

AKKARAMAN IRKI KOYUNLARDA CERVIX UTERI'NİN YÜZEY VE KRİPT EPİTELİ ÜZERİNDE HİSTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR *

Ülker Eren¹ Reşat N. Aştı² Melih Aksoy³ Kenan Çınar⁴ Bülent Güven⁵

Histologic and Histochemical Studies on Surface and Crypt Epithelium of Cervix uteri of The Akkaraman Sheep

Summary: The aim of this study was to investigate the histologic and histochemical characteristics of cervical epithelium of Akkaraman sheep. As a material, 22 cervixes of ewes were used, which 10 of them were in follicular phase and 12 of them were luteal phase.

It was determined that Lamina epithelialis was simple columnar type and composed of secretory and ciliated cells. The epithelium was replaced by stratified vaginal epithelium in the caudal cervix. Any glandular structure was not observed except in seven cases. In these cases, besides the glandular structures hyperplastic focuses and squamous metaplasia were found. It was estimated that this findings appeared due to phytoestrogens or elements which have estrogenic effects.

By means of histochemical methods, the cervical secret was found to be a mixture of acidic and neutral mucosubstances. The secretory material contained both neutral and acidic mucosubstance in lateral and apical parts of villi. But in crypts, carboxylated acidic mucosubstance was dominant. It was determined that carboxylated acidic mucosubstance increased especially in crypts in the follicular phase. Also it was shown that, acidic mucosubstance was dominant in the secretory material of glands.

Key words: Ewe, Genital tract, Cervix, Histology, Histochemistry.

Özet: Bu araştırmada, Akkaraman ırkı koyunlarda servikal epitelin histolojik ve histokimyasal özelliklerinin incelenmesi amaçlandı. Materyal olarak, folliküler fazda 10 ve luteal fazdaki 12 koyundan elde edilen 22 adet serviks kullanıldı.

Tek katlı prizmatik epitelden oluşan Lamina epithelialis'in, salgı yapan hücreler ve silyumlu hücrelerden oluştuğu ve kaudal servikste çok katlı yassı vaginal epitel ile karıştığı tespit edildi. Servikal mukozada yedi vaka dışında bez görülmedi. Bu vakalarda bezlerin yanında, epitel katta hiperplazik odaklar ve çok katlı yassı epitel me-

taplazisi tespit edildi. Belirtilen bulguların fitoöstrojenler yada östrojenik etkili maddelerin etkisi ile meydana gelmiş olabileceği düşünüldü.

Histokimyasal metotların uygulanması ile servikal salgının asit ve nötr mukosubstansın karışımı olduğu tespit edildi. Salgı materyalinin, villusların laterali ve apikalinde nötr ve asidik mukosubstansın karışımı halinde bulunduğ, kriptlerde ise karboksilli asidik mukosubstansın baskın olduğu gözlemlendi. Folliküler fazda, özellikle kriptlerde olmak üzere karboksilli asidik mukosubstansın arttığı saptandı. Bezlerde tespit edilen salgı materyalinde asidik mukosubstansın baskın olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Koyun, Genital Sistem, Cervix, Histoloji, Histokimya.

Giriş

Uterusun kaudal kısmı olan serviks (Cervix uteri,) muskulo-konnektif dokudan oluşan kalın bir duvar ile dar bir lumenin oluşur. Kristinsson ve Wibdorf (20), farklı koyun ırkları üzerinde yaptıkları çalışmada servikal duvarın lumene doğru 5-8 sirküler kıvrım oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Servikal mukozanın longitudinal düzlemde primer, daha sonra da sekonder ve tersiyer kıvrımları şekillendirdiği de bildirilmiştir (28, 29, 37). Ayrıca, inek, koyun ve keçi serviksinde karşılaştırmalı olarak yapılan bir çalışmada (18), büyük-primer-mukozal kıvrımların inekte en uzun ve kalın, koyunda ise en ince olduğu tespit edilmiştir.

Servikal mukozada L. epithelialis'in L. propriya'ya doğru yaptığı invaginasyonlar, bir grup araştırmacı (28, 29, 37) tarafından sekonder ve tersiyer kıvrımlar olarak adlandırılırken, diğer bir grup araştırmacı (13, 32, 36) aynı oluşumlar için "kript-villus" tanımlamasını daha uygun görmüşlerdir.

Servikal mukozada bezlerin bulunup bu-

* Bu araştırma, S.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

1-Doç. Dr., S.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya

2-Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

3-Doç. Dr., S.Ü. Veteriner Fakültesi Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilim Dalı, Konya

4-Yrd. Doç. Dr. Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölümü, Isparta.

5-Doç. Dr. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Lalahan Hayvancılık Araştırma Merkezi, Ankara

lanmadığı, serviks üzerinde çalışan araştırmacılar için dikkati çeken bir konu olmuştur. İnsanda (27, 35), mandada (12) ve keçide (10) servikal bezlerin olduğu bildirilmiştir. İnek serviksinde yapılan araştırmalarda (14, 29, 37) servikal mukozada bez tespit edilememiştir. Mullins ve Saacke (29) inek serviksinde, annuler halkaların bulunduğu bölgede geri dönen kıvrımların kesitlerde bez benzeri kıvrımlara neden olsalar da gerçekte bez bulunmadığını açıklamışlardır. Joshi ve arkadaşları (19) servikal mukozadaki derin olukların bez benzeri yapıları oluşturduğunu gözlemişlerdir. Heydon ve Adams (18) inek, koyun ve keçi serviksinde bez bulunmadığını açıklamışlardır. Bunun yanında Adams (2), uzun süre östrojenden zengin bitkilerle beslenen koyunlarda, infertilite ile sonuçlanan yonca hastalığında (clover disease), servikste kıvrımlı bezlerin şekillendiğini bildirmiştir.

Koyunlarda servikal epitelin, salgı hücreleri ve silyumlu hücrelerden oluşan tek katlı prizmatik epitelten ibaret olduğu kaydedilmiştir (5, 11, 28). More (28), servikal epitelin internal ağızda uterusun prizmatik epiteli ile eksternal ağızda da çok katlı yassı vaginal epitel ile karıştığını, hatta çok katlı epitel üzerinde prizmatik hücrelerin bulunduğunu gözlemiştir.

Heydon ve Adams (18), inek servikal epiteline göre koyun ve keçide salgı hücrelerinin daha az salgı materyali içerdiğini ve salgı materyalinin hücrenin apikalinde yer aldığını saptamış, kriplerin dip kısımlarındaki hücrelerin daha fazla salgı materyali içerdiğini vurgulamışlardır. More (28) da koyunlarda epitel yüksekliği ve salgı aktivitesinin östrüs süresince maksimum düzeyde olduğunu bildirmiştir.

Koyun serviksinde epitelyal mukusun histokimyasal özelliklerini inceleyen araştırmacılar (2, 18), villusların üst kısımlarında sulfomüsin, kriplerde ise siyalomüsin tabiatında salgının yoğun olduğunu tespit etmişlerdir. Normal ve clover disease (CD)'li koyunlarda karşılaştırmalı olarak çalışan Adams (2), östrüs siklusu boyunca mukus histokimyasının değişmediğine dikkati çekmiştir. Aughey ve arkadaşları (5) ise koyunlarda asit ve nötr musinlerin karışımından oluşan servikal salgının, servikste düzensiz bir şekilde dağıldığını bildirmişlerdir.

Servikal salgının spermatozoon üzerine etkisi

henüz araştırılmakta olan bir konudur. Bu konudaki araştırmaların bir kısmı servikal salgının glikozaminoglikan (GAG) içeriği, bir kısmı da glikoprotein içeriği üzerine yönelmiştir. Bir grup araştırmacı (15, 22, 23, 24) kondroitin sülfat A,B,C, hiyaluronik asit, heparin ve heparan sülfatın boğa spermatozoonları için akrozom reaksiyonunu teşvik edici rol oynadığını bildirmişlerdir. Koyunlarda yapılan bir araştırmada (21) östrual fazda heparin benzeri GAG'ın, luteal fazda ise kondroitin sülfat GAG'ların arttığı tespit edilmiştir. Handrow ve arkadaşları (15), GAG'ların akrozom reaksiyonunu teşvik edici özelliklerini, aminoşeker-disakkarit ünitelerindeki sülfat kısımlarına bağlamaktadırlar.

İnek serviko-vaginal salgısı üzerinde yapılan bir araştırmada (30), östrojen etkisi ile artan sekresyonun, spermatozoonun penetrasyonu için optimum şartları sağladığı bildirilmektedir. Ovariectomize koyunlara östradiol benzoat uygulayan Heydon ve Adams (18), servikste özellikle siyalomüsin tabiatında salgının arttığını tespit etmişlerdir. İnsan serviksinde glikoprotein sentezi üzerine çalışan Roelofs ve arkadaşları (31) gliko protein sentezinin artmasının östradiol konsantrasyonundaki artış ile ilgili olduğunu, progesteron konsantrasyonundaki değişikliğin glikoprotein sentezine etkili olmadığını bildirmişlerdir. Mullins ve Saacke (29), inek serviksinde spermatozoonun membran bütünlüğünün folliküler faz boyunca siyalomüsinin baskın olduğu oluklarda korunduğunu tespit etmişlerdir. İncelenebilen literatürde, koyunlarda, servikal salgının glikoprotein içeriği ile spermatozoon arasında etkileşimin olup olmadığını araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Bu çalışmada, servikal fonksiyonların yerine getirilmesinde servikal epitelin önemi düşünülerek, Akkaraman ırkı koyunlarda servikal epitelin histolojik ve epitelyal salgının histokimyasal özelliklerinin, östrüs siklusunun fazlarına göre araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak, Konya Et ve Balık Kurumu ile Konet Mezbahaları'ndan sağlanan Akkaraman ırkına ait koyun serviksleri kullanıldı. Koyunların östrüs siklusunun hangi fazında oldukları, nekroskopik muayene ile ovaryumları incelenerek

tespit edildi. Anı zamanda koyunlardan toplanan perifer kan örneklerinde Progesteron düzeyleri (ng/ml), Lalahan Hayvancılık Nükleer Araştırma Merkezi'nde RIA yöntemi ile ölçüldü. Progesteron değerleri 0.5-1 ng/ml arasında olanlar geçiş döneminde kabul edilip çıkarıldıktan sonra geriye kalan 10 adet folliküler fazda (progesteron değeri 0.5 ng/ml'ye kadar) ve 12 adet luteal fazda (progesteron değeri 1 ng/ml'nin üzerinde) olan koyun serviksi materyal olarak kullanıldı. Herbir serviksin kranial, orta ve kaudal kısımlarından alınan dokular % 10'luk nötr formolde tespit edildi. Parafinde bloklanan dokulardan alınan 5-6 mikronluk kesitlere aşağıdaki işlemler uygulandı:

-Genel histolojik inceleme için Crossmon tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyama tekniği (8),

-Nötr mukosubstansın demonstrasyonu için Periodic Acid-Schiff (PAS) reaksiyonu (26).

-Asidik mukosubstansın demonstrasyonu için Alcian Blue (AB) pH 2.5 metodu (25)

-Nötr ve asidik mukosubstansın birlikte demonstrasyonu için PAS/AB pH 2.5 kombine boyama yöntemi (25),

-Sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstansın birlikte demonstrasyonu için Aldehyde Fuchsin (AF)/AB pH 2.5 kombine boyama yöntemi (33),

-Glikojen demonstrasyonu için % 1 celloidin uygulanmış kesitlere Best Carmine metodu ve daha sonra da glikojenin kontrolü için diastaz* (PBS pH 6.0'da 1/1000 malt diastazi)/Best carmine metodu (25),

-Hyaluronik asit, kondroitin sülfat A ve C'nin sindirimi için Hiyaluronidaz** (50mg/100ml acetic acetat buffer pH 6.0)/AF/AB pH 2.5 metodu (9).

-Karboksilli asidik mukosubstansın kontrolü için Siyalidaz*** (1unit/ml 0.005 M acetate buffer pH 5.5)/AF/AB pH 2.5 metodu (9).

Bulgular

Materyalden toplanan perifer kan örneklerinde tespit edilen progesteron değerleri (ng/ml) tablo 1'de gösterildi. Nekroskopik olarak ovaryumların in-

celenmesi ile elde edilen bulgularla birlikte progesteron değeri 0.5 ng/ml'ye kadar olan koyunlar folliküler fazda, 1 ng/ml'nin üzerinde olanlar ise luteal fazda kabul edildiler.

Üçlü boyama yöntemi uygulanarak yapılan genel histolojik incelemeler sonucunda, servikal mukozanın lumene doğru villus denilebilecek çıkıntıları (Resim IV) ve epitel katın L. propriya'ya doğru yaptığı girintilerle kripleri (Resim 1K) şekillendirdiği görüldü.

Tek katlı prizmatik epitelden oluşan L. epitelyalis'i salgı yapan hücreler (Resim 2A s) ve silyumlu hücrelerin (Resim 2A oklar) oluşturduğu tespit edildi. Bunlara ilaveten, villusların apikalinde asidofilik hücrelere (Resim 2B) ve yer yer açık hücrelere (Resim 2C oklar) de rastlandı. Serviksin kaudalinde tek katlı prizmatik epitelin çok katlı yassı vaginal epitel ile karışmış olduğu görüldü. Tek katlı prizmatik epitelin bazen çok katlı yassı vaginal epitel bölgeleri arasında bazen de çok katlı epitelin üzerinde olduğu gözlemlendi.

Luteal faza göre östrual fazda, hücrelerin boyalarının daha yüksek ve özellikle kriplerde olmak üzere, salgı materyalinin daha fazla olduğu tespit edildi.

Servikal mukozada genelde beze rastlanmadı. Yalnız östrual fazda 3 ve luteal fazdaki 4 koyuna ait (Tablo 1x) servikte L. propriya'da tubuler kıvrımlı bezler (Resim 3A X) tespit edildi. Belirtilen vakalardan luteal fazda olan bir koyuna ait servikte glanduler hiperplazi bölgeleri (Resim 3B X) saptandı. Bu bezleri oluşturan hücreler arasında silyumlu hücrelerin bulunmadığı görüldü. Diğer vakalarda tespit edilen bezlerin bazılarının çok sayıda açık hücre bulundurdıkları (Resim 4A oklar) gözlemlendi. Aynı vakalarda serviksin ortası ve kaudalinde epitelde hiperplazi alanlarına, çoğunlukla kriplerde olmak üzere çok katlı yassı epitel metaplazisine (Resim 4B K) rastlandı.

Servikal dokuya uygulanan PAS ve AB pH 2.5 metodları ile salgı yapan hücrelerin PAS (+) ve AB (+) materyal bulundurdıkları tespit edildi. Silyumlu hücreler, asidofilik hücreler ve açık hücrelerin PAS (+) ya da AB (+) materyal bulundurmadıkları gözlemlendi. PAS/AB pH 2.5 boyama metodu ile servikal epitelde, özellikle villusların laterali ve apikalinde PAS (+) ve AB (+) materyalin karışık olduğu (Resim

* α -amilase : Type VIII A, a.2771, Sigma,

** Hyaluronidase : Type V, H.6254, Sigma,

*** Neuraminidase : Type V, N.2876, Sigma.

5A X), kriptlerde ise AB (+) materyalin baskın olduğu (Resim 5B K) tespit edildi. Folliküler fazda özellikle kriptlerde olmak üzere AB (+) materyalin arttığı gözlemlendi. AF/AB pH 2.5 boyama metodu uygulanarak villusların laterali ve apikalinde asidik mukosubstansın, karboksilli ve sülfatlı asidik mukosubstansın karışımı halinde bulunduğu, kriptlerde ise karboksilli asidik mukosubstansın baskın olduğu (Resim 6A X) saptandı. Folliküler fazda, özellikle kriptlerde olmak üzere tüm servikste, karboksilli asidik mukosubstansın arttığı gözlemlendi.

L. propriya'sında bez tespit edilen materyalin de histokimyasal reaksiyonlara benzer şekilde cevap verdiği tespit edildi. Bezlerin ise farklı miktarlarda salgı materyali içerdikleri (Resim 6B x) görüldü. Açık hücrelerin çok sayıda olduğu bezlerde salgı materyalinin bulunmadığı (Resim 6C x) gözlemlendi. Bezlerdeki salgı materyalinin, karboksilli asidik mukosubstans ağırlıkta olmak üzere, asidik ve nötr mukosubstansın karışımı olduğu, kombine boyama metodları ile tespit edildi.

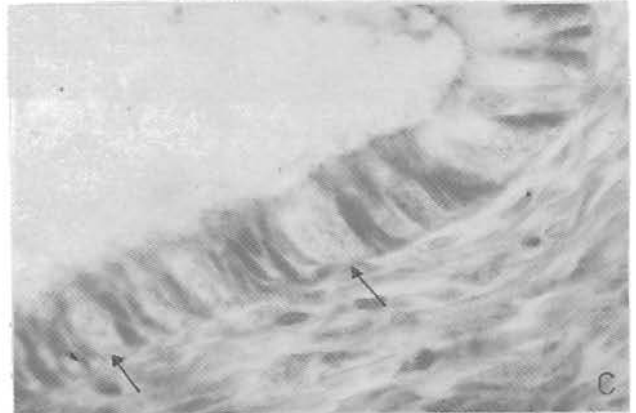
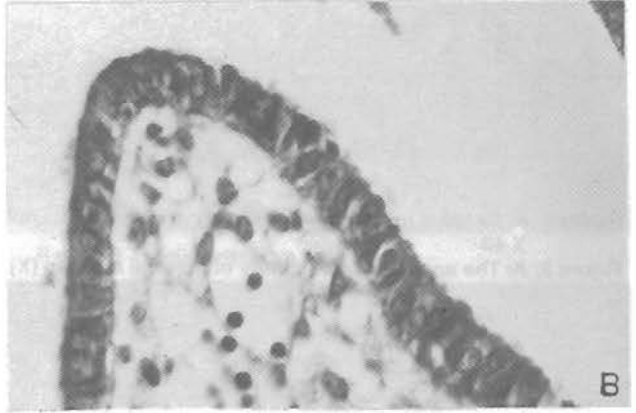
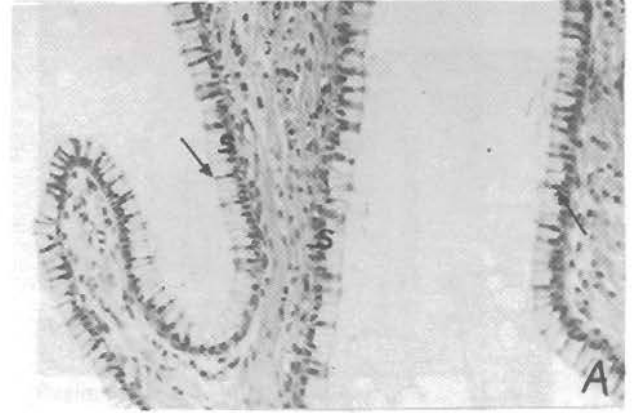
Glikojen demonstrasyonu için, % 1 celloidin uygulanmış kesitlere Best carmine metodunun uygulanması sonucunda, servikal epitelin glikojen içermediği saptandı.

Hiyaluronidaz sindirimini takiben uygulanan AF/AB pH 2.5 boyama metodu ile villusların laterali ve apikalinde, kriptlerde olduğundan daha fazla bulunan AF (+) materyalin verdiği reaksiyonun zayıfladığı görüldü.

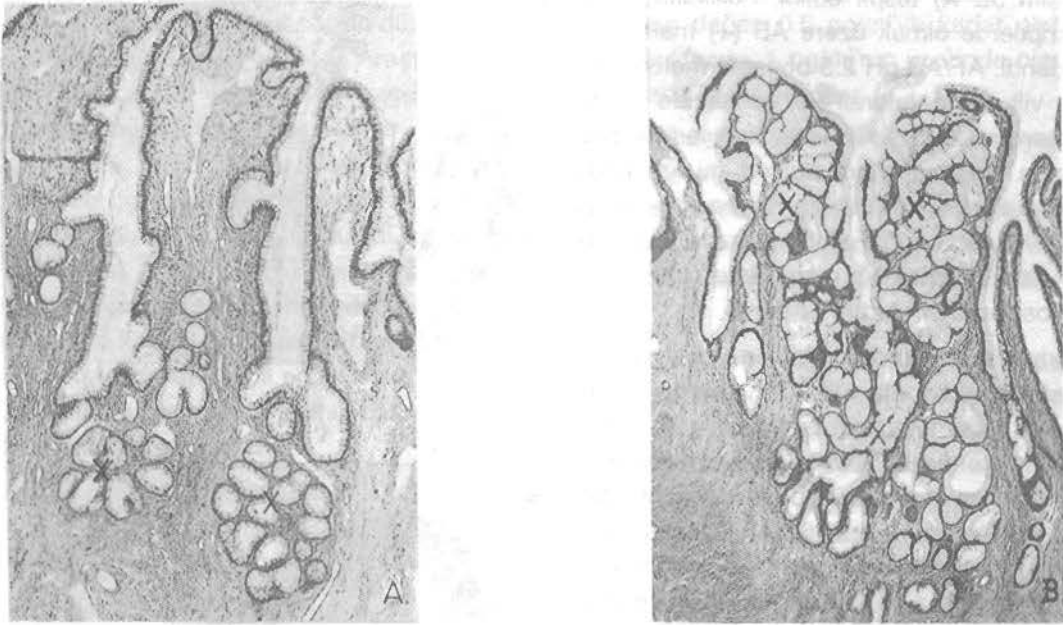
Siyalidaz sindirimini takiben AF/AB pH 2.5 metodunun uygulanması ile siyalik asit bulunduran AB (+) materyalin sindirildiği gözlemlendi.



Resim 1: Servikal mukozanın mikroskopik görünümü. Villus (V), kript (K). Triple., X 30
Figure 1: Microscopic appearance of the cervical mucosa. Villus (V), crypt (K). Triple., X 30

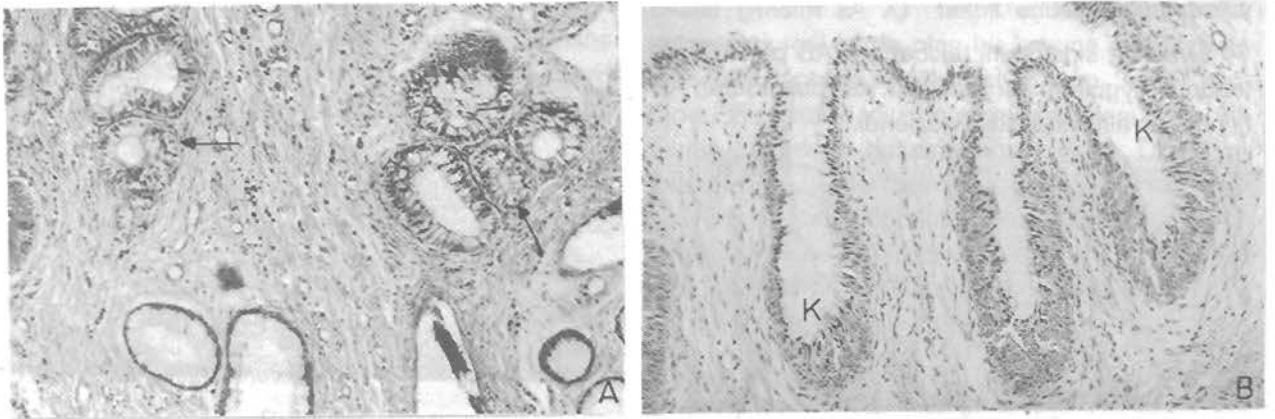


Resim 2: Servikal epiteli oluşturan hücre tipleri. A: Salgı yapan hücreler (s), Silyumlu hücreler (oklar). Triple., X 170, B: Asidofilik hücreler. Triple., X 600, C: Açık hücreler (oklar). Triple., X 400
Figure 2: The cell types of cervical epithelium. A: Secretory cells (s), ciliated cells (arrows). Triple., X 170, B: Acidophilic cells. Triple., X 600, C: Clear cells (arrows). Triple., X 400



Resim 3: A: Servikal mukozadaki bezlerin görünümü (X). Triple., X 50, B: Servikal mukozada glanduler hiperplazi (X). Triple., X 40

Figure 3: A: The appearance of glands of cervical mucosa (X). Triple., X 50, B: Glandular hyperplasia in cervical mucosa (X). Triple., X 40

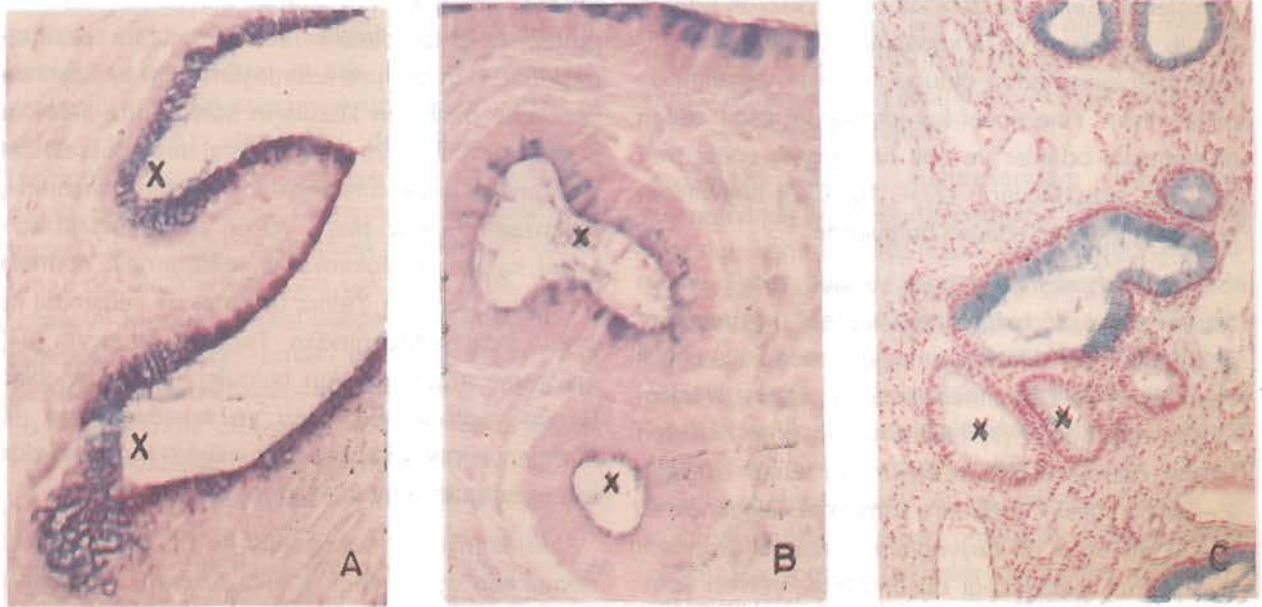


Resim 4: A: Servikal bezlerde açık hücrelerin görünümü (Oklar). Triple., X 100, B: Kriptlerde çok katlı yassı epitel metaplazisi (K). Triple., X 140

Figure 4: A: The appearance of clear cells of cervical glands (Arrows). Triple., X 100, B: Squamous metaplasia at crypts (K). Triple., X 140



Resim 5: A: Servikal epitelde nötr ve asidik mukosubstansın görünümü (x). PAS/AB pH 2.5., X 230 B: Kriptlerde baskın olan AB (+) materyal (K). PAS/AB pH 2.5., X 180
Figure 5: A: The appearance of neutral and acidic mucosubstance of cervical epithelium (x). PAS/AB pH 2.5., X 230, B: The AB (+) material is abundant in crypts (K). PAS/AB pH 2.5., X 180



Resim 6: A: Kriptlerde baskın olan AB (+) materyalin görünümü (X) (Luteal faz). AF/AB pH 2.5., X 220, B: Servikal bezlerde salgı materyalinin görünümü (x). AF/AB pH 2.5., X 370, C: Salgı materyali içermeyen bezler (x). AB pH 2.5., X 125
Figure 6: A: The appearance of dominant AB (+) material in crypts (X) (Luteal phase). AF/AB pH 2.5., X 220, B: The appearance of secretory material in cervical glands (x). AF/AB pH 2.5., X 370, C: The glands which has not been secretory material (x). AB pH 2.5., X 125

Tartışma ve Sonuç

Genel histolojik incelemeler sonucunda tespit edilen servikal epitelin salgı yapan hücreler ve silyumlu hücrelerden oluştuğuna dair bulgular, araştırmacılarınki (5, 11, 28) ile uyumludur. Bu hücrelere ilaveten gözlenen asidofilik hücreler ile açık hücreler, servikal epitelin fonksiyon aşamalarına ait görünümleri olabilir. Kaudal servikste tek katlı prizmatik epitelin çok katlı yassı epitel ile karışmış olduğuna dair elde edilen bulgular More'un (28) bulguları ile uyumludur.

Sunulan çalışma ile araştırmacıların (18, 28) koyun serviksinde bez bulunmadığına ilişkin bulguları desteklenmiştir. Bez tespit edilen yedi vakada ise bezlerin yanında epitelde hiperplazi alanları ve çok katlı yassı epitel metaplazisi de tespit edilmiştir. Hatta bir vakada glanduler hiperplazi saptanmıştır. Araştırmacılar (2, 3, 17), uzun süre östrojenik etkili bitkilerle beslenen koyunlarda meydana gelen "clover disease" de ya da östradiol 17 β uygulamasından sonra servikal mukozada bez tespit etmişlerdir. Servikste glanduler hiperplazi de Adams (2) ile Barberan ve arkadaşları (6) tarafından fitoöstrojenlerin neden olduğu infertilite vakalarında bildirilmiştir. Yine epitel kat içerisinde tespit edilen hiperplastik odaklar ve çok katlı yassı epitel metaplazisi, araştırmacıların (2, 4, 16) CD'li hayvanların serviksinde tespit ettikleri bulgulardır.

Yapılan çalışmada yedi vakada tespit edilen "clover disease" bulgularının nedeni, koyunlarının östrojenik etkili bitkilerle örneğin, yonca veya çeşitli çayır otları ile beslenmiş olmaları olabilir. Nitekim Coşkun ve İmir'in (7) bildirdiklerine göre belirtilen bitkiler, östrojenik aktivite açısından benzer bitkilerin içerisinde yüksek değerlere sahiptirler. Diğer açıdan kesimden önce bu hayvanlara özel besi programı uygulanmış olabileceği düşünülürse, verilen yemlerde östrojenik etkili mikotoksin (Zearalenon) de bulunuyor olabilir ya da koyunlara östrojenik etkili anabolikler (Zeranol) uygulanmış olabilir. Acet ve arkadaşları (1) başta Konya olmak üzere Bursa ve Adana illerinde faaliyet gösteren yem fabrikalarından sağlanan karma yem ve yem mad-

delerinde yaptıkları araştırmada değişen miktarda "Zearalenon" tespit etmişlerdir.

More'un (28) servikal epitelin yüksekliği ve salgı aktivitesinin östrüs süresince maksimum olduğuna ilişkin bulguları yapılan çalışmada da folliküler faza ait preparatlarda tespit edilmiştir. Bir grup araştırmacı (2, 18) servikste villusların üst kısımlarında sülfomusun, kriptlerde siyalomusun tabiatında salgının yoğun olduğunu, siklus boyunca salgı materyalinin kompozisyonunun değişmediğini bildirmiştir. Aughey ve arkadaşları (5) servikal salgının asit ve nötr münlerin karışımı olduğunu ileri sürmektedirler. Sunulan çalışmada da servikal salgının asit ve nötr mukosubstansın karışımı olduğu; villusların laterali ve apikalinde nötr ve asidik (sülfatlı ve karboksilli) mukosubstansın karışımı halinde bulunduğu, kriptlerin tabanında ise asidik mukosubstansın (karboksilli) baskın olduğu tespit edildi. Folliküler fazda, özellikle kriptlerde olmak üzere karboksilli asidik mukosubstansın arttığı gözlemlendi.

Tang ve Adams (34), kalıcı fitoöstrojen infertilitesi gösteren koyunlarda uterus ve servikste, protein ve glikoprotein sentezinin arttığını tespit etmişlerdir. Barberan ve arkadaşları (6) 9 ay boyunca yonca ile beslenen kuzuların serviksinde sekretör hücre hiperplazisi ve yaygın nötral mukopolisakkarit varlığından bahsetmektedirler. Yapılan çalışmada, mukozasında bez tespit edilen materyaldeki epitelyal salgının histokimyasal özelliklerinin normale benzediği görüldü. Yalnız bezlerin de çalışması ile salgı miktarı artacağından, Tang ve Adams'ın (34) glikoptein artışına ilişkin bulguları desteklenebilir. Bunun yanında, Barberan ve arkadaşlarının (6) nötral mukopolisakkarit artışına ilişkin bulguları elde edilen bulgularla uyumsuzdur.

Histokimyasal reaksiyonlar ile CD'li hayvanların normalden ayırt edilemediğini bildiren araştırmacılar (2, 17) servikal-bezlerin bazılarının belirlenemeyen mukus, bazılarının ise çok az PAS (+) materyal içerdiklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada da bezlerin varlığı dışında, L. epitelyalis'te epitelyal salgı materyalinin histokimyasal özelliklerinin farklı olmadığı görüldü: Bezlerin ise tamamının salgı fa-

aliyetinde bulunmadığı, değişik miktarlarda salgı materyali içerdikleri gözlemlendi. Salgı materyali ile dolu olan hücrelerden oluşan bezlerde AB (+) materyalin baskın olduğu dikkati çekti.

Koyunlarda servikal salgının hiyaluronidaz ve siyalidaz sindirimi ile incelenmesine ilişkin daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışmada, servikal dokuya hiyaluronidaz sindiriminden sonra AF/AB pH 2.5 metodunun uygulanması ile kondroitin sülfat A, C ve hiyaluronik asitin, villusların lateral ve apikalindeki epitelde diğer kısımlardan daha fazla bulunduğu anlaşıldı. Siyalidaz sindiriminden sonra ise kriplerde yoğun olan asidik mukosubstansın, siyalik asit bulunduran asidik mukosubstans olduğuna karar verildi.

Sonuç olarak, Akkaraman ırkına ait koyun serviksini L. epitelyalis'inin, salgı yapan hücreler ve silümlü hücreleri içeren tek katlı prizmatik epitelde olduğu, kaudal servikte çok katlı yassı vaginal epitel ile karıştığı, servikal mukozanın bez bulundurmadığı tespit edildi. Servikal salgının nötr ve asidik mukosubstansın karışımı olduğu, östrual fazda özellikle kriplerde olmak üzere asidik mukosubstans miktarının arttığı gözlemlendi. Ayrıca bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa olmak üzere, literatürde "clover disease" de serviks için bildirilmiş olan bulguları gösteren vakalar tespit edildi. Belirtilen materyal çalışmada kullanılan materyalin % 31.8'ini oluşturmakla birlikte, besi programı uygulanmış koyunların yanında infertil olanların da kesime getirilmiş olabileceği düşünülmelidir.

Ülkemizde, koyun sürülerinde fertilitate kontrolüne, mera yem bitkilerinin kompozisyonuna ve döl verimiyle ilgili sorunlarla fitoöstrojenler yada östrojenik etkili maddeler arasında ne gibi bir ilişkinin olduğunun araştırılmasına yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Serviks uteri'nin reproduksiyondaki önemi henüz araştırılmakta olan bir konudur. Bu çalışma, ülkemizde koyun serviksini araştırılmasına yönelik yapılan ilk çalışma olup, koyun reproduktif sistemi üzerinde yapılacak olan çalışmalara da yardımcı olacaktır.

Tablo 1: Perifer kan örneklerinde tespit edilen progesteron düzeyleri.

Hayvan No:	Foliküler Faz (ng/ml)	Hayvan No:	Luteal Faz (ng/ml)
1	0.15	11	3.1
2	0.38	12	x3.5
3	0.1	13	1.05
4	x0.50	14	x1.48
5	0.18	15	x2.0
6	x0.2	16	x1.5
7	0.1	17	1.28
8	0.13	18	1.0
9	0.11	19	1.2
10	x0.50	20	1.6
		21	1.35
		22	2.60

x: L. propria'sında bez tespit edilen materyalin progesteron değerleri.

Kaynaklar

- 1-Acet, A., Demet, Ö., Tuncer, N., Coşkun, B., Traş, B., Ağaçdelen, H.H. (1989) Karma yem ve maddelerinde zearalenon düzeylerinin yüksek performans likit kromatografi yöntemi ile araştırılması, S.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, 5, 1, 37-49.
- 2-Adams, N.R. (1976) Pathological changes in the tissues of infertile ewes with clover disease, J. Comp. Path., 86, 29-35.
- 3-Adams, N.R. (1986) Measurement of histological changes in the cervix of ewes after prolonged exposure to oestrogenic clover or oestradiol 17-B, Aust. Vet. J., 63, 9, 279-282.
- 4-Adams, N.R. (1990) Permanent infertility in ewes exposed to plant oestrogens, Aust. Vet. J., 67, 6, 197-201.
- 5-Aughey, E., Munro, C.D., Calder, A.A., Coultts, J.R.T. and Fleming, R. (1981). The histology and ultrastructure of the pregnant sheep cervix uteri, J. Anat., 132, 448.
- 6-Barberan, M., Valderrabano, J., Bascvas, C.A. (1990) histopathological changes in ewe lambs exposed to prolonged diet on lucerne, Ann. Rech. Vet., 21, 2, 161-166.
- 7-Coşkun, B ve İmir, M. (1991) Yem maddelerindeki östrojenik etkili maddeler ve hayvanlar üzerindeki etkileri, Türk Veteriner Hekimliği Dergisi, 3, 11, 21-26.
- 8-Crossmon, O. (1937) A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved, Anat. Rec., 69, 31-38.
- 9-Culling, C.F.A., Allison, R.T. and Barr, W.D. (1985) Carbohydrates. In "Cellular Pathology Technique", 4 th. Ed., P. 214. Butterworths, London.
- 10-Dellmann, H.D. and Carithers, R.W. (1968) Glands in the cervix uteri of the domestic goat (Capra hircus L.), Am. J. Vet. Res., 29, 7, 1509-1511.
- 11-Ei-Banna, A.A. and Hafez, E.S.E. (1972) The uterine cervix in mammals, Am. J. Obstet. Gynec., 112.
- 12-Fateh El-Bab, M.R. and El-Naggar, M.A. (1975) A histological and histochemical study of the cervix uteri of the buffalo cow during the estrus cycle, Zbl. Vet. Med. A., 22, 164-175.
- 13-Hafez, E.S.E. (1982) Structural and ultrastructural parameters of the uterine cervix, Obstet. Gynecol. survey, 37, 8, 507-516.
- 14-Hafez, E.S.E, El-Banna, A.A. and Yamashita, T. (1972) Histochemical characteristics of cervical epithelia in rabbits and

cattle, *Acta Histochem*, 39, 195-205.

15-Handrow, R.R., Lenz, R.W. and Ax, R.L. (1982) Structural comparisons among glycosaminoglycans to promote on acrosome reaction in bovine spermatozoa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107, 4, 1326-1332.

16-Hearnshaw, H., Brown, J.M., Cumming, I.A., Goding, J.R. and Mairn, M. (1972) Endocrinological and histopathological aspects of the infertility in the ewe caused by oestrogenic clover, *J. Reprod. Fertil.*, 28, 160-161.

17-Heydon, R.A. and Adams, N.R. (1977) Histochemical studies on cervical glands in ewes with clover disease. *J. Comp. Path.*, 87, 353-361.

18-Heydon, R.A. and Adams, N.R. (1979) Comparative Morphology and mucus histochemistry of the ruminant cervix: Differences between crypt and surface epithelium, *Biol. Reprod.*, 21, 557-562.

19-Joshi, C.L., Nanda, B.S. and Saigal, R.P. (1976) Histomorphological studies on the female genitalia of ageing goat. II. Glands in cervix uteri, *Anat. Anz. Bd.*, 139, 193-199.

20-Kristinsson, G. und Wibdorf, H. (1985) Bau der cervixuteri und verlauf des canalis cervicis uteri beim schaf, *tierärztl. Prax.*, 13, 299-305.

21-Lee, C.N., Clayton, M.K., Bushmayer, S.M., First, N.L. and 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.

22-Lee, C.N., Handrow, R.R., Lenz, R.W. and Ax, R.L. (1985) Interactions of seminal plasma and glycosaminoglycans on acrosome reactions in bovine spermatozoa in vitro, *Gamet Res.* 12, 345-355.

23-Lee, C.N., Lenz, R.W. and Ax, R.L. (1983) Bovine sperm undergo capacitation when exposed to glycosaminoglycans in vitro, *J. Anim. Sci.*, 57, 352.

24-Lenz, R.W., Ax, R.L., Grimek, H.J. and First, N.L. (1982). Proteoglycan from bovine follicular fluid enhances an acrosome reaction in bovine spermatozoa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 106, 1092-1098.

25-Luna, L.G. (1968) Methods for carbohydrates and mucoproteins. In "Manual of Histologic staining methods of the Armed Forces Institute of pathology", 3rd, Ed., pp. 163, 168, 171.

Mc Graw-Hill Book Company, New York.

26-Mc Manus, J.F.A. (1946) Histological demonstration of mucin after periodic acid, *Nature*, 158, 202.

27-Moghissi, K.S. (1966) Cyclic changes of cervical mucus in normal and progestin-treated women, *Fertil. Steril.*, 17, 663-675.

28-More, J. (1984) Anatomy and histology of the cervix uteri of the ewe: New insights, *Acta Anat.*, 120, 156-159.

29-Mullins, K.J. and Saacke, R.G. (1989) Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to mucus secretion and sperm transport, *The Anat. Rec.*, 225, 106-117.

30-Paleologou, A.M. (1979) A study of the cervico-vaginal secretions of cows during the different phases of the estrus cycle, *J. Ins. Anim. Technic.*, 30, 2, 83-94.

31-Roelofs, H.J.M., Kooij, R.J. and Kramer, M.F. (1983) Cycle variations in glycoprotein synthesis in the columnar cells of the human cervix, *J. Reprod. Fert.*, 68, 69-75.

32-Şato, M., Masaki, J., Ohta, M., Nihei, A. (1982) Morphological observations of the crypt and mucus of the bovine cervix, *Japanese J. Zool. Sci.*, 53, 6, 381-387.

33-Spicer, S.S. and Mayer, D.B. (1960) Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combined aldehyde fuchsin-alcian blue staining, *Techn. Bull. Regist. Med. Techn.*, 30, 53-60.

34-Tang, B.Y. and Adams, N.R. (1981) Oestrogen receptors and metabolic activity in the genital tract after ovariectomy of ewes with permanent infertility caused by exposure to phyto-oestrogens, *J. Endocrinol.* 89, 3, 365-370.

35-Weikel, W., Wagner, R. and Moll, R. (1987) Characterization of subcolumnar reserve cells and other epithelia of human uterine cervix. Demonstration of diverse cytokeratin polypeptides in reserve cells, *Virchows Arch. B.*, 54, 98-110.

36-Wordinger, R.J., Dickey, J.F. and Hill, J.R. (1972) Influence of a progestagen on the histology and carbohydrate histochemistry of the bovine cervical mucosa, *J. Anim. Sci.* 35, 4, 830-835.

37-Wrobel, K.H. (1971) Histologische, histochemische und elektronenmikroskopische untersuchungen an der cervix uteri des rindes, pp. 24-53, Verlag Paul Parey, Berlin.