fonksiyonuna sahip olduğu düşünülen hücreler ile kama şekilli hücrelere de rastlandı.

1. Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiş olan bu çalışma AÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 95.30.00.06)

2. Dr. Araş. Gör. AÜ Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Östrus ve metöstrus dönemlerinde, hücrelerin yüksekliklerinin ve salgı granüllerinin miktarının, diöstrus ve erken proöstrus dönemlerine göre oldukça fazla olduğu saptandı. Histokimyasal yöntemlerle yapılan incelemeler sonucunda ise salgı materyalinin, nötral mukosubstans ile sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstansın karışımı olduğu belirlendi. Östrus döneminde uzun mukozal kıvrımların lümenine bakan uç kısımlarında sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstansın yoğun olduğu, kriplerde ise nötral mukosubstansın artmış olduğu gözlemlendi.

Uygulanan diastaz sindirimi ile glikojenin, hiyaluronidaz sindirimi ile hiyaluronik asit, kondroidin sülfat A ve C glikozaminoglikanlarının, siyalidaz sindirimi ile de siyalik asitin dönemlere göre buldukları yerler ve miktarları tespit edildi.

Anahtar sözcükler: Histokimya, inek, ovidukt, seksüel siklus

Giriş

Fötal dönemde Müller kanalının ön kısmından gelişen ovidukt, anatomik olarak infundibulum, ampulla ve istmus bölgelerine ayrılır (11,31). Oviduktun mukozası, tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanlarından oluşur ve primer, sekonder, tersiyer kıvrımlara sahiptir (4,16,20).

Ovidukt sıvısı, oosit'in olgunlaşması, spermatozoon'un kapasitasyonu, fertilizasyon ve erken embriyonal gelişme için uygun ortam sağlar (11). Bu fonksiyonların yerine getirilmesinde ovidukt epitelinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Tek katlı prizmatik epitelden oluşan lamina epiteliyalis, başlıca iki tip hücre içerir. Bunlardan biri özellikle fimbriya ve ampullada bol olarak bulunan silyumlu hücreler, diğeri ise silyum içermeyen hücrelerdir (4,16,20). Araştırmacılar silyumsuz hücreleri sekretorik hücreler, kama şekilli hücreler ve bazal ya da indifferent hücreler olmak üzere üç alt gruba ayırmışlardır (20). Silyumlu hücrelerin sayısı fimbriya bölgesinde çok fazladır ve istmusa doğru gidildikçe azalır. Buna karşılık, sekretorik hücrelerin sayısı ise istmusa doğru gidildikçe artar (15).

Yapılan çalışmalarda epitel hücrelerindeki yüksekliğin, salgı miktarının ve silyumlu hücre sayısının, östrus siklusunun fazlarına göre değişen hormonal etkinin kontrolü altında olduğu bildirilmektedir (3,14,26,33). Östrojen sekretorik hücrelerde hipertrofi ve sekresyona, silyumlu hücrelerin silyumlarında aktivasyona

neden olur. Progesteron ise östrojenin oluşturduğu bu değişikliklerin karşıt etkilerini yapar (2). Ovidukta hücrelerin yüksekliğinin östrus ve metöstrusta maksimuma eriştiği, diöstrusta ise en kısa olduğu tespit edilmiştir (14,35). Araştırmacılar luminal yüzeyin özellikle östrus sırasında iyi gelişmiş uzun silyumlarla kaplanmış olduğunu, luteal dönemde ise progesteron etkisi ile silyumların kaybolduğunu bildirmektedirler (3,5,10,33).

Ovidukt sekresyonu üzerine yapılan ilk histokimyasal çalışmalarda sekresyonun protein ve glikozdan oluştuğu ileri sürülmüş ve östrus sırasında tubal sıvıdaki total protein ve serbest amino asit değerlerinin arttığı bildirilmiştir (7,26). Pek çok araştırmacı sekretorik hücrelerden salınan materyalin boyanma özelliklerini inceleyerek, bunların mukoprotein ya da mukopolisakkaritler olduğu ortak görüşünü savunmuşlardır (13). Mukopolisakkaritler bugün glikozaminoglikanlar olarak adlandırılmaktadır.

Jones ve Reid (21) değişik pH'larda Alcian blue (Ab) boyaması yaparak epiteliyal asit glikoproteinleri, siyalomusinler (siyalidaz enzimine duyarlı ya da dayanıklı) ve sulfomusinler olmak üzere iki grupta incelemiştir. Hyde ve Black (19) tavşan oviduktunun ampulla ve istmus bölgelerinde çalışmışlar ve sekretorik hücrelerin supra-nükleer bölgelerinin kuvvetli PAS(+) reaksiyon verdiğini, bunun da nötral mukosubstansın işareti olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, Ab pH 2,5'deki boyanmanın ise asidik mu-

kosubstansın işareti olduğunu ve pozitif reaksiyonun yüzey epitelinde zayıf, özellikle mukozal kıvrımların kript epitelinde ise daha kuvvetli olduğunu bildirmişlerdir.

Hadek (14) koyunların oviduktunda yaptığı çalışmada, PAS pozitif reaksiyonunun proöstrusta zayıf, östrus ve metöstrusta ise çok kuvvetli olduğunu, proöstrusta PAS pozitif granüllerin çekirdek ile serbest yüzey arasında toplandığını, östrus ve metöstrusta ise sadece bu bölgede değil, hücrenin bazal sitoplazmasında da bulunduğunu, PAS pozitif granüllerin östrustan 4-5 gün sonra ise tamamen kaybolmaya başladıklarını bildirmiştir. Nayak ve Ellington (26) yaptıkları histokimyasal çalışmada sığır oviduktundaki salgı granüllerinin PAS (+) ve diastaz rezistan materyal taşıdığını ileri sürmüşlerdir.

Glikozaminoglikanların akrozom reaksiyonunu arttırdığı pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (18,24,25). Kondroitin sülfat A,B,C hiyaluronik asit, heparin ve heparan sülfatın da sığır spermatozoon'larında akrozom reaksiyonunu arttırdığı saptanmıştır (24). Handrow ve ark. (18) glikozaminoglikanların sülfatlanma derecesinin akrozom reaksiyonunu ilerletmekten sorumlu olduğunu bildirerek, heparinin sığırlarda akrozom reaksiyonu üzerine kondroitin sülfat ya da hiyaluronik asitten çok daha etkili olduğuna dikkati çekmişlerdir.

Yukarıda bildirilen çalışmalarda görüldüğü gibi ovidukt, oosit'in olgunlaşması, spermatozoonun kapasasyonu, fertilizasyon ve erken embriyonal gelişmede önemli rolleri olan bir organdır. Günümüzde hayvan yetiştiriciliğinde bilimsel yöntemlerin uygulanması, ekonomik açıdan oldukça önem-

lidir. Ovidukta ait fonksiyonların yerine getirilmesinde büyük işlevi olan epitel hücrelerinin, yapı ve fonksiyonlarındaki siklik değişimleri ve ovidukt mukus içeriğinin fertilizasyon üzerindeki rolünü belirleyecek araştırmaların yapılması ve elde edilecek sonuçların pratiğe aktarılması ile fertilitite ve verimliliğin artacağı inancıyla yapılan bu çalışmada da amaç, ineklerde siklusun farklı dönemlerinde, ovidukt epiteli üzerindeki değişimleri ışık ve elektron mikroskopik olarak değerlendirmektir.

Materyal ve Metot

Sunulan çalışmada materyal olarak Çubuk mezbahası'ndan temin edilen, yaşları 2-5 arasında değişen 30 ineğe ait oviduktlar kullanıldı. Hayvanların östrus siklusunun hangi dönemlerinde oldukları, ovaryumların makroskopik muayenesi ve bu hayvanlardan alınan kan örneklerinde Enzimimmunoassay (EIA) yöntemi uygulanarak progesteron hormon seviyesinin tespiti ile saptandı. Kan progesteron hormonu düzeyinin belirlenmesinin yanısıra, ovaryumlardaki fonksiyonel yapılar ölçülerek siklusun dönemleri Tablo 1'de belirtildiği şekilde değerlendirildi (30).

Doku örnekleri, oviduktun infundibulum, ampulla ve istmus bölgelerinden alındı. Alınan kan ve doku örneklerine aşağıdaki işlemler uygulandı:

Kan örnekleri: Heparinli tüplere alınan kan örnekleri, soğuk zincirde laboratuvara getirilerek, 2000 devirde +4°C'de 15 dakika santirifüje edildi ve elde edilen serumlar -20°C'de saklandı. Örneklerdeki progesteron değerleri Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Lalahan Hay-

Tablo 1. Östrus siklusu dönemlerinin tanımlanması
Table 1. Definition of the oestrus cycle

Siklik dönem	Follikül (mm)	Korpus luteum (mm)
Proöstrus	>15	10-15
Östrus	18-20	<10
Metöstrus	Ovulasyon çukuru (0-2 gün) < 10	4.gün < 15
Diöstrus	10-15	>20

van Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü'nde, EIA yöntemi ile tespit edildi.

Doku örnekleri: Alınan doku örneklerinden her birinin yarısı ışık, diğer yarısı ise elektron mikroskopik incelemeler için kullanıldı.

I. Işık mikroskopik incelemeler için: Alınan doku örnekleri %10 nötral formol solusyonunda tespit edilip, dereceli alkollerden ve ksilollerden geçirildikten sonra paraplastta bloklandı. Bloklardan alınan 6 mikronluk kesitlere aşağıdaki işlemler uygulandı: Gencl histolojik incelemeler için Crossmon tarafından modifiye edilen, Mallory'nin üçlü boyama tekniği (9), nötral mukosubstans için Periyodik Asit Schiff (PAS) reaksiyonu (9), asidik mukosubstans için Alcian blue (Ab) pH 2,5 metodu (8), nötral ve asidik mukosubstansın birlikte demonstrasyonu için PAS/Ab pH 2,5 kombine boya yöntemi (9), sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstans için Aldehyde fuchsin (Af)/Alcian blue (Ab pH2,5) kombine boya yöntemi (9), glikojen için %1 celloidin uygulanmış kesitlere Best Carmine metodu (8), glikojenin enzimle kontrolü için diastaz (1/1000 malt diastaz)/Best Carmine reaksiyonu (8), hiyaluronik asit ve kondroitin sülfat A ve B'nin kontrolü için testikular hiyaluronidaz/Ab reaksiyonu (8), siyalik asitin kontrolü için siyalidaz/Ab pH 2,5 metodu (8)

II. Elektron mikroskopik incelemeler için: Alınan doku parçaları Karnovsky yön-

temine (22) göre glutaraldehid - paraformaldehid ön tespitinden sonra % 1'lik ozmik asit solusyonunda iki saat süre ile ikinci kez tespit edildi. İkinci tespitten sonra parçalar % 1'lik uranil asetat solusyonunda iki saat bırakılıp, dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirilerek araldit M'de bloklandılar. Bu bloklardan alınan 1 mikron kalınlığındaki yarı ince kesitler, toluidin blue ile boyandıktan sonra, amaca uygun bölgeler işaretlendi. İşaretlenen bölgelerden 300-400 A° kalınlığında ince kesitler alındı. Bu kesitler, Venable - Coggeshall (34) yöntemine göre kontrast boyama yapılarak, Carl Zeiss EM 9S-2 model transmission elektron mikroskopunda incelendi.

Bulgular

Işık Mikroskopik Bulgular: Üçlü boyama yöntemiyle ovidukt epitelinin tek katlı prizmatik hücrelerden oluştuğu görüldü. Silyumlu ve silyumsuz olmak üzere iki tip hücre ayırt edildi. Ovidukt mukozasının lümenine doğru primer ve sekonder dallanmalar şeklinde lümeni doldurduğu dikkati çekti. Fimbriya ve ampulla bölgesinde silyumlu hücrelerin, istmusta silyumsuz sekretorik hücrelerin bol bulunduğu gözlemlendi.

Progesteron düzeyinin oldukça düşük olduğu (1ng/ml'nin altında) proöstrus ve östrus dönemlerinde, diöstrus dönemine göre hücre boylarının daha uzun ve salgı materyalinin de daha fazla olduğu saptandı. Proöstrus (Şekil 1) ve östrus dönemlerinde diöstrus (Şekil 2) ve



Şekil 1. Fimbriya epitelii (proöstrus). a. silyumlu hücre. b. sekretorik hücre. Triple, x 312

Figure 1. Epithelium of fimbria (proöstrus). a. ciliated cell, b. secretory cell. Triple, x 312



Şekil 2. Fimbriya epitelii (diöstrus). oklar: çekirdek atılışı. Triple, x 312.

Figure 2. Epithelium of fimbria (diöstrus). arrows: nuclear expulsion. Triple, x 312

metöstrus dönemlerine göre silyumlu hücrelerin ve silyumlarının sayısında artış görüldü.

Seksüel siklusun dönemine göre sekretorik hücrelerde çekirdeğin lokalizasyonunda farklılıklar görüldü. Erken luteal fazda, özellikle diöstrusun 7 ve 8. günlerinde, sekretorik hücrelerde çekirdeğin az bir sitoplazma ile birlikte apokrin tarzda lümeneye atıldığı görüldü (Şekil 2, oklar). Bu görünümün, metöstrustak maksimum sekresyon olayından hemen sonra, sekresyonun minimuma inmesi ile birlikte olması dikkati çekti.

Hücrelerde siklus boyunca PAS (+) materyal tespit edildi. Östrus dönemine göre metöstrus döneminde, yüzey epiteline göre de kripi epiteline nötral mukosubstansın daha fazla olduğu dikkati çekti. Diöstrus ve erken proöstrus dönemlerinde salgı materyalinin azalması ile orantılı olarak nötral mukosubstansın da azaldığı görüldü.

Alcian blue (Ab) pH 2,5 boyama yöntemiyle Ab (+) mukosubstansın östrus döneminde diğer dönemlere göre fazla olduğu, asidik mukosubstansın lümeneye uzanan mukoza kıvrımlarının yüzey epiteline, kriplere göre daha yoğun olduğu tespit edildi. Ab(+) mukosubstansın diöstrus döneminde çok azaldığı gözlemlendi.

PAS/Ab pH 2,5 kombine boyama yöntemiyle sekretorik hücrelerde hem nötral hem de asidik mukosubstansın var olduğu ve miktarlarının dönemlere göre değiştiği tespit edildi.

Östrus döneminde uzun mukoza kıvrımlarında asidik mukosubstansın, kripi epitelinde ise nötral mukosubstansın baskın olduğu görüldü (Şekil 3). Metöstrus döneminde nötral mukosubstansın üstünlüğü, sadece lümendeki salgının etkisiyle silyumların çok hafif Ab (+) boyandığı görüldü.

Aldehyde fuchsin (Af)/Ab pH 2,5 kombine boyama yöntemiyle karboksilli asidik mukosubstansın özellikle östrus döneminde gözlemlendiği ve pozitif reaksiyonun hücrelerin apikalinde bulunduğu, aynı hücrenin bazalinde ise sülfatlı asidik mukosubstansın baskın olduğu görüldü (Şekil 4).

Diastaz/Best carmine metodu ile glikojenin seksüel siklusun her döneminde özellikle de silyumlu hücrelerde bulunduğu dikkati çekti (Şekil 5). Glukojenin α -amilaz ile sindirilmesinden sonra uygulanan Best carmine reaksiyonunda, belirgin bir azalma gözlemlendi (Şekil 6).

Testikular hiyaluronidaz/Ab pH 2,5 reaksiyonuyla hiyaluronik asit, kondroitin sülfat ve C'nin ampullada oviduktun diğer bölgelerine göre daha fazla bulunduğu görüldü. Diöstrusa göre, östrus ve proöstrusta, hiyaluronidazla sindirilebilen Ab (+) materyalin daha fazla bulunduğu dikkati çekti. Hiyaluronidaz sindirimi sonucu uygulanan Ab pH 2,5 boyamasında, Ab (+) reaksiyonunda belirgin bir azalma görüldü. Siyalidaz/Ab pH 2,5 metoduyla siyalik asit içeren Ab (+) materyalin özellikle proöstrus ve



Şekil 3. Ampulla epiteli (östrus). PAS/Ab pH 2,5x180
Figure 3. Epithelium of ampulla (oestrus). PAS/Ab 2,5x180



Şekil 4. Ampulla epiteli (östrus). Af/Ab pH 2,5x323
Figure 4. Epithelium of ampulla (oestrus). Af/Ab pH 2,5 x 323



Şekil 5. Fimbriya epiteli (diöstrus). Best carmine, x 390
Figure 5. Epithelium of fimbria (dioestrus). Best carmine, x 390



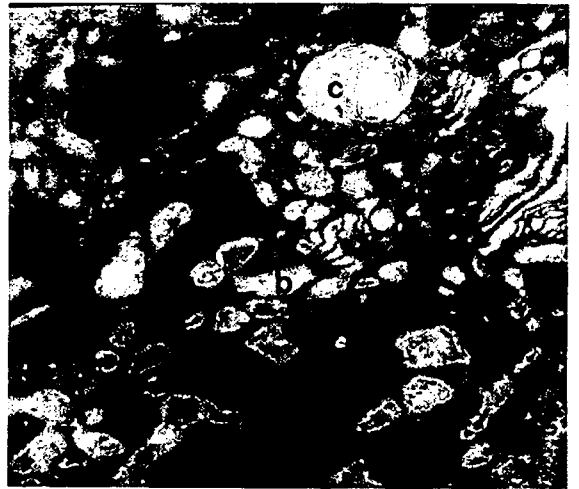
Şekil 6. Fimbriya epiteli (diöstrus). Diastaz/Best carmine, x 390
Figure 6. Epithelium of fimbria (dioestrus). Diastaz/Best carmine, x 390

östrusta, hücrelerin apikal sitoplazmasında fazlaca bulunduğu görüldü; ampulla bölgesindeki hücrelerde, fimbriyadakilere göre daha fazla bulunduğu ve enzim sindirimi uygulanan preparat ile kontrol grubu karşılaştırıldığında reaksiyon kaybinın belirgin olduğu saptandı.

Elektron Mikroskopik Bulgular: Ovidukt epitelinde silyumlu hücreler, silyumsuz sekretorik hücreler, kama şekilli hücreler ve rezerv fonksiyona sahip olduğu düşünülen bazal hücrelere rastlandı.

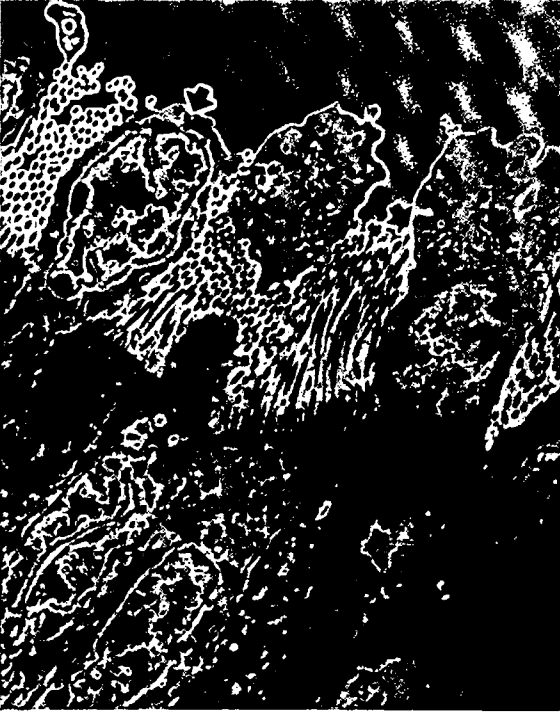
Silyumlu hücrelerin östrus siklusu boyunca çoğunlukla benzer ince yapıya sahip oldukları gözlemlendi. Apikal kısımlarında kinosilyumlar ve kinosilyumlara ait bazal cisimcikler tespit edildi. Kinosilyumlarda mikrotubulusların oluşturduğu 9 + 2 yapısı gözlemlendi. Ayrıca, bu hücrelerin mitokondriyondan zengin olduğu ve silyumların bazaline yakın bölgelerinde de glikojen partikülleri içerdiği saptandı.

Silyumsuz hücrelerin, apikal membranlarında mikrovillüslara sahip oldukları gözlemlendi. Bu hücrelerin sitoplazmalarında, membranla çevrili salgı granüllerinin bulunduğu ve bu salgının lümenine apokrin tarzda verildiği dikkati çekti. Hücrelerde üç tip salgı granülüne rastlandı; tip 1: Bazen lamelli yapı gösteren, elektron - koyu salgı granülü (Şekil 7a), tip 2: Elektron açık salgı granülü (Şekil 7b), tip 3: Elektron koyu lamellerden oluşmuş, çizgililik içeren elektron açık salgı granülü (Şekil 7c).



Şekil 7. Ampulla epiteli (proöstrus). a: tip 1 salgı granülü, b: tip 2 salgı granülü, c: tip 3 salgı granülü. x 18145
Figure 7. Epithelium of ampulla (proestrus). a: secretion granules of type 1, b: secretion granules of type 2, c: secretion granules of type 3, x 18145

Hücrelerin boylarının ve salgı materyali miktarının östrual siklusun fazlarına göre farklılıklar gösterdiği belirlendi; örneğin östrus ve metöstrus dönemlerinde, diöstrus dönemine göre hücrelerin boylarının daha yüksek ve salgı materyalinin de daha fazla olduğu görüldü; ampulla ve istmustaki hücrelerde salgı granüllerinin, fimbriyadaki hücrelere göre daha fazla görüldüğü dikkati çekti. Diöstrusta ve erken fölliküler fazda oviduktun tüm bölümlerindeki hücrelerde çok az salgı granülüne rastlandı.



Şekil 8. Fimbriya epitelı (dıöstrus). oklar: çekirdek atılışı, x 3600

Figure 8. Epithelium of fimbria (dioestrus). arrows: nuclear expulsion, x 3600

Salgı yapan hücrelerde, çekirdeğin lokalizasyonunun östrus siklusunun fazına bağlı olarak değişiklikler gösterdiği dikkati çekti. Çekirdekler metöstrustan sonra, erken luteal fazda 8. ve 9. günlerde, az bir sitoplazma ile çevrili olarak, salgı yapan hücrenin apikalinde lümene yakın olarak gözlemlendi (Şekil 8, oklar). Çekirdeklerin çentikli olduğu ve düzensiz farmlar gösterdiği tespit edildi.

Az miktarda sitoplazma ile hücrenin apikalinde yer alan çekirdeğin, apokrin salgılama biçiminde lümene atıldığı görüldü. Çekirdek atılışının, oviduktteki salgı yapan hücrelerin salgılama fonksiyonlarının maksimumuna ulaştığı metöstrustan sonra olması ve erken luteal fazda salgılama fonksiyonunun durması ile paralellik göstermesi dikkati çekti.

Kama şekilli hücelere siklusun 4. döneminde de rastlandı. Uzun ve çubuk şeklinde olan bu hücrelerin sitoplazmalarının az, çekirdeklerinin ise heterokromatik ve yassı olduğu dikkati çekti.

Oviduktta, bazal membran üzerine yerleşmiş olup da lümene kadar uzanamayan ve diğer hücelere hücrelerarası bağlantılarla bağlı olan bir takım küçük hücelere tespit edildi. Çekirdekleri, oviduktun silyumlu ve sekretorik hücrelerinin çekirdeklerinden daima daha küçük olan bu hücrelerin, çekirdek ve sitoplazmalarının elektron koyu olduğu görüldü. Az bir sitoplazmaya sahip olan bu hücrelerin çekirdeklerindeki heterokromatinin, iç çekirdek zarının hemen altında ve yer yer merkezde de odaklandığı dikkati çekti. Hücrelerin sitoplazmik uzantılara sahip olduğu gözlemlendi. Bazen gruplar halinde de görülen bu bazal hücrelerin sitoplazmalarının organellerden fakir olduğu ve organellerden de en fazla mitokondriyonlar içerdiği saptandı.

Tartışma ve Sonuç

İneklerde, ovidukt epitelı üzerinde yapılan ışık ve elektron mikroskopik çalışmalarda, ovidukt epitelinde salgı yapan hücelere ve silyumlu hücelere olmak üzere temelde iki tip hücre tanımlanmıştır (11,12,16,33). Ayrıca, apikal yüzleri çentikli olan ve kama şekilli hücelere de denilen az sitoplazmalı hücelere, salgı yapan hücrelerin salgılarını boşaltmış tipleri olarak tanımlanmıştır (16,33). Odor (28)'un tavşan, Nellor (27)'un koyun ve düvelerin oviduktunda yaptıkları çalışmalarda, bu hücelere başka bazal hücelere ile intraepitelial lenfositlerden de söz edilmiştir.

Işık ve elektron mikroskopik düzeyde yapılan bu çalışmada da seksüel siklusun tüm dönemlerinde ovidukt epitelinde silyumlu hücelere, salgı yapan hücelere, bazal hücelere ve kama şekilli hücelere rastlandı. Elektron mikroskopik incelemelerde, salgı yapan hücelere farklı görünüşte olan salgı granülü tipleri tespit edildi. Shackelford ve ark. (32) sığır oviduktunun ampulla bölgesinde üç tip salgı granülü olduğunu elektron mikroskopta göstermişlerdir. Koyunlarda yapılan bir çalışmada dört tip salgı granülü bildirilirken, granülü tiplerinin dönemlere göre değiştiği, geç luteal fazda tip 3 granüllerinin ve östrus döneminde ise özellikle tip 1'lerin yoğun olduğu vurgulanmıştır (36). İnsanda ise iki tip salgı granülü olduğu ileri sürülmüştür (1). Bu çalışmada

saptanan granül tipleri, Shackelford ve ark. (32)'nin bulgularını desteklemektedir. Fakat çalışmada seksüel siklusun fazlarına göre granül tiplerinin oranlarında bir değişim olup olmadığı tespit edilemedi.

Steroid hormonların ovidukt epitelini üzerine olan etkisine pek çok araştırmacı değinmiştir (2,3,14,26,33). Araştırmacılar özellikle östrus sırasında luminal yüzeyin iyi gelişmiş uzun silyumlarla kaplı olduğunu, hücrelerin boylarının, oldukça yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, östrus ve metöstrus dönemlerinde salgı miktarının fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın bulguları, araştırmacılarınkı ile uyumludur; hücre boylarının östrus ve proöstrus dönemlerinde, diöstrusa göre belirgin olarak uzadığı, östrus ve metöstrusta salgının arttığı ve silyumların östrojenin etkisiyle daha güçlü ve erektel oldukları tespit edildi.

Nayak ve Ellington (26) yaptıkları histokimyasal çalışmada, sığır oviduktundaki salgı granüllerinin PAS (+) ve diastaz rezistan materyal olduğunu ileri sürerlerken, Willemsse (35) koyunlarda yaptığı çalışmada PAS (+) reaksiyon yanında, diastaz ile sindirilebilir materyalin de bulunduğunu ileri sürmüştür. Hadek (14) koyunlarda yaptığı çalışmada PAS (+) reaksiyonunun proöstrusta az, östrus ve metöstrusta ise çok kuvvetli olduğunu, östrustan 4-5 gün sonra ise reaksiyonun kaybolmaya başladığını bildirmiştir. Çalışmanın bulguları araştırmacının bulgularını desteklemektedir; özellikle metöstrusta, nötral mukosubstansın miktarının maksimuma ulaştığı bu çalışmada da tespit edildi.

Histokimyasal reaksiyonlardan elde edilen bulgular, Hyde ve Black (19)'in bulgularıyla uyusmamaktadır. Araştırmacılar Ab pH 2,5 boyaması sonucunda asidik mukosubstansın yüzey epitelinde de bulunmakla beraber, özellikle mukozal kıvrımların kriplerindeki epitel hücrelerinde yoğun olduğunu göstermişlerdir. Çalışmanın bulguları ise oviduktta kriplerde nötral mukosubstansın, uzun mukozal kıvrımların lümenine bakan bölümlerinde ise asidik mukosubstansın yoğun olduğu yönündedir.

Yapılan çalışmalarda, ovidukt epitelinde glikojenin bulunduğu gösterilmiştir (14,23,35). Çalışmanın bulguları da glikojenin varlığını desteklemektedir; çalışmada özellikle silyumlu hücrelerde glikojenin çok fazla bulunduğu ve malt diastazı ile sindirildiği tespit edildi. Elektron mikroskopik incelemelerde de glikojen partikülleri silyumlu hücrelerin apikal sitoplazmasında, silyumların bazalinde, gruplar yapmış olarak görüldü.

Bir grup araştırmacı kondroitin sülfat A, B, C hiyaluronik asit, heparin ve heparan sülfatın akrozom reaksiyonunu arttırdığını bildirmişlerdir (18,24,25). Handrow ve ark. (18) glikozaminoglikanların sülfatlanma derecesinin akrozom reaksiyonu üzerine en etkili glikozaminoglikan olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada Ab pH 1,0 ve pH 2,5 değerlerinde yapılan boyamalarda, ovidukt epitelinde sülfatlı ve hem sülfatlı hem de karboksilli asidik mukosubstans saptandı. Her iki asidik mukosubstansın proöstrus ve östrus dönemlerinde fazla olduğu, diöstrus döneminde ise hemen hemen kaybolduğu belirlendi. PAS/Ab kombine boyama metodu ile elde edilen ışık mikroskopik düzeydeki sonuçlar, östrus ve metöstrus dönemlerinde kriplerde nötral mukosubstansın fazla olduğunu, uzun mukozal kıvrımların lümenine bakan yüzey kısımlarında da asidik mukosubstansın yoğun olduğunu gösterdi. Araştırmacıların bulguları ile bu çalışmanın bulguları birlikte değerlendirildiğinde, proöstrus ve östrus dönemlerinde artan asidik mukosubstansın, spermatozoon'lardaki akrozom reaksiyonunun şekillenmesine yardımcı olabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmada hiyaluronidaz sindiriminden sonra Ab pH 2,5 metodunun uygulanması ile kondroitin sülfat A, C ve hiyaluronik asitin, ampulla bölgesinde diğer bölgelere göre daha fazla bulunduğu saptandı. Siyalidaz sindiriminden sonra uygulanan Ab pH 2,5 metodu ile de siyalik asit bulunduran asidik mukosubstansın, özellikle proöstrus ve östrusta fazlaca bulunduğu görüldü. Bu bulgular, glikoproteinlerin ve siyalik asitin östrual dönemde en düşük olduğunu bildiren Hamana ve ark. (17)'nin bulgularıyla uyusmamaktadır.

Yapılan çalışmalarda salgı yapan hücrelerin çekirdeklerinin intraselüler pozisyonunun, seksüel siklusun fazına bağlı olduğuna dikkat çekilmektedir (14,35). Hadek (14) geç metöstrus ve erken diöstrus sırasında, çekirdeklerin hücre yüzeyine doğru göç ederek, sanki oradan dışarı çıkacaklarmış izlenimini verdiklerini, diöstrusta ise çekirdeklerin ovidukt lümeninde serbest olarak bulduklarını belirtmiş ve bu çekirdeklerin köken aldıkları hücreleri ince, çubuk şekilli ve çekirdeksiz olarak tanımlamıştır. Araştırmacı çekirdekli çıkıntılarının salgı hücrelerinde sekresyonun durması ile uyumlu olduğunu ve muhtemelen epitel hücrelerinin bir dejenerasyona uğradığını ileri sürmektedir. Willemse (35) ise salgı hücrelerindeki çekirdek göçü ile epitel üzerine olan östrojenik etki arasında bir ilişki olduğunu savunarak, östrojen konsantrasyonunun en yüksek seviyeye ulaştığı dönemde, epitel hücre yüksekliğinin arttığını ve bu dönemde çekirdeklerin bazal pozisyonlarında görüldüğünü, östrojenik etkinin minimuma indiği diöstrusta ise, hücrelerin apikalinde bir çok çekirdekli çıkıntının bulunduğuna dikkati çekmiştir. Çalışmada östrojenin, silyumlu ve salgı yapan hücreleri aynı oranda etkilediği görüldü. Bu nedenle bulgular, araştırmacının bulgularına uymamaktadır. Salgı aktivitesinin en yüksek seviyeye ulaştığı metöstrustan hemen sonra, diöstrus başında, salgı yapan hücrelerden çekirdeklerin apokrin tarzda lümenle atıldığı belirlendi; bu olayın salgı hücrelerinde, sekresyonun durması ile uyumlu olduğu sanılmaktadır ve bulgular, Hadek (14)'in bulgularını desteklemektedir.

Çalışmada bazal membran üzerine yerleşmiş, hücrelerarası bağlantılara sahip, rezerv fonksiyonu olduğunu düşündüğümüz hücrelere de rastlandı. Nellor (27) bu hücreleri ovidukt lümenine göç eden "atipik lenfositler" ya da "lenfoblastlar" şeklinde tanımlarken, insan oviduktunda yapılan bir diğer çalışmada (29) bu hücrelerin çoğunluğunu T lenfositlerin oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Odor (28) ise yaptığı çalışmada bazal hücreleri, bu çalışmanın bulgularını destekler şekilde tanımlamıştır. Ancak, araştırmacıdan farklı olarak çalışmada, Bullon ve ark. (6)'nın rat oviduktunda bazal hücre çevresinde gördükleri hücrelerarası bağlantılar da tespit edildi. Len-

fositlerde hücrelerarası bağlantı bulunmadığından, bu hücrelerin lenfosit olmayacağı ve rezerv fonksiyona sahip hücreler olabileceği görüşüne varılmıştır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda sitoplazmadan yoksun ve apikal yüzleri çentikli, kama şekilli hücreler denen hücreleri de tanımlamışlardır (6,33). Bullon ve ark. (6) bunların nekroze olmuş silyumlu hücreler olduğunu ileri sürerlerken, Stalheim ve ark. (33) ise salgısını boşaltmış sekretorik hücreler olduklarını bildirmektedirler. Çalışmanın bulgularıyla Stalheim ve ark. (33)'ün bulgularını uyum içinde olup kama şekilli hücrelerin, salgısını boşaltmış sekretorik hücreler olduğu görüşüne varılmaktadır.

Sonuç olarak, ışık ve elektron mikroskopik bulgularla ovidukt epitelinin, salgı yapan hücreler, silyumlu hücreler, rezerv fonksiyona sahip bazal hücreler ve kama şekilli hücreleri içeren tek katlı prizmatik epitelten oluştuğu tespit edildi. Siklusun dönemlerine göre hücrelerin yüksekliğinin ve salgı miktarının değiştiği, salgı materyalinin nötral mukosubstans ile karboksilli ve sülfatlı asidik mukosubstansın karışımı olduğu, östrual dönemde özellikle uzun mukozal kıvrımların uç kısımlarında asidik mukosubstansın arttığı görüldü. Akrozom reaksiyonunu arttırdığı bilinen glikozaminoglikanların, östrual dönemde ampullada daha fazla olduğu dikkati çekti. Siyalidaz sindirimi ile östrual dönemde artan asidik mukosubstansın, siyalik asit içeren asidik mukosubstans olduğu saptandı.

Kaynaklar

1. Abe, H., Oikava, T. (1991) *Regional differences in the ultrastructural features of secretory cells in the golden hamster oviductal epithelium.* J Anat. **175**, 147-158.
2. Abe, H., Oikava, T. (1993) *Effects of estradiol and progesterone on the cytodifferentiation of epithelial cells in the oviduct of the Newborn Golden Hamster.* Anat Rec. **235**, 390-398.
3. Abe, H., Oikava, T. (1993) *Observations by SEM of oviductal epithelial cells from cows at follicular and luteal phases.* Anat Rec. **235**, 399-410.
4. Bloom, W., Fawcett, D.W. (1994) *A Textbook of Histology.* 12th Ed. Chapman and Hill Inc. New York, London. p. 831-835.
5. Brenner, R. (1969) *Renewal of oviduct cilia during the menstrual cycle of the Rhesus Monkey.* Fertil Steril. **20**, 599-611.

6. Bullon, F., Merchan, J.A., Gonzalez-Gomez, F., Rurio, V., Poblete, E.G. (1980) *Ultrastructure of the oviductal mucosa of the rat. III. Bazal and Peg cells.* Int J. Fertil. **25**, 293-297.
7. Carlson, D., Black, D.L., Howe, R.G. (1970) *Oviduct secretion in the cow.* J. Reprod Ferd. **22**, 549-552.
8. Culling, C.F.A., Allison, R.T., Barr, W.D. (1985) *Cellular Pathology Technique.* 4th. Butterworths, London. p. 214-255.
9. Denk, H., Künzele, H., Plenk, H., Rüschoff, J., Sellner, W. (1989) *Reihe Mikroskopische Technik.* 17., neubearbeitete Auflage. Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore. p. 439-450.
10. Donnez, J., Roux, F. C., Caprasse, J., Ferin, J., Thomas, K. (1985) *Cyclic changes in ciliation, cell height and mitotic activity in human tubal epithelium during reproductive life.* Fertil Steril, **43**, 554-559.
11. Ellington, J.E. (1991) *The Bovine oviduct and its role in reproduction; A review of the literatures.* Cornell Vet. **81**, 313-328.
12. Fredricsson, B. (1959) *Studies on the morphology and histochemistry of the fallopian tube epithelium.* Acta Anat. **38**, 1-23.
13. Fredricsson, B. (1969) *Histochemistry of the Oviduct.* In: Hafez, E.S.E., Blandau, R.J. (Ed) *The Mammalian Oviduct.* The University of Chicago Press, Chicago and London. P. 311-327.
14. Hadek, R. (1955) *The secretory process in the sheep's oviduct.* Anat Rec. **121**, 187-205.
15. Hafez, E.S.E. (1972) *Scanning electron microscopy of female reproductive tract.* J. Reprod Med, **9**, 119-123.
16. Hafez, E.S.E. (1987) *Reproduction in Farm Animals.* 5th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia. p. 69-72.
17. Hamana, K., El-Banna, A.A., Hafez, E.S.E. (1971) *Sialic acid and some physico-chemical characteristic of bovine cervical mucus.* Cornell Vet, **61**, 104-113.
18. Handrow, R.R., Lenz, R.W., Ax, R.L. (1982) *Structural comparisons among glycosaminoglycans to promote an acrosome reaction in bovine spermatozoa.* Biochem Biophys Res Commun, **107**, 1326-1332.
19. Hyde, B. A., Black, D. L. (1986) *Synthesis and secretion of sulphated glycoproteins by rabbit oviduct explants in vitro.* J Reprod Fert, **78**, 83-91.
20. Johnson, A.D., Foley, C.W. (1974) *The Oviduct and It's Functions.* Academic Press. Inc. New York and London. p. 13-40.
21. Jones, R., Reid, L. (1973) *The effect of pH on alcian blue staining of epithelial acid glycoproteins. I. Sialomucins (singly or in simple combinations).* Histochemical Journal, **5**, 9-18.
22. Karnovsky, M.J. (1965) *A formaldehyde - glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy.* J Cell Biol, **27**, 137-138.
23. Konishi, I., Fujii I.S., Parmly, T.H., Mori, T. (1987) *Development of ciliated cells in the human fetal oviduct. An ultrastructural study.* Anat Rec. **219**, 60-68.
24. Lee, C.N., Clayton, M.K., Bushmeyer, S.M., First, N.L., Ax, R.L. (1986) *Glycosaminoglycans in ewe reproductive tracts and their influence on acrosome reactions in bovine spermatozoa in vitro.* J. Anim Sci. **63**, 861-867.
25. Lee, C.N., Handrow, R.R., Lenz, R.W., Ax, R.L. (1985) *Interactions of seminal plazma and glycosaminoglycans on acrosome reactions in bovine spermatozoa in vitro.* Gamete Research, **12**, 346-355.
26. Nayak, R.K., Ellington, E.F. (1977) *Ultrastructural and ultrachemical cyclic changes in the bovine uterine tube epithelium.* Am J Vet Res, **38**, 157-168.
27. Nellor, J.E. (1965) *The leukocyte-like cells of the oviducts during the normal estrous cycle and their modification by progestin and estrogen treatment.* Anat Rec, **151**, 171-182.
28. Odor, L.D. (1974) *The question of "basal" cell in oviductal and endocervical epithelium.* Fertil Steril, **25**, 1047-1062.
29. Peters, W.M. (1986) *Nature of "basal" and "reserve" cells in oviductal and cervical epithelium in man.* J Clin Pathol, **39**, 306-312.
30. Rosenberger, G. (1979) *Clinical Examination of Cattle.* Paul Parey, Berlin. p. 329.
31. Rüsse, I., Sinowatz, F. (1991) *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere.* Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. p. 328-329.
32. Shackelford, S.B., Dickey, J.F., Leland, T.M., Hill, J.R. (1970) *Electron microscopy of the bovine oviduct ampulla.* J Anim Sci, **30**, 328.
33. Stalheim, O.H.V., Gallagher, J.E., Deyoe, B.L. (1975) *Scanning electron microscopy of the bovine, equine, porcine and caprine oviduct.* Am J Vet Res, **36**, 1069-1075.
34. Venable, J., Coggeshall, R. (1965) *A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy.* J Cell Biol, **45**, 407-408.
35. Willemse, A.H. (1975) *The secretory activity of the epithelium of the ampulla tubae in cyclic ewes. A light microscopic study.* Tijdschr Diergeneesk. **100**, 84-94.
36. Willemse, A.H., Van Vorstenbosch, C.J.A.H.V. (1975) *The secretory activity of the epithelium of the ampulla tubae in cyclic ewes. An electron microscopical study.* Tijdschr Diergeneesk. **100**, 95-105.

Yazışma Adresi:

Dr. Asuman ÖZEN

A.Ü. Veteriner Fakültesi

Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı

06110 Dışkapı/ANKARA