

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KADMİYUM VERİLEN DIŞI SIÇANLARDA ÜREME SİSTEMİ  
ÜZERİNE MELATONİN VE SELENYUMUN ETKİSİ**

**İbrahim Aydın CANDAN**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM**

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından 4310- D1-15proje numarası ile desteklenmiştir**

**Tez. No: 138**

**ISPARTA-2016**

## KABUL ve ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM  
SDÜ, Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD



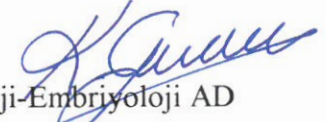
Üye : Prof. Dr. Osman SULAK  
SDÜ, Tıp Fakültesi Anatomi AD



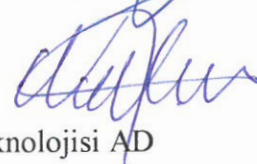
Üye : Doç. Dr. Nilüfer Şahin CALAPOĞLU  
SDÜ, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD



Üye : Yrd. Doç. Dr. Kanat GÜLLE  
Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD



Üye : Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL  
SDÜ, Sağlık Bilimleri Fakültesi Gıda Teknolojisi AD



ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa KAYAN  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

### BEYAN

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

**“Kadmiyum (Cd) Verilen Dişi Sıçanlar’da Üreme Sistemi Üzerine Melatonin ve Selenyumun (Se) Etkisi”** adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

İbrahim Aydın CANDAN

İmza

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM

İmza

## ÖNSÖZveTEŞEKKÜR

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, 64 adet dişi sıçan kullanılmıştır. Kadmiyumun etkilerini araştırmak amacıyla sıçanlara intraperitoneal anestezi yapılarak dişi genital organları alındı.Çalışmamızın kadmiyumun zararlı etkilerinin ortaya konması ve bunlardan korunma ve tedavisine yeni bakış açılarıyla katkıda bulunmasını temenni ediyoruz.

Çalışma öncesi Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Etik Kurul onayı alınmıştır (Tarih: 04.12.2014, Karar No: 01). Çalışmamızdan elde edilen bulgular ve sonuçlar doğrultusunda kadmiyumun zararlı etkilerinin selenyum ve melatonin gibi antioksidanlar kullanılarak en aza indirgenmesinin mümkün olacağı kanaatindeyiz.

Bu tez çalışmamda yardımlarını benden esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Meral ÖNCÜ başta olmak üzere, jüri üyelerimden Anatomi A.D. üyesi Prof. Dr. Osman SULAK, Tıbbi Biyoloji Anabilim Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Kanat GÜLLE ve Sağlık Bilimleri Fakültesi Gıda Teknolojisi A.D. Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL'A teşekkür ederim.

Gerek deneylerin yapılması sırasında gerekse tezimin her aşamasında benden desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarımdan başta Meltem ÖZGÖÇMEN olmak üzere İlkay ARMAĞAN ve Murat SEVİMLİ' YE çok teşekkür ediyorum.

Beni tezimin her aşamasında destekleyen ve sürekli özverili davranan sevgili eşim Büşra CANDAN'A teşekkür ediyorum.

Beni bugünlere gelmemi sağlayan ve tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan anneme ve babama (rahmetli) teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

|  |             |
|--|-------------|
| <b>KABUL ve ONAY SAYFASI</b> .....                           | <b>ii</b>   |
| <b>BEYAN</b> .....   | <b>iii</b>  |
| <b>ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR</b> .....                               | <b>iv</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....                                     | <b>v</b>    |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....                  | <b>viii</b> |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b> .....                                 | <b>ix</b>   |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....                                 | <b>x</b>    |
| <b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....                                 | <b>xi</b>   |
| <b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....                                | <b>xiii</b> |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....  | <b>1</b>    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....                               | <b>6</b>    |
| 2.1. Kadmiyumun Apoptotik Etkileri.....                      | 6           |
| 2.2. Kadmiyumun Antiapoptotik Etkisi .....                   | 6           |
| 2.3. Kadmiyumun Antianjiogenik Etkileri .....                | 6           |
| 2.4. Kadmiyumun Ovaryum Üzerine Etkileri .....               | 7           |
| 2.5. Ovaryumun Embriyolojisi.....                            | 7           |
| 2.6. Ovaryum Anatomisi .....                                 | 9           |
| 2.7. Ovaryumun Fizyolojisi.....                              | 9           |
| 2.8. Ovaryumun Histolojisi .....                             | 10          |
| 2.9. Tuba Uterina'nın (Fallop Tüpleri) Anatomik Yapısı ..... | 15          |
| 2.10. Tuba Uterina'nın Histolojisi.....                      | 16          |
| 2.10.1. Tunica Mukoza .....                                  | 16          |
| 2.10.1.1. Epitel .....                                       | 16          |
| 2.10.1.2. Lamina Propriya.....                               | 17          |
| 2.10.1.3. Tunika Muskularis .....                            | 17          |
| 2.10.1.4. Tunika Seroza.....                                 | 18          |
| 2.11. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi .....                     | 18          |
| 2.12. Uterus Anatomisi.....                                  | 19          |
| 2.13. Uterus Histolojisi.....                                | 20          |
| 2.13.1. Perimetrium .....                                    | 20          |
| 2.13.2. Miyometriyum .....                                   | 20          |
| 2.13.3. Endometriyum .....                                   | 21          |

|   |    |
|---|----|
| 2.14. Uterus Fizyolojisi .....                                    | 24 |
| 2.15. Adezyon Molekülleri.....                                    | 26 |
| 2.15.1. Kaderinler .....  | 27 |
| 2.15.1.1. Kaderin Kompleksinin Bileşenleri .....                  | 28 |
| 2.15.1.2. Tip 1 Kaderinler .....                                  | 28 |
| 2.15.1.3. Tip 2 Kaderinler .....                                  | 29 |
| 2.15.1.4. Desmozomal Kaderinler.....                              | 29 |
| 2.15.1.5. Protokaderinler .....                                   | 29 |
| 2.15.2. Selektinler .....   | 29 |
| 2.15.2.1. Selektinlerin Fonksiyonları ve Lökosit Göçü .....       | 30 |
| 2.15.3. İmmünoglobulin Süper Ailesi.....                          | 31 |
| 2.15.3.1. ICAM-1 .....  | 31 |
| 2.15.3.2. ICAM-2 .....  | 32 |
| 2.15.3.3. ICAM-3 .....  | 32 |
| 2.15.3.4. LFA-2 (CD2).....  | 32 |
| 2.15.3.5. LFA-3 (CD 58).....                                      | 33 |
| 2.15.3.6. NCAM (CD 56).....                                       | 33 |
| 2.15.3.7. PECAM-1 (CD 31) .....                                   | 33 |
| 2.15.3.8. VCAM-1 (CD106) .....                                    | 33 |
| 2.15.4. İntegrinler .....   | 34 |
| 2.15.4.1. $\beta$ 1 İntegrinler.....                              | 35 |
| 2.15.4.2. $\beta$ 2 İntegrinler.....                              | 35 |
| 2.15.4.3. $\beta$ 3 İntegrinler.....                              | 36 |
| 2.15.4.4. İntegrinlerin Fonksiyonları.....                        | 36 |
| 2.16. Antioksidanlar .....  | 37 |
| 2.16.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....                   | 38 |
| 2.17. Melatonin .....   | 38 |
| 2.17.1. Melatonin'in Sentez ve Metabolizması .....                | 39 |
| 2.17.2. Melatonin Sentezinin Düzenlenmesi .....                   | 39 |
| 2.17.3. Melatonin'in Antioksidan Etkisi.....                      | 40 |
| 2.18. Selenyum.....   | 41 |
| 2.19. Metalloiyoninler .....                                      | 43 |
| 2.19.1. Metalloiyoninlerin Çeşitleri ve Dokulardaki Dağılımı..... | 43 |
| 2.19.2. Dokularda Metalloiyonin'lerin Tespit Yöntemleri.....      | 44 |

|   |            |
|---|------------|
| 2.19.3. Metalloproteinlerin Görevleri ve Bazı Organlardaki Dağılımı ..... | 44         |
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>  | <b>48</b>  |
| 3.1. Gereç .....  | 48         |
| 3.1.1. Deney Hayvanları .....   | 48         |
| 3.1.2. Kullanılan Kimyasallar .....                                       | 48         |
| 3.2. Yöntem .....   | 48         |
| 3.2.1. Deney Planı.....   | 48         |
| 3.2.2. Histolojik Doku Takip Çalışmaları.....                             | 50         |
| 3.2.3. Apoptotik DNA Analizi.....   | 54         |
| 3.2.4. Biyokimyasal Analiz .....  | 55         |
| <b>4. BULGULAR .....</b>  | <b>58</b>  |
| 4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....                                   | 58         |
| 4.1.1. MDA Sonuçları.....   | 58         |
| 4.1.2. Protein Analizi Sonuçları.....                                     | 60         |
| 4.1.3. Katalaz Enzimi Sonuçları .....                                     | 60         |
| 4.1.4. GSPx Sonuçları.....  | 61         |
| 4.2. Apoptotik DNA İzolasyonu Sonuçları .....                             | 62         |
| 4.3. Histolojik Bulgular .....  | 63         |
| 4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular .....                                   | 81         |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>  | <b>99</b>  |
| <b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>  | <b>105</b> |
| <b>ÖZET.....</b>  | <b>106</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>   | <b>107</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>  | <b>108</b> |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>kDA</b>                     | : Kilo Dalton                                |
| <b>Cadmium</b>                 | : Cd   |
| <b>Melatonin</b>               | : Mel  |
| <b>Selenyum</b>                | : Se   |
| <b>Glutathione peroxidase</b>  | : GSH-Px                                     |
| <b>Catalase</b>                | : Cat  |
| <b>Malondialdeyde</b>          | : MDA  |
| <b>Reaktif oksijen türleri</b> | : ROS  |
| <b>Wnt</b>                     | : Wnt sinyal yolağı                          |
| <b>Roc</b>                     | : Hücre içi sinyal düzenleyicisi             |
| <b>Rho</b>                     | : Hücre içi sinyal düzenleyicisi             |
| <b>CD42</b>                    | : Hücre içi sinyal düzenleyicisi             |
| <b>ALCAM</b>                   | : Aktive lökosit hücre adezyon molekülü      |
| <b>VCAM-1</b>                  | : Vasküler Hücre Adezyon Molekülü 1          |
| <b>ICAM-1</b>                  | : İntraselüler Hücre Adezyon Molekülü 1      |
| <b>NECAM</b>                   | : Nöral Hücre Adezyon Molekülü 1             |
| <b>PECAM</b>                   | : Platelet Endotelyal Hücre Adezyon Molekülü |
| <b>APC</b>                     | : Adenomatous polyposis coli                 |
| <b>PKC</b>                     | : Protein Kinaz C                            |
| <b>IL-1</b>                    | : İnterlökin 1                               |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | : Tümör Nekroz Faktör alfa                   |
| <b>IFN-<math>\gamma</math></b> | : İnterferon gama                            |
| <b>LFA</b>                     | : Lökosit Fonksiyon İlişkili Molekül         |
| <b>LPS</b>                     | : Lipopolisakkarit                           |



## TABLÖLAR DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablo 1.</b> Deney grupları, verilen kimyasalların dozları ve günleri.....                | 50 |
| <b>Tablo 2.</b> İki çalışmanın absorbans örnekleri.....                                      | 56 |
| <b>Tablo 3.</b> MDA standart sonuçları .....   | 58 |
| <b>Tablo 4.</b> MDA sonuçları.....   | 59 |
| <b>Tablo 5.</b> Katalaz enziminin sonuçları .....  | 61 |
| <b>Tablo 6.</b> GSPx sonuçları.....  | 62 |
| <b>Tablo 7.</b> Over dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme.....         | 66 |
| <b>Tablo 8.</b> Tuba uterina dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme..... | 67 |
| <b>Tablo 9.</b> Uterus dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme .....      | 68 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 1.</b> Ovaryumun histolojik görüntüsü .....                            | 11 |
| <b>Şekil 2.</b> Primordiyal folikülden primer foliküle geçiş .....              | 14 |
| <b>Şekil 3.</b> Teka ve granüloza hücreleri ile oosit arasındaki iletişim ..... | 15 |
| <b>Şekil 4.</b> Hücre-Hücre adezyon molekülü tipleri. ....                      | 27 |
| <b>Şekil 5.</b> Kaderin- katenin ve p120cas ilişkisi.....                       | 28 |
| <b>Şekil 6.</b> Selektinlerin genel yapısı.....                                 | 30 |
| <b>Şekil 7.</b> Ig süper ailesi üyeleri.....                                    | 31 |
| <b>Şekil 8.</b> İntegrinlerin temel yapısı.....                                 | 34 |



## RESİMLER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| <b>Resim 1.</b> DNA elektroforezde yürütülmesi sonucu oluşan görüntü.....                        | 63 |
| <b>Resim 2.</b> Kontrol grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu .....                              | 69 |
| <b>Resim 3.</b> Kontrol grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu .....                         | 69 |
| <b>Resim 4.</b> Kontrol grubuna ait sıçanların uterus dokusu.....                                | 70 |
| <b>Resim 5.</b> Kadmiyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu.....                              | 70 |
| <b>Resim 6.</b> Kadmiyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu.....                         | 71 |
| <b>Resim 7.</b> Kadmiyum grubuna ait sıçanların uterus dokusu .....                              | 71 |
| <b>Resim 8.</b> Melatonin grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu .....                            | 72 |
| <b>Resim 9.</b> Melatonin grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu .....                       | 72 |
| <b>Resim 10.</b> Melatonin grubuna ait sıçanların uterus dokusu.....                             | 73 |
| <b>Resim 11.</b> Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu.....                             | 73 |
| <b>Resim 12.</b> Selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu.....                        | 74 |
| <b>Resim 13.</b> Selenyum grubuna ait uterus dokusu.....   | 74 |
| <b>Resim 14.</b> Kadmiyum+melatonin grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu .....                  | 75 |
| <b>Resim 15.</b> Kadmiyum+melatonin grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu.....              | 75 |
| <b>Resim 16.</b> Kadmiyum+melatonin verilen gruba ait sıçanların uterus dokusu.....              | 76 |
| <b>Resim 17.</b> Kadmiyum+Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu .....                   | 76 |
| <b>Resim 18.</b> Kadmiyum+selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu .....              | 77 |
| <b>Resim 19.</b> Kadmiyum+selenyum grubuna ait uterus dokusu .....                               | 77 |
| <b>Resim 20.</b> Melatonin+Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu .....                  | 78 |
| <b>Resim 21.</b> Melatonin+selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu.....              | 78 |
| <b>Resim 22.</b> Melatonin+selenyum grubuna ait uterus dokusu.....                               | 79 |
| <b>Resim 23.</b> Kadmiyum+Melatonin+Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu .....         | 79 |
| <b>Resim 24.</b> Kadmiyum+melatonin+selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu .....    | 80 |
| <b>Resim 25.</b> Kadmiyum+Melatonin+selenyum grubuna ait uterus dokusu. ....                     | 80 |
| <b>Resim 26.</b> Kontrol grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları ..... | 83 |
| <b>Resim 27.</b> Kontrol grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları .....                  | 84 |
| <b>Resim 28.</b> Kadmiyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları..... | 85 |
| <b>Resim 29.</b> Kadmiyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları.....                  | 86 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Resim 30.</b> Melatonin grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları .....                  | 87 |
| <b>Resim 31.</b> Melatonin grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları .....                                   | 88 |
| <b>Resim 32.</b> Selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları .....                   | 89 |
| <b>Resim 33.</b> Selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları.....                                     | 90 |
| <b>Resim 34.</b> Kadmiyum+melatonin grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları .....         | 91 |
| <b>Resim 35.</b> Kadmiyum+melatonin grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları .....                          | 92 |
| <b>Resim 36.</b> Kadmiyum+selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları .....          | 93 |
| <b>Resim 37.</b> Kadmiyum+selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları .....                           | 94 |
| <b>Resim 38.</b> Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları .....         | 95 |
| <b>Resim 39.</b> Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları .....                          | 96 |
| <b>Resim 40.</b> Kadmiyum+Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları..... | 97 |
| <b>Resim 41.</b> Kadmiyum+Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları.....                  | 98 |

## GRAFİKLER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| <b>Grafik 1.</b> MDA standart grafiği .....         | 58 |
| <b>Grafik 2.</b> Gruplara göre MDA düzeyleri.....   | 59 |
| <b>Grafik 3.</b> Protein standart grafiği .....     | 60 |
| <b>Grafik 4.</b> Katalaz aktivitesi .....           | 61 |
| <b>Grafik 5.</b> Gruplara göre GSPx aktivitesi..... | 62 |



## 1. GİRİŞ

Günümüzde doğal dengeyi, insan, bitki ve havan sağlığını tehdit eden sebeplerin başında çevre sorunları gelmektedir. Bilimsel ve teknolojik gelişmeler, bir taraftan çok sayıda kimyasal maddenin faydalı amaçlar için kullanılmasına olanak sağlarken, diğer yandan da birçok problemin ortaya çıkmasına neden olur. Sanayileşme ve dolayısıyla daha modern bir yaşam oluşturma amacıyla devam eden tüm çalışmalar, gerekli önlemler alınmadığı takdirde çevre kirliliğine neden olabilmektedir. Çevre kirliliğine sebep olan kimyasal kirleticiler arasında; çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri açasından, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve daima biyolojik sistemlere yönelik genelde zararlı etki göstermeleri nedeniyle ağır metaller ayrı bir önem taşımaktadır. Bu metaller kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikerek toksik etki oluşurmaktadır (1). Ağır metallerin toksisitesi hemen hemen bütün fizyolojik mekanizmalar üzerine doğrudan ve dolaylı olarak etkilere sahiptir ve toksisitenin patofizyolojisi genel olarak benzerdir (2). Toksikite oluşumunda doz, etkilenme yolu, etkilenme süresi ve sıklığı önemlidir. Diğer taraftan etkilenilen maddenin kimyasal şekli, diğer kimyasallarla etkileşimi, yaşam biçimi ve bağışıklık sistemi ağır metallerin oluşturacağı toksisiteyi değiştirebilmektedir (3). Endüstriyel ve çevresel kirleticiler olarak önemi son yıllarda daha da belirginleşen, çevredeki en toksik ağır metallerden biri kadmiyumdur (4).

Kadmiyum, 1817 yılında Friedrich STROMEYER tarafından keşfedilmiş toksik ağır bir metaldir (5). Birinci dünya savaşı sırasında kalay metalinin yokluğu nedeniyle kadmiyum kalayın yerini almış ve besin kaplarının kaplanmasında kullanılmıştır (6-8). Ancak asit özellikteki besinlere geçen kadmiyumun insan ve hayvanlarda zehirlenmeye yol açması nedeniyle kullanımı bırakılmıştır. İkinci dünya savaşında da aynı birinci dünya savaşındaki nedenlerden dolayı bu kez konserve kaplarda kalay yerine kadmiyum kullanılmıştır. Ancak tekrar zehirlenme olaylarının nüksetmesi sebebiyle kullanımı yasaklanmıştır. 1946'da Japonya'da 'itai itai' hastalığı adı verilen epidemik olayın kadmiyum zehirlenmesi ile ilgili olduğu saptanmıştır (6,9). Bu duruma Japonya'da kurşun ve kadmiyum filizlerinin çıkarıldığı maden ocaklarının oluşturduğu atıkları Jintzu nehrine boşaltmaları neden olmuştur. Kadmiyum ve kurşun karışan nehri halkın içme ve tarlalarını sulamak için

kullandığından bu ağır elementler besin zinciriyle halka ulaşmış ve bu hastalığa sebep olmuştur. Yıllar sonra buradaki halkta şiddetli romatizmal ağrılarla bu olay hastalık şeklinde kendini göstermiştir (6,7,10). Kadmiyum zehirlenmesinin sebep olduğu bu epidemik olay bu konuda birçok çalışma ve araştırmaların yapılmasına sebep olmuştur.

Kadmiyum (Cd) periyodik tablonun 2B grubunda yer alan hava, su ve toprakta belirli düzeyde bulunan ağır metaldir (11, 12). Endüstriyel kullanımı 50-60 yıl öncesine dayanmakta olan kadmiyum, nonkorroziv özelliği sebebiyle genellikle kaplama ve galvanizasyon ile uçak sanayinde, nükleer santrallerde nötron absorblayıcı olarak, insektisit formülasyonlarında, plastik yapımında stabilizatör olarak, boya ve nikel kadmiyumlu pil sanayisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kurşun üretiminde ise yan ürün olarak ortaya çıkmaktadır (5).

Bunun dışında fosfatlı gübrelerde, deterjanlarda ve rafine petrol türevlerinde bulunur ve bunların yaygın kullanımından dolayı büyük bir kadmiyum kirliliği ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kadmiyum sigaranın majör bileşenlerinden biridir (14). Kadmiyumun yaygın kullanım alanlarının çok olması ve sigarada da bulunması, bu ağır metalin toksik etkilerinin detaylı bir şekilde çalışılmasına sebep olmuştur (13). Bir paket sigarada yaklaşık olarak 16 µg kadar kadmiyum bulunduğu tespit edilmiştir (15).

Kadmiyumun kümülatif bir toksin olmasının ve buna bağlı olarak kronik kadmiyum zehirlenmeleri için etkili bir tedavinin olmamasının nedeni aşırı uzun bir biyolojik yarı ömre sahip olmasıdır (16). Kadmiyumun insandaki yarılanma ömrü 15-20 yıl arasında değişkenlik gösterir (11). Kadmiyumun vücuttaki emilme oranı vücuda giriş yoluna bağlıdır. Solunumla yaklaşık olarak %50 kadmiyum emilmektedir. Vücuttaki farklı organlara kan yoluyla hızlı bir şekilde kadmiyuma yüksek derecede bağlanma afinitesi gösteren metalotiyonin sayesinde çeşitli organ ve dokularda birikir (17). Kadmiyum toksisitesine duyarlı ovaryum ve testis gibi üreme organlarıyla embriyolar üzerinde kadmiyum oldukça ağır hasara neden olmaktadır (18).

Kadmiyumun çok düşük ortam derişimleri bile canlılar üzerinde toksik etkiler meydana getirdiğinden, besin zincirinin çeşitli basamaklarındaki dağılımını belirlemek büyük önem arz etmektedir.

Kadmiyum, Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi tarafından bir insan karsinogeni olarak sınıflandırılır. Güçlü bir mitojen olmamakla beraber gen ekspresyonu üzerindeki etkilerinden dolayı bir promotör (başlatıcı) olarak rol oynamaktadır. Kadmiyum, birçok mekanizmayla kansere neden olmaktadır. Bunlardan en önemlileri; anormal gen ekspresyonu, DNA onarıcı enzimleri inhibe ederek DNA onarım sürecinin inhibisyonu, oksidatif stresin indüklenmesi ve E-kaderin fonksiyon bozukluğudur (17).

Vücuttaki serbest radikal seviyeleri bütün hücrelerin büyüme ve gelişimleri için önemlidir. Serbest radikal türleri hücrelerin bütün hücre komponentlerini (lipitler, proteinler, karbonhidratlar,) etkiler. Serbest radikallerin etkilerinden biri, az doymuş yağ asitlerinin oksidasyonudur. Özellikle hidroksil (OH<sup>•</sup>), peroksil (RO<sup>•</sup>) ve alkol (ROO<sup>•</sup>) radikalleri az doymuş yağ asitlerinin oksidasyonunda önemli rol oynar. Serbest radikallerin bu artışına bağlı olarak meydana gelen lipitler okside olur ve o andan itibaren membranlar zarar görmeye başlarlar (19).

Kadmiyumla oluşturulmuş böbrekteki proksimal tübül hasarlarının erken evrelerinde oksidatif stresin de etkilerinin olduğuna inanılmaktadır (20).

Yukarıda bahsetmiş olduğumuz organlarda (üreme organları, böbrek) kadmiyumun bu dokuların membranlarında farklı yollarla lipid peroksidasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (19).

Lipid peroksidasyonu uzun süreden beri kadmiyum toksisitesi için primer mekanizma olarak değerlendirilmektedir. Bu yüzden kadmiyumun oluşturduğu oksidatif strese karşı koruyucu ve tedavi amacıyla antioksidan etkili ajanların verilmesi gerektiği araştırılmaktadır (21).

Selenyum, selenite, selenate, selenomethionine ve selenocysteine gibi farklı formlarda bulunur (22). Selenyumun yarılanma ömrü verilen doza göre değişmektedir. Selenyum aynı zamanda thioredoxin reductase'ın bir bileşenidir. Bu enzim DNA sentezinde, oksidatif strese karşı savunmada rol oynayan ve protein onarımında gerekli olan önemli bir enzimdir (23). Selenyum serbest radikallerin



üretimini azaltmak ve önlemek için gerekli olan, doymamış yağ asitlerinden türeyen ve peroksitleri yok ettiği düşünülen bir elementtir. Glutasyon peroksidaz enziminin aktivitesinin sağlanması için gerekli olan çok önemli bir kofaktördür (24). Bazı metabolik hastalıkların ve kanser türlerinin önlenmesinde rol oynayan selenyumun biyolojik önemi, antioksidan özellikteki glutasyon peroksidaz (GSH-PX) enziminin kofaktörü olmasından kaynaklanmaktadır. Her alt ünitesinde selenosistein şeklinde bir adet selenyum atomu içeren glutasyon peroksidaz, hücre içerisinde hidrojen peroksitin suya indirgenmesinde rol oynar (25). Son yıllarda çevredeki ve besinlerdeki seviyelerine bağlı olarak insanda bulunmasından dolayı selenyum ile ilgili çalışmalar artmıştır. Bu elementin siroz, kanser, diyabet veya kalp damar rahatsızlıklarını önlemek veya tedavi etmek için uygun değer günlük alımının ne kadar olacağı hakkında çeşitli farklı görüşler vardır. Birçok hayvanda ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar birkaç dejeneratif hastalığa karşı selenyumun besinsel bir faktör olarak koruyucu etkisinin olabileceği belirlenmiştir (26). Selenyum bağımlı enzimlerin reaktif oksijen radikallerini yıkarak oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır. İnsanlarda birçok biyolojik fonksiyona sahip olan selenyumun en önemli ve bilinen fonksiyonu antioksidan etkisidir (27).

Melatonin, pineal bezin majör hormonudur. Melatonin salgılanma hızını belirleyen en önemli faktör, çevrenin aydınlık veya karanlık olmasıdır. Genel olarak, ışık melatonin yapımını azaltır, karanlık ise artırır. Melatonin sentezinde başlangıç maddesi, pineal bez tarafından plazmadan alınan ve bir indol aminoasit olan "triptofan" dır. Triptofan esansiyel bir aminoasit olup, besinlerle dışarıdan alınması gerekir. Triptofan, pinealositlerde triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofan'a hidroksillenir. 5-hidroksitriptofan aromatik L-aminoasit dekarboksilaz ile 5-hidroksitriptamin (serotonin)'e dekarboksillenir. Serotonin, N-asetiltransferaz (NAT) enzimi ile N-asetil serotonin'e ve bu da, hidroksiindol-o-metil transferaz etkisi ile melatonin (N-asetil-5 metoksitriptamin)'e dönüşür. Melatonin, pineal bezde depolanmadan hızlı bir şekilde komşu kapiller damarlara geçer (28). Melatonin, MSS'de etkilerini G proteinlerine bağlı membran reseptörleri olan MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden oluşturur (29). Melatonin yüksek düzeyde lipofilik ve hidrofilik özelliğe sahiptir, vücutta depolanmadan hızla kan ve vücut

sıvılarına karışır. Kanda melatoninin % 70'i albumine bağılı olarak bulunur (30). Organizma, serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarını önlemek için bir antioksidan savunma sistemi geliştirir. Antioksidan savunma sistemi; serbest radikaller ve ilgili ürünlere dolaylı yoldan etki eden “antioksidan enzimler” ve doğrudan etki eden “melatonin gibi düşük ağırlıklı moleküllerden” oluşmaktadır (31). Melatoninin yarılanma ömrü 30 dakikadır (32). Vücutta, serbest radikaller (oksidan maddeler) ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge vardır ve bu dengenin oksidanların lehine bozulması durumuna, ‘oksidatif stres’ denir. Pineal bezden salgılanan ana ürün olan melatoninin; sirkadiyen ve mevsimsel ritim, retinal fizyoloji, immün ve üreme fonksiyonları üzerinde etkileri vardır (30, 33).

Bu literatür bilgileri ışığında çalışmamızda, en önemli endüstriyel ve çevresel kirletici ağır metallere biri olan kadmiyum gavyaj yoluyla ratlara verilmiştir. Serbest radikal süpürücüsü olarak doğada önemli bir antioksidan olan selenyum ve melatonin intraperitoneal olarak verilmiştir. Kadmiyuma bağılı olarak dişi üreme sistemi üzerindeki toksik etkilerini antioksidan ajanlar olan selenyum ve melatoninin birlikte ve ayrı ayrı olarak uygulanması yoluyla koruyup koruyamayacağını araştırmayı planladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kadmiyumun Apoptotik Etkileri

Cd birçok somatik (CEM-C12 insan T lenfositlerinde, CL-3 insan karsinoma hücrelerinde ve insan HeLa hücrelerinde, fare karaciğerinde, sıçan akciğer hücrelerinde ve fibroblast hücrelerinde, domuz böbrek hücrelerinde) ve üreme (Sıçan testisinde) hücrelerinde in vitro ve in vivo olarak apoptoza neden olmuştur (34). Kadmiyum, apoptoza iki ana yol ile götürmektedir: 1-Dışsal yolak, 2-İçsel yolak.

Sıçan böbrek epitelyum hücrelerinde, kadmiyum transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kapa B (NF-kB; nuclear factor kapa-light-chain-enhancer of activated B cells) aktivasyonunun baskılanması ile apoptoza neden olduğu tespit edilmiştir (12).Sıçan fibroblast hücrelerinde ise kadmiyumun, doza ve zamana bağlı olarak kaspaz-3'ün aktivasyonu vasıtasıyla apoptoza neden olduğu saptanmıştır. Kadmiyumun toksisitesi reaktif oksijen türlerinin üretimi ve lipid peroksidasyonu ile alakalıdır (35).

### 2.2. Kadmiyumun Antiapoptotik Etkisi

Kadmiyumun apoptoza sebep olmasıyla birlikte apoptoz oluşumunu engellediği de tespit edilmiştir. Cd'nin Çin hamster ovaryum hücrelerinde, kromiyum neden olduğu apoptozu önlediği saptanmıştır. Bu çalışmada kadmiyumun engelleyici etkisinin kaspaz 3'ü önlemesine bağlı olduğu açıklanmıştır. Kadmiyum, apoptotik etki gösteren kromiyum ile karşılaştırıldığında apoptozu önlediği gösterilmiştir (36). Ayrıca renal mesengial hücrelerde hem tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ) ile tetiklenen dışsal yolağı hem de kaptopetkin ile tetiklenen içsel yolağı engelleyerek antiapoptotik etki göstermektedir (7). Kadmiyum, çeşitli hücrel protoonkogenler c-jun ve c- myc içeren çeşitli genlerin ekspresyonunu teşvik eder, nükleer translokasyonu ve protein kinaz C'nin aktivitesini uyarır (34).

### 2.3. Kadmiyumun Antianjiogenik Etkileri

Kadmiyum, kaderin aracılı hücre-hücre adezyonunu bozar ve angiogenez için gerekli bir adezyon molekülü olan vasküler endotelial kaderin adezyon molekülünün

yapısını değiştirerek angiogenezi inhibe etmektedir. Endotelyal hücrelerin çoğalmasını, göçünü ve tüp şeklinin oluşmasını engeller (37). Buna ek olarak vasküler yatak oluşumunu, 5 µM kadmiyum etkili olarak anjiogenezi ve endotelyal hücrelerdeki nitrik oksit üretimini engellediği yapılan deneyler sonucu tespit edilmiştir (15). Kadmiyum vaskülarizasyonun kurulması için gerekli hipoksik şartlarda, hipoksi uyaran faktör-alfa (Hypoxia-inducible factor; HIF- $\alpha$ ) proteinin miktarını azaltır. Fakat HIF- $\alpha$  mRNA düzeylerini etkilemez (38).

#### **2.4. Kadmiyumun Ovaryum Üzerine Etkileri**

Kadmiyum, ovaryum morfogenezini değiştirebilir. Ovaryum foliküllerinin normal gelişimini önleyebilir. CdCl<sub>2</sub>'nin farklı konsantrasyonları seks hormonlarının salınımı üzerine farklı etkiler göstermektedir. Düşük doz CdCl<sub>2</sub> bu tarz bir etki göstermez (39). Dişi sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, ovulasyona yakın zamanda kadmiyum verilmesinin ovulasyonu durdurduğu saptanmıştır. Bununla birlikte kadmiyumun, ovaryumun granüloza hücrelerinde, folikül uyarıcı hormon (FSH) ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) ile uyarılan progesteron birikimini engellediği bildirilmiştir (40,41). Kadmiyum granüloza hücre morfolojisi ve steroid biyosentezi üzerine direkt etki ederek progesteron üretimini azaltır ve hücre bağlantılarını engeller (42).

#### **2.5. Ovaryumun Embriyolojisi**

Embriyonun cinsiyeti, genetik olarak döllenme sırasında belirlenmiş olmasına karşın, gelişimin 7. Haftasına kadar gonadlar, erkek ya da dişi yapısal özelliklere sahip değildir. Gonadlar başlangıçta sölom epitelinin çoğalması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş, bir çift uzunlamasına düzenlenmiş genital ya da gonadal kabartılar halinde belirirler. Gelişimin 6. haftasına değin genital kabartılar içinde germ hücreleri görülmez (43).

Epiblastın posteriyör bölgesindeki yaklaşık olarak 6 hücresi yüksek miktarda kemik morfogenetik protein (Bone Morphogenetic Protein 4; BMP-4) alırlar ve transkripsiyon faktör BLIMP-1 eksprese ederek primordiyal germ hücresi öncülleri olurlar. Öncüller germ çizgisini meydana getirirler. Memelilerde germ çizgisinin gelişiminin başlaması öncüller içindeki pluripotensiyi devam ettiren genlerin

aktivasyonun gerektirir. 3. haftada primordiyal germ hücreleri yolk kesesine ameboid hareketle göç etmektedirler. Pluripotensi genleri olan Oct-4, Nanog ve SOX-2 yolk kesesinin ekstraembriyonik mezoderm duvarındaki germ hücrelerinde tekrar aktive olur ve böylece germ hücreleri son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek, 5. haftanın başında ilkel gonadlara ulaşır, 6. haftada da genital kabartıları işgal etmektedirler (44).

İlkel cins hücrelerinin ilkel gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabartıların epiteli çoğalır ve epitelyum hücreleri altlarındaki mezenşimin içine gömülmektedirler. Bunlar burada ilkel cinsiyet kordonları adı verilen düzensiz şekilli kolonlar meydana getirmektedir.

Dişi embriyolarında gonadal gelişim daha yavaştır. X kromozomları ovaryumun gelişimi için gerekli olan genler içerir; ovaryumun meydana gelmesinde otozomal bir genin rol oynadığı tespit edilmiştir. İlkel seks kordonları dişi embriyolarda erkekteki kadar belirgin değildir. Gonad taslağının medullasına kadar uzanırlar. Normalde rete ovarii ve ilkel seks kordonları dejenere olarak ortadan kalkar ve yerlerini ovaryum medullasını oluşturan damarlı stromayı bırakır. Erken fetal dönemde kortikal kordonlar denilen ikinci cinsiyet kordonları, gelişmekte olan gonadın yüzey sölom epitelinden başlayarak, alttaki mezenşime doğru gelişmeye başlar. Kortikal kordonlar sölom epitelinin çoğalmasıyla kalınlaşırken, ilkel cins hücreleri kordonların içine karışırlar. Yaklaşık 16. haftada bu kordonlar primordiyal folikül denilen ayrı hücre gruplarına bölünürler.

Her grupta ortada ilkel cins hücrelerinden köken alan bir oogonyum (oogonium) ve onun çevresinde, kortikal kordon epitelyum kökenli tek sıra yassı folikül hücrelerinden meydana gelir. Fetal dönemde milyonlarca oogonium aktif olarak mitozla çoğalır. Doğum öncesi, oogonyumların bir kısmı dejenere olurken, geri kalanı büyüyerek primer oositleri oluştururlar. Doğumdan sonra oogonyum oluşmaz.

Doğumdan sonra iki milyon kadar primer oosit hala canlılığını korumaktadır. Ovaryum hilusunda, periton mezoteli ile devam eder. Ovaryum folikülleri biçimlenirken yüzey epiteliyle olan bağlantılarını kaybetmeye başlarlar. Yüzey epiteli ile ovaryum korteksi arasında tunika albuginea (tunica albuginea) denilen ince

fibröz bir kapsül meydana gelmektedir. Mezonefroz yapısal olarak gerilemeye başlarken, ovaryum mezonefrozdan ayrılır ve mezovaryum adı verilen kendi mezoteriyle vücut duvarına asılır (45).

## **2.6. Ovaryum Anatomisi**

Ovaryumlar, erkekteki testislerin karşılığı olan, iri badem büyüklüğünde, 3x2x1 boyutlarında pelvis minor'da fossa ovarica'da yerleşmiş bir çift organdır. Ovaryum'un extremitas tubaria ve uterina olmak üzere iki ucu vardır. Extremitas tubaria'ya lig. suspensorium ovarii tutunur ve arteriavena ovarica bu ligamentin içinde yer alır. Extremitas uterina'ya ise lig. ovarii proprium tutunur ve bu ligament aracılığıyla ovaryum uterus'a tutunur (46). Bu ligament, gubernakulum kalıntısıdır. Gubernakulum, gelişen gonadları pelvis zeminine bağlayan embriyonik fibröz bir kordondur(47).

## **2.7. Ovaryumun Fizyolojisi**

Döngünün ilk yarısında primer foliküllerin oluşumu gonadotrop hormonlardan bağımsızdır ancak daha sonraki gelişme FSH gereklidir. Foliküler evrenin başında artan FSH salınımı primer foliküllerin büyümesini uyarır, granüloza hücrelerinde FSH reseptörlerinin sayısını artırmaktadır. FSH'ın etkisiyle granüloza hücreleri çoğalır ve bu hücrelerde aromataz enzimi yapılır. Yüksek östrojen seviyesi FSH'ı azaltırken, LH'ı artırmaktadır. LH hormonunun reseptörleri teka interna hücrelerinde bulunur. Bu hücrelerde kolesterolden androjenler sentezlenerek salgılanır ve difüzyonla granüloza hücrelerine geçer, aromataz androjenleri östrojenlere dönüştürür.

Östrojen teka internaya geçer ve burada bulunan kılcal damarlarla genel dolaşıma geçmektedirler. Artan östrojenler direkt olarak hipofizi etkiler ve dolaylı olarak da, GnRHsentezini baskılayarak FSH salgılanmasını kısıtlar. Östrojenler ovulasyon öncesi LH salgısının artmasını ve ovulasyon gerçekleşmesini sağlar. FSH ve östrojenlerin etkisiyle granüloza ve teka hücrelerinde LH reseptörleri artınca LH'ın etkisi gözlenir. Bu da luteal evrede progesteron oluşumunu artırırken östrojen yapımını azaltmaktadır. Progesteron endometriyumu olası gebeliğe hazırlar, LH'ı baskılar ve folikül gelişmesine engel olur. FSH azalması folikülleri olumsuz etkiler.

En büyük folikül gelişmeyi sürdürse de diğerleri gerileyerek atreziye uğramaktadırlar (48).

## **2.8. Ovaryumun Histolojisi**

Ovaryumlar yaklaşık 3 cm uzunluk, 1,5 cm genişlik ve 1cm kalınlıkta badem biçiminde yapılardır(49) (Şekil 1).

Ovaryumda üç katman gözlenir:

### **Epitelyum (Epitel Katı)**

Ovaryum yüzeyini örter. Bu kat tek sıra kübik epitelden yapılmıştır. Germinatif epitelyum olarak adlandırılır. Epitelin peritona bakan yüzünde mikrovilluslar az sayıda kinosilyalar izlenir. Hücre sitoplâzması mitokondriyonlar ve pinositoz veziküllerden oluşur.

### **Tunika albuginea**

Bağ dokusundan yapılmıştır. Yaş ilerledikçe kalınlaşır ve sertleşir. Az damarlı, düzensiz bağ doku yapısındadır. Kollajen lifler yüzeye koştur demetler oluştururlar.

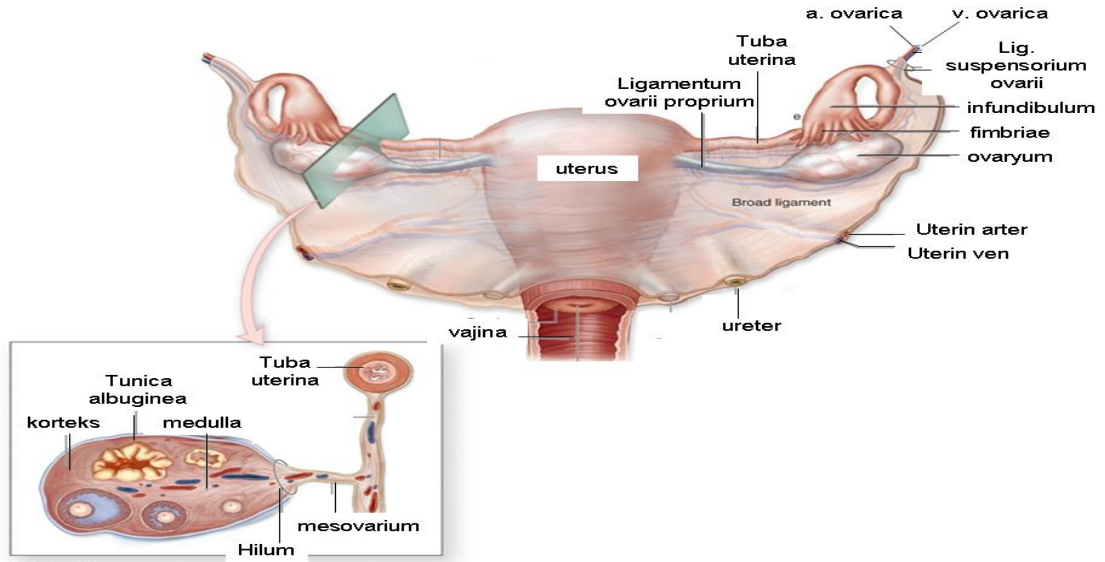
### **Ovaryum stroması**

Ovaryumun temel ve destek dokusudur. Ovaryumlar dışta korteks, içte medulla olmak üzere iki bölgedir (46).

**I) Korteks (cortex ovarii):** Organın dış ve işlevsel bölümüdür. Çeşitli gelişim aşamalarındaki ovaryum folikülleri ve korpus luteum yapılarını içerir. Korteks stromasında kollajen, elastik lifler ve lif ağları ile ince uzun mekik şeklinde stroma hücreleri bulunur. Stroma hücreleri fibroblastlardan ayrıcalı olarak hormon salgılayan teka interna hücrelerine dönüşebilen hücrelerdir.

**II) Medulla (medulla ovarii):** Kan ve lenf damarları ile sınırlardan zengin, bulunduğu açık renk iç bölgedir. Korteks ve medullayı yapısal olarak kesin sınırla ayırmak olası değildir. Medulla stroması kortekse benzer. Elastik liflerden zengin, düz kas hücreleri içeren fibroelastik gevşek bağ dokusundan oluşmuştur. Medullada ayrıca oksidasyon enzimlerini ve diğer enzimleri içeren hücreler bulunur. Bunların sayıları yaşla artar, menapozda %80 oranında bulunurlar.

İntertisyel hücreler çok köşeli şekle sahip, ortada yuvarlak nukleusu ve belirgin nukleolusu olan epitelooid hücrelerdir. Sitoplazmalarında küçük yağ damlacıkları bulunur. Luteinize hücelere benzedikleri için atreziye giden foliküllerin teka internalarından oluştukları düşünölmektedir. Bunlar ovaryum stromasında tek tek ya da gruplar halinde bulunurlar ve östrojen salgırlar. Hilus hücreleri, başka bir diğer iri epitelooid hücre grubudur; küçük adacıklar şeklinde hilusta bulunurlar. Testisin Leydig hücelerine (endocrinocytus interstitialis) benzer ve sitoplâzmalarında yağ damlacıkları, lipofüksin pigmenti, Reinke kristallerini içerir; androjen salgırlar. Kortikomeduller stroma geçişinde argirofili gösteren nöroendokrin (APUD) hüceler, kadınlarda %6 oranında tespit edilmiştir (48).



Şekil 1. Ovaryumun histolojik görüntüsü

### Ovaryum Folikülleri

Ovaryum folikülleri (folliculi ovarii) ortada bir oosit ve bunun etrafında tek ya da çok sıralı folikül (granüloza) hüceleriyle çevrili yuvarlak ya da oval yapılarıdır. Fetal yaşam sırasında oluşan foliküller (primordiyal foliküller, folliculus ovaricus primordialis) tek sıralı yassı folikül hüceleriyle çevrilidirler ve ortada bir primer oosit içerir. Bu foliküller, kortikal bölgenin en üst katmanında yer alır (51). Bu kortikal alanda birkaç kan damarı mevcuttur. Folikülleri tek bir kapiller halkakuşatmaktadır (50). Primordiyal folikülün içindeki oosit yaklaşık 25µm çapında ve yuvarlak biçimdedir. Büyük bir nukleus ve oldukça büyük bir nukleolus vardır. Bu hüceler, I. Mayoz bölünmenin profaz evresindedir.



Sitoplâzmadaki organeller çekirdeğe yakın yerleşiktirler. Sitoplazmada çok sayıda mitokondriyon, golgi kompleksi ve endoplazmik retikulum tubulusları bulunur. Folikül hücrelerinin altındaki bazal lamina, folikülleri, stromadan ayıran sınırı oluşturur.

Ergenlikte birlikte bir grup primordiyal folikül, foliküler büyüme olarak adlandırılan bir sürece başlar. Bu süreç oositler, granüloza hücreleri ve folikülleri çevreleyen stromadaki hücrel değişimleri kapsar.

### **Foliküler Büyüme**

Foliküllerin büyümesi, hipofizden salgılanan FSH tarafından uyarılır. Oosit büyümesinin en hızlı olduğu dönem foliküler büyümenin birinci evresidir; bu sırada oositin çapı en üst düzeye (125-150 µm) ulaşır. Nukleus büyür, mitokondriyonların sayısı artar ve sitoplazmada eşit olarak dağılırlar; endoplazmik retikulum tubulusları genişler. Golgi kompleksleri hücre yüzeyinin hemen altına göç eder (51).

Histolojik olarak, ovaryum folikülleri 3 tipte sınıflandırılır.

### **Primordiyal foliküller**

#### **Gelişen foliküller (Primer ve Sekonder (Antral) foliküller)**

#### **Olgun ya da Graaf foliküller**

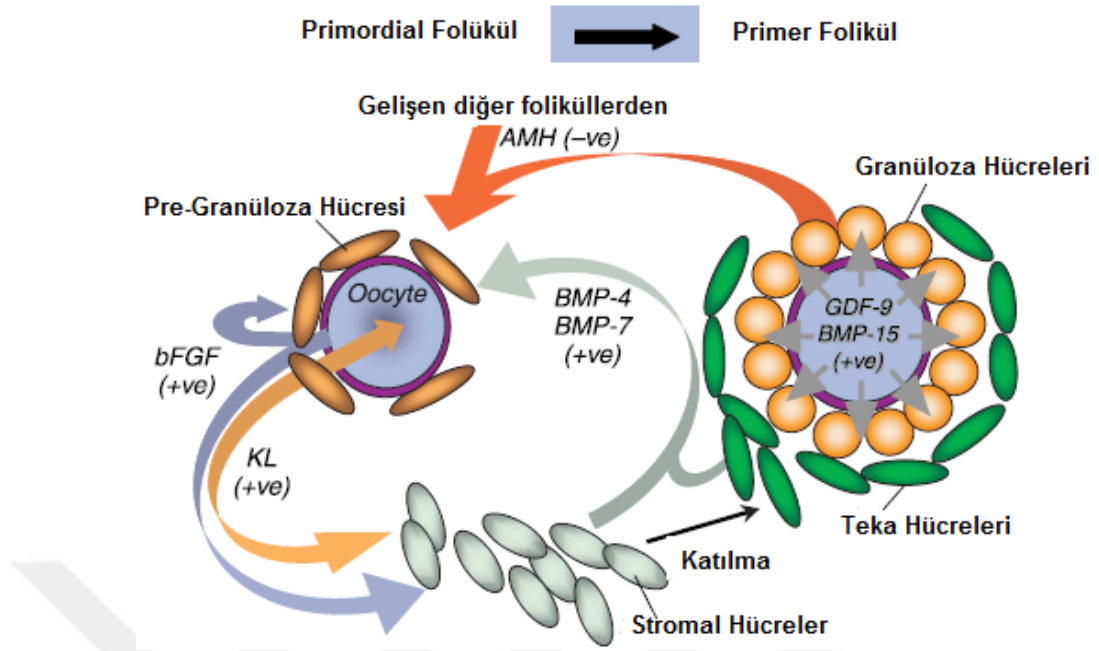
**Primordiyal Foliküller:** Ovaryumlarda fetal gelişimin 3. ayında ilk olarak görülen foliküllerdir. Primordiyal foliküllerin erken gelişimi gonadotropin uyarımından bağımsızdır. Olgun ovaryumda, tunika albugineanın hemen altındaki kortekste bulunurlar. Oosit etrafında tek tabakalı folikül hücreleri bulunur. Folikül hücrelerinin dış yüzeyi bazal lamina ile sınırlıdır. Oosit, bir ya da daha fazla nukleolusa sahip, ince dağılıkromatine sahip büyük ve merkezi olmayan bir nukleusa sahiptir. Oosit sitoplazması bir balbiani cismi içermektedir. Balbiani cismi, golgi membranı, vesikül, endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve lizozom birikintisini ifade eder. Buna ek olarak insan oositi halkalı lameller içermektedir. Primordiyal folikül gelişen bir folikül halini alırken oositte, foliküler hücrelerinde ve komşu stromada değişiklikler meydana gelir (47).

Stromal hücreler, folikülün etkinleşmesini ve canlılığını düzenleyen kemik morfojenik protein 4-7 (Bone Morphogenetic protein; BMP-4 ve BMP-7) salgırlar.

Etkinleşmiş folikülün oositinden salınan büyüme ve farklılaşma faktörü-9 (Growth and Differentiation Factor; GDF-9) ve BMP-15 granüloza hücrelerinin çoğalmasını ve tekanın oluşmasını düzenlemektedir (52).

**Primer foliküller:** İlk olarak, oosit genişler ve oositin etrafını çevreleyen yassı folikül hücreleri çoğalırlar ve kübik olurlar. Oosit ve komşu foliküler hücreler arasında zona pellusida denilen ekstrasellular manto oluşur. Zona pellusida ZP-1, ZP-2 ve Zp-3 olarak adlandırılan 3 sülfatlı asidik zona pellusida glikoproteinlerinden oluşmaktadır. Hızlı mitotik çoğalma ile tek tabakalı folikül hücreleri çok tabakalı epiteli yani membrana granülozayı (stratum granulosum) oluşturmaktadır. Folikül hücreleri bu aşamada granüloza hücreleri olarak adlandırılır.

Foliküler gelişim sırasında granüloza hücreleri arasında gap junctionlar gelişir. Granüloza hücreleri çoğalırken folikülleri çevreleyen stromal hücreler teka folikülü olarak bilinen bir bağ doku kılıfı oluştururlar. Teka folikülü 2 tabakaya farklılaşır. Teka interna, yüksek derecede vaskülarize olmuş kübik, salgılayıcı hücrelerin oluşturduğu içteki tabakadır. Teka internanın tamamen farklılaşmış hücreleri steroid üreten hücrelerin ultrastrüktürel karakteristik özelliklerine sahiptir. LH uyarımına cevap olarak, östrojen öncülleri olan androjenleri sentezlemektedirler. Teka eksterna, bağ dokusu hücrelerinin dış tabakasıdır. Düz kas hücreleri ve kollajen fibril demetlerini içermektedir. Teka tabakaları arasındaki sınır çok net olarak ayırt edilemez. Fakat bazal lamina teka interna ve granüloza hücre tabakası arasında belli bir sınır oluşturmaktadır. Bazal lamina, teka internanın zengin kapiller ağını vasküler olmayan granüloza tabasından ayırmaktadır. Oosit olgunlaşırken, organellerin dağılımında değişiklikler meydana gelmektedir. Memelileri içeren birçok türün oositlerinde kortikal granüller olarak bilinen özelleşmiş salgılayıcı vesiküller ortaya çıkarlar. Oolemanın hemen altında yerleşmişlerdir. Bu granüller, ovum spermle aktive olduğu zaman ekzositozla salınan proteazları içerirler (Şekil 2).



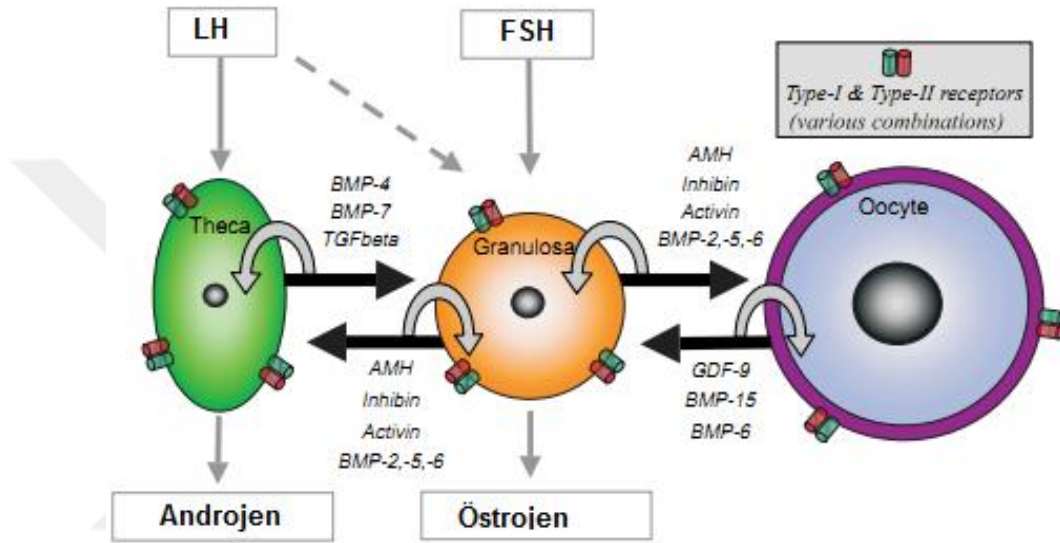
Şekil 2. Primordiyal folikülden primer foliküle geçiş (41)

**Sekonder Foliküller:** Primerfolikülün kortikal stromasının büyüklüğü oldukça artar, granulosa hücrelerinin proliferasyonu hızlanır ve primer oositin etrafındaki oluşturdukları hücre katmanları sayısı çoğalır. Granulosa hücrelerinin hızla çoğalmasıyla folikül hücreleri stratum granulosum denilen çok katlı epitel verirlir (47). Stratum granulosum damarlanmadan kalır (50). Folikül hücreleri arasında sıvı (liquor follicularis) toplanmaya başlar. Sıvıyı içeren ufak boşluklar birleşerek daha büyük bir boşluk (antrum folliculare) oluştururlar. Bu yapıdaki foliküller sekonder folikül (folliculus ovaricus secundarius) olarak adlandırılırlar. Folikül sıvısı plazma bileşenlerini ve folikül hücrelerinden tarafından salgılanan ürünleri içerir; sıvıda glikozaminoglikanlar, steroid-bağlayıcı proteinler de olmak üzere, bazı proteinler ve yüksek yoğunlukta steroidler (progesteron, androjenler ve östrojenler) bulunur.

Granulosa hücrelerinin tepe halini alan oluşumuna kumulus ooforus (cumulus ooforus) denir. Oosit bu tepenin üzerine oturur. Bir grup granulosa hücresi oositin çevresinde katman yapar. Oositi saran bu kata korona radyata (corona radiata) denir. Bu granulosa hücreleri, ovulasyon sırasında oosite eşlik ederler (51).

**Olgun folikül (Graaf folikülü):** Olgun folikül (folliculus ovaricus maturus) ya da graaf (kısa yaşam) folikülü olarak adlandırılan ovulasyon öncesi folikül son derece büyüktür (yaklaşık 2,5 cm çapında). Bu folikül ovaryum yüzeyinden dışarı

doğru şişkinlik yapar. Sıvı toplanmasının bir sonucu olarak, folikül boşluğunun hacminde bir artış olur ve oosit, granuloza hücrelerinden oluşan bir sap (pedikül) ile folikül duvarına bağlanır (51). İnsanda, LH östrojen öncülleri gib iş gören androjenleri sentezlemek için teka internanın hücrelerini uyarmaktadır. Bazı androjenler granuloza hücrelerindeki düz yüzlü endoplazmik retikuluma taşınırlar. FSH'ya cevap olarak granuloza hücreleri androjenleri östrojenlere dönüştürmeyi kolaylaştırmaktadır(47) (Şekil 3).



Şekil 3. Teka ve granuloza hücreleri ile oosit arasındaki iletişim (52)

## 2.9. Tuba Uterina'nın (Fallop Tüpleri) Anatomik Yapısı

Yaklaşık 10 cm uzunluğunda 3 mm çapında olan bu yapılar ovarium'dan çıkan yumurtayı uterus'a iletir. Tuba uterinanın uterus'a açılan deliğine ostium uterinum tuba uterina, karın boşluğuna açılan deliğine ise ostium abdominale tuba uterinadenir.

Tuba uterina; isthmusampulla, infundibulum olmak üzere üç bölümde incelenir. Uterus duvarında uzanan kısa bölümüne ise pars uterina denir(53). İsthmus tuba uterina ortalama uzunluğu 2-2,5 cm. kalınlığı ise 3-4 mm olup lümeni en dar olan bölgedir (56). Ampulla tuba uterina yaklaşık 7 cm uzunluğunda 5-10 mm çapındadır ve S şeklinde kıvrımlıdır. Duvar kalınlığı ince, iç boşluğu ise geniş bir yapıya sahiptir. İsthmusa doğru lümeninin çapı daralmaktadır. Spermium ovum'u genellikle burada döller(53, 56). Infundibulum tuba uterina ovariuma en yakın

kısımdır. Periton boşuğuna ostium abdominale tuba uterina ile açılır. Huni biçiminde olan bu bölge tuba uterinin en geniş kısmıdır. Yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda olan bu bölgenin, ucunda fimbriae tubae uterinae adı verilen 20-25 adet hareketli saçak şeklinde uzantılar yer alır. Bu saçaklardan birisi diğerlerinden daha uzundur (yaklaşık 2-3 cm) ve fimbria ovarica olarak isimlendirilir, ovaryumun st ucuna tutunur. Olgunlaşarak ovaryumdan dışarı atılan ovumun tutularak tuba uterinin içine alınmasını fimbria ovarica gerçekleştirir (54, 55). Pars uterina, yaklaşık 1 cm uzunluğundadır. Tuba uterina'nın intramural parçası dışında kalan kısımları periton ile kaplıdır (55, 57, 58).

## **2.10. Tuba Uterina'nın Histolojisi**

Fallop tüpleri (tuba uterina), yaklaşık 12 cm uzunluğunda, çok hareketli kaslarda oluşan bir kanaldır. İnfundibulum olarak adlandırılan ucu ovaryum yakınında periton boşluğuna açılır ve fimbriya adı verilen çok sayıda parmaklı uzantılardan oluşan bir saçaklanma gösterir; intramural bölüm olarak betimlenen diğer ucu uterus duvarını geçer ve bu organın i boşluğuna açılır.

Tuba uterina'nın duvarı içten dışa doğru üç katmandan oluşur. Bunlar içten dışa doğru sırasıyla;

- Tunika mukoza (Tunica mucosa)
- Tunika muskularis ( Tunica muscularis
- Tunika seroza (Tunica serosa)'dır (61-63).

### **2.10.1. Tunica Mukoza**

Mukoza tek katlı prizmatik epitelyum ve gevşek bağ dokusundan oluşan lamina propria adı verilen tabakadan meydana gelir. Enine kesitlerde ampulla bölgesindeki lümen kıvrımlarla dolu labirenti andırır ancak bunların sayıları ve yükseklikleri uterusu doğru azalma göstermektedir (64-67).

#### **2.10.1.1. Epitel**

Epitel tek katlı prizmatiktir ve iki tip hücreden oluşur. Bu hücreler silyalı ve salgı yapıcı olarak ikiye ayrılır (68). Silyalı hücrelerde çekirdek yuvarlak şekillidir.

Apikal yüzlerinde silyalar bulunur. Bunlar tuba uterina'nın yüzeyini kaplarlar. Silyaların hareketleri uterusu doğrudur. Salgı yapıcı hücrelerin ürettikleri salgı epitelyum yüzeyinde ince bir sıvı tabakası meydana getirir. Bu sıvı ve silyaların hareketi ovulasyonla atılan oositin aynı yönde uterusu doğru ilerlemesini sağlar. Silyasız salgı yapıcı hücrelerin apikal yüzlerinde mikrovilluslar yer alır. Bu hücreler silyalı olanlara karşın daha az sayıda olurlar. Aktif salgılama yapan bu hücreler çok fazla GER, belirgin Golgi kompleksi, çok sayıda salgı vezikülleri ve birkaç tane lizozom içerirler. Bu hücreler tuba uterinada ilerleyen oositin zona pellusidasına bağlanan bir glikoprotein salgılar. Bu glikoprotein döllenme öncesi spermiyum kapasitasyonu'nu ve zona reaksiyonu'nu düzenler. Ayrıca bu salgı, tuba uterina lümeninde toplanarak, tuba uterinayı geçmekte olan ovumun korunma ve beslenmesini sağlar (67, 68, 71-73).

Tuba uterinanın değişik kısımlarında silyalı hücrelerin salgı hücrelerine oranının değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu infundibulumda %50-80, ampullada %33, isthmusta %25, intramural parçada ise %10'dur (61, 68-70).

#### **2.10.1.2. Lamina Propriya**

Gevşek bağ dokusu yapısına sahiptir. İnce bağ dokusu lifleri ve bol iç şekilli hücreler barındırır yapısında. Histosit, mastosit ve lenfositler buna dahil değildir. Yapısında bezler bulunmaz. Tuba uterina mukozası, genital döngüye koşut olarak, uterus ile birlikte döngüsel değişimler gösterir. Östrojen hormon etkisiyle silli yüzey artar ve silyaların boyu uzar. Progesteron hormonu ise silyaların hareketini uyarır, boylarını kısaltır ve salgıyı artırır (72-75).

#### **2.10.1.3. Tunika Muskularis**

Düz kas dokusundan oluşan tabakadır. Kas lifleri iki katman halinde sıralanmıştır. İç katman enlemesine ya da birbirleriyle dar açılar yaparak çaprazlaşan, çok yatık spiral kas demetlerinden meydana gelmiştir. Dış katmanda ise kas lifleri uzunlamasına bir oluşum sergilerler. Kas katmanları peristaltik hareketlerin oluşmasıyla sorumludur. Bu hareketler ile oosit ya da fertilize zigotun uterusu doğru ilerlemesini sağlar (64, 68, 69, 71). Tunika muskularisin kas demetleri arasında,

yoğun miktarda gevşek bağ dokusu yer alır. Bol miktarda elastik lif içeren bu doku, ligamentum latum ve tunika seroza içine doğru uzanır (71).

#### **2.10.1.4. Tunika Seroza**

Mezotel ve altında ince bir tabaka şeklinde görünen gevşek bağ dokusundan oluşan tunika seroza tabakasında aynı zamanda büyük kan damarlarında görünmektedir (68, 69, 71).

#### **2.11. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi**

Dişi üreme sisteminde, erkekten farklı olarak düzenli döngüsel değişiklikler meydana gelir. Bunlar, döllenme ve gebelik için belli aralıklarla cerayan eden hazırlıkları kapsar (76).

Bu döngüsel olaylar esnasında tuba uterinanın duvarındaki düz kaslar peristaltik hareketler yaparlar. Tuba uterinalar yalnızca ovumun geçiş güzergâhı değildir, aynı zamanda ovum bu bölgede döllenir ve embriyo blastosit haline kadarki aşamalarını bu bölgede geçirir (77, 78).

Tuba uterina epitelyum hücrelerinin üst yüzlerinde bulunan silyalar uterusu doğru vurma hareketi yaparlar. Silyalar devamlı vurumlarla hareket ederek tuba uterinanın lümenini açarlar. Lümene doğru yavaş sıvı akımını ve ovumun tuba uterina lümenine alınımı ve uterusu doğru ilerlemesi bu hareketlerle sağlanır (76-78).

Ovumun döllenmesi tuba uterinanın ampulla bölgesinde meydana gelir. Kapasitasyonunu tamamlamış olan spermiyumun oositi dölleyebilmesi için ilk olarak korona radiata engelini aşması, bundan sonra oositi çevreleyen zona pellusidaya bağlanarak penetre olması gerekir. Oosite giren spermiyumun baş kısmı büyür ve 23 tek kromozom bulunan erkek pronukeusunu oluşturur. Oositin çekirdeğinde dişi pronükelusuna dönüşür. Her iki pronükleus bir araya gelir, çekirdek zarları erir, kromozomlar kaynaşır ve 46 kromozomlu zigot şekillenir. Zigot bir yandan bölünür bir yandan da uterusu doğru taşınmaya devam eder. Yaklaşık yüz hücreden oluşan blastosist uterusu ulaşır (77, 78).

Adrenerjik innervasyonlar, tuba uterinada hareketliliğin düzenlenmesinde önemli olmakla birlikte isthmus bölgesinde belirgindir. Menstrual döngünün

proliferatif ve menstruasyon evrelerinde tuba uterinanın norepinefrin gibi alfa adrenerjik bileşiklere duyarlılığı fazladır. Luteal evrede ise progesteronun artması ile isthmus bölgesinin lümen çapı genişler. Böylece ovumun isthmustan geçişi kolaylaşır (76-78).

Damardan zengin olan tuba uterinanın duvarı ovulasyon anında şişerek organın sert ve gergin olmasını sağlayıp tuba uterinaların ovaryuma yakınlaşmasını sağlar (77, 78).

## 2.12. Uterus Anatomisi

Uterus, küçük pelvisin ortasında, kalın duvarlı, içi boş kaslı yapıda bir organdır. Uterus rectumun önünde, vesika urinarya'nın arkasında ve vaginanın üstünde bulunur. Üstten ise ince bağırsak kıvrımları ile komşudur. Uterusun üst bölümü tuba uterina, pelvis içindeki bölümü vagina ile devam eder (79, 80).

Gebelikte uterusun şekli ve konumu farklılık gösterir. Doğumdan sonra ise normal haline geri döner (81, 82).

Uterus yapı, işlev ve anatomik olarak corpus, fundus ve cervix uteriden meydana gelir. Corpus ve cervix uteri arasında, yaklaşık 1 cm uzunluğunda isthmus uteri yer alır. Corpus uteri, uterusun daha geniş üst bölümüdür. Cervix uteri ise ince ve dar kısım olup vaginaya açılır (79).

Fundus Uteri, corpus uterinin tuba uterinalarla birleştiği bağlantı kısmının üstünde kalan kalın ve konveks bölümüne fundus uteri adı verilir. Tüm açılardan konveks olması sebebiyle fundus uteri kubbe biçimindedir ve yüzeyi peritonla kaplanmıştır (79, 84).

Cervix Uteri, uterusun daha dar olan 1/3 alt bölgesidir. İsthmus uteri ile vagina arasında bulunur. Uzunluğu yaklaşık 2,5 cm kadardır. Uterusun hiç farklılık arz etmeyen kısmıdır (79, 83, 85).

Uterus ile vagina arasında açıklığı öne bakan 90 derecelik bir açı bulunur. Buna anteversiyon açısı denir. Corpus uterinin uzun eksenini ile cervix uteri'nin uzun eksenini arasında da 170 derecelik bir açı bulunur. Buna daantefleksiyonaçısı denir.



Bundan dolayı ayakta duran ve mesanesi boş olan kadınlarda uterus neredeyse yatay pozisyonudadır (80).

### **2.13. Uterus Histolojisi**

Uterus duvarı histolojik olarak üç katmandan meydana gelir. Bunlar dıştan içe doğru;

- Perimetriyum (Tunika seroza)
- Miyometriyum (Tunika muskularis)
- Endometriyum (Tunika mukoza) (79, 86).

#### **2.13.1. Perimetriyum**

Perimetriyum, ince gevşek bir bağ dokusu ile desteklenmiş tek katlı yassı epitelyum hücrelerinden meydana gelmiştir. Peritonun visseral yaprağıdır. Subseröz gevşek bağ dokusu uterusun bazı bölgelerinde (fundus uteri gibi) bulunmayabilir. Bu bölgelerde perimetriyum sıkı bir şekilde uterus duvarına tutunmuştur. Serviks ve isthmus düzeyinde ise iyi gelişmiş subseröz bağ dokusu ile perimetriyum rahatça uterus duvarından ayrılabilir (68, 87).

#### **2.13.2. Miyometriyum**

Uterusun en kalın tabakasıdır. Bağ dokusu bölmeleriyle ayrılmış düz kas demetlerinden meydana gelmiştir. Bu demetler uterusun işlevine koşut olarak sınırları fazla belirgin olmayan dört kat oluştururlar. İç kas katmanı, çok ince uzunlamasına düzenlenmiş kas demetlerinden meydana gelir. Doğumdan sonra plasentanın ayrılması ile açılan damarların kapanmasını sağlar. Orta kas tabakası, enlemesine düzenlenmiş kas demetleri ile bunlar arasındaki bağ dokusunda, büyük arterler, venöz pleksuslar ve lenf damarlarından oluşur. Bu kat endometriyumun beslenmesinden sorumludur. Orta dış kas tabakası, uzunlamasına ve enlemesine bir araya gelmiş düz kas demetlerinden oluşmuştur. Dış kas tabakası ise uzunlamasına bir araya gelmiş kas demetlerinden yapıldır (68, 87-89).

Miyometriyumun özellikle dış kas demetleri arasındaki gevşek bağ dokusunda, bol kollajen ve elastik lifler bulunur (68).

Miyometriyumdaki kas hücreleri gebelik esnasında östrojen hormonunun etkisiyle hiperplazi (hücrelerin sayıca artışı) ve hipertrofi (hücrenin büyüklüğündeki artış) sonucu büyür, bu esnada bağ dokusunda arttığı gözlenmiştir. Düz kas hücrelerinin büyük bir kısmı, protein salgılayan hücrelerin genel yapısal karakterlerini barındırırlar. Gebelikte miyometriyumun kollajen içeriği miktarı oldukça artar. Östrojen sentezinin azaldığı menstruasyon evresinde düz kas hücrelerinin çapı çok küçülür. Östrojen hormonunun sentezinin olmadığı şartlarda ise, bazı hücrelerin apoptozise uğraması ile miyometriyal kas atrofileri meydana gelir.

Gebelikten sonra miyometriyum eski boyutunu tekrar kazanır. Uterus düz kaslarındaki bu değişimin başlıca sebebi hormonlarda meydana gelen salgıdaki farklılıklardır. Doğum sırasında nörohipofizden salgılanan bir peptid hormon olan oksitosin ve bununla birlikte prostoglandinler miyometriyal kasılmaları kontrol altında tutarlar (68, 88-90,92).

### **2.13.3. Endometriyum**

Uterusun en iç tabakası olan endometriyum, lümeni çevreleyen epitelyum ve lamina propriadan meydana gelir. Endometriyumun epiteli tek katlı prizmatik yapıdadır. Uterusun epiteli silyalı prizmatik hücreler ve salgı yapan mikrovilluslu prizmatik hücreler şeklinde oluşur. Yüzey epitelyum hücreleri, altındaki endometriyal stroma denilen lamina proprianın derinliğine değin uzanarak dallı basit tubüler tipte uterus bezlerini (gl.uterina) meydana getirir. Ovaryal dengeye bağlı olarak, bezler şekillerini ve büyüklüklerini değiştirir, birbirine çok yakın ya da biraz mesafeli dururlar. Uterus bezlerini oluşturan epitelyum, yüzey epiteline benzer fakat, silyalı prizmatik hücreler çok az sayıdadır (68, 88, 89).

Lamina propriya hücreden zengin tipik bağ dokusu özelliğindedir. Çok sayıda iğsibiçimli bağ dokusu hücreleri gebelikte büyüyerek desidual hücrelere farklırlar. Desidual hücreler bir ya da iki çekirdek barındırır. Sitoplâzmalarında glikojen, lipid damlacıkları ve vakuoller bulunur. Bağ dokusunda bunlarla birlikte lenfosit, granüler lökosit ve makrofajlar bulunur. Elastik lif yapıları sadece arteriollerin etrafında görülür (68, 87).

Endometriyum fonksiyonel olarak iki tabakadan meydana gelir. Endometriyumun miyometriuma komşu 1/3 derin bölgesini oluşturan, sıkı fibröz bağ dokusundan oluşmuş ve uterus bezlerinin son bölümlerini içeren tabakaya endometriyum bazalis (str.basale endometriale)'tir. Bu tabaka menstruasyon esnasında dökülmeyen kısımdır. Endometriyumun 2/3'lük yüzey kısmında, seksüel olgunluk döneminde 28 günde bir periyodik değişiklikler gösterdiği için, endometriyum fonksiyonalis (str.functionale endometriale) ismi verilir. Burada bezlerin boyun ve gövde kısımları yerleşiktir. Her menstrual döngüde dökülür. Buranın yeniden yapılandırılması döngü esnasında değişikliğe uğramayan endometriyum bazalisten olur (68, 89, 92).

Fonksiyonel kısım bezleri dört tip epitelyum kökenli hücreden oluşur. Bunlar; proliferatif hücreler, silyalı hücreler, salgı hücreleri ve bazal hücrelerdir (93). Proliferasyon esnasında hücre sayısı artar ve çekirdeklerin fazlalığı bez epiteline yalancı çok katlı prizmatik epitelyum gibi görünmesine sebep olur. Salgı hücreleri müsinöz salgı yapar. Vakuollü, vakuolsüz ve tuba uterinadaki hücrelere benzeyen hücreler olmak üzere üç tip hücre içerirler (87). Silyalı hücreler proliferasyon evresinde daha belirgindirler. Salgı evresinde ince yapı düzeyinde dev mitokondriyonlar ve çekirdeklerinde kanal sistemi görülmüştür (94).

Kadınlarda puberteden menapoza kadar, endometriyumda ovarial döngüye yanıt olarak periyodik değişiklikler meydana gelir. Bu döngüyle birlikte ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron hormonlarının da etkisiyle endometriyum döngüsel farklılıklar göstererek embriyonun implantasyonuna en uygun ortamı meydana getirir. Gebeliğin oluşmaması halinde uterusun tunika mukozası ovarial döngüye yanıt olarak ortalama 28 günde bir değişir. Bu periyodik endometrial farklanmaların hepsine endometrial ya da uterin (menstrüel) döngü adı verilir. Ovaryum hormonlarındaki düzensizlik endometriyum döngüsünü bozabilir. Menstrüel döngü 12-15 yaşlarında başlar, yaklaşık 45-50 yaşa kadar devam eder. Döngü sırasında meydana gelen yapısal değişiklikler kalıcı değildir (68, 79, 87).

Menstrüel döngü üç evreden oluşur: (17).

1)Proliferasyon (foliküler) evresi: Menstruasyon ile ovulasyon arasındaki evredir. Menstruasyondan sonra 5. ile 14. günler arasında meydana gelir. Bu evrede

ovaryum folikülleri olgunlaşır ve östrojen salgırlar. Östrojen endometriyumu etkiler ve bazal tabakada hızla epitelyum, endotel ve stromal hücre çoğalmalarına neden olur ve menstruasyon ile kaybedilen endometriyum bezleri ve yüzey epiteli tekrar yenilenir. Lamina propriada ki bağ dokusu hücreleri çoğalarak kollajen lif ve esas madde salgılamaya başlarlar.

Salgı bezleri dar, düz ve tübüller şekildedir. Salgı hücreleri glikojen üretip depolamaya başlar. Menstruasyon esnasında boyları kısalmış olan spiral arterler yüzeye doğru büyümeye başlarlar. Fakat epitelin altına kadar ulaşmazlar. Bezle çok kıvrımlı değillerdir. Yenilenen endometriyum 2-3 mm kalınlığa ulaşır. Menstruel döngünün proliferatif evresi, bir önceki menstruasyonla dökeln epitelin yenilenmesini gösterir (68, 88, 89, 91).

2) Sekresyon (luteal) evresi: Ovulasyondan sonra, korpus luteumdan salgılanan progesteron hormonunun etkisiyle başlar. Döngünün 28. gününe kadar devam eder. Proliferasyon evresinde büyümeye başlayan bezler bu evrede progesteron hormon etkisiyle daha da genişleyerek, gövdeleri son derece kıvrımlı bir şekil alır. Spiral arterler 22. Günde yüzeye kadar uzanarak kıvrıntılı bir hal alırlar. Epitelyum hücreleri çekirdeğin altında glikojen depolamaya başlarlar. Glikoprotein salgı, döllenme olursa embriyonun beslenmesi için önemli bir kaynak oluşturur. Endometriyum, salgının birikmesine yanıt olarak kalınlaşmaya devam eder (5 mm). Mitoz bölünmenin nadir olduğu bu evre; uterusun zigotun tutunmasına kendini hazırladığı evredir (68, 89).

Gebelik meydana gelmezse sekresyon evresinin sonunda menstruasyon başlar. Döllenme durumunda ise, endometriyumun lamina propriasındaki stromal hücreler östrojen ve progesterona yanıt olarak glikojen ve lipid depolayan desidua hücrelerine dönüşmeye başlarlar. Embriyonun beslenmesi için iyi bir zemin hazırlayan desidua hücreleri, gebelik sonlanırken uterus duvarından plesantanın ayrılmasını kolaylaştıran bir katman meydana getirirler. Bu meydana gelen olaya desidual tepkime adı verilir (68, 88, 89, 91).

3) Menstruasyon (kanama) evresi: Oositin döllenmesi ve embriyonun tutunması gerçekleşmezse, korpus luteumun işlevi 14 gün sonunda sona erer. Bunun sonucu olarak kandaki östrojen ve progesteron hormon düzeyleri hızla düşer ve

menstruasyon evresi başlar. Bu evre döngünün 1.-4. günleri arasında olaylanır. Spiral arterler kasılıp gevşemeye başlar, bezlerin salgıları azalır. Stroma daha yoğunlaşır. Lökositler kapsamı artar. Spiral arterler sürekli olarak kasılırlar ve fonksiyonel katmanın oksijenlenmesi kesilir. Fonksiyonel katmanda nekroz odakları belirir ve bunlar birbirleriyle birleşir. Spiral arterlerin duvarında önce spazm, daha sonra nekroz gelişmesi, leke biçimindeki kanamaların bir araya gelerek kanamayı başlatmasına neden olur. Kanamanın başlangıcı, menstruasyonun birinci günüdür. Kan ile birlikte, uterustaki sıvı ve fonksiyonel katmandan ayrılan epitel ve stromal hücreler de dökülür. Bu dökülme sadece bazal katman kalıncaya değin sürer. Menstruasyon evresinde kanın pıhtılaşması engellenir (90,91).

Endometriyumun fonksiyonel tabakası kısmen dökülür. Menstruasyon evresinin sonunda endometriyumdan geriye, bezlerinin bazal bölümlerini içeren bazal kat kalır. Bazal kat düz arterlerce kanlanmayı sürdürdüğünden, bu evrede canlılığını korur. İnce bir katmana dönüşen endometriyumda bazal hücreler, mukozayı yeniden oluşturmak için bölünmeye başlar. Bezlerin dip kısımları kısa sürede çoğalarak bezleri oluşturur. Bağ dokusu da artarak bezlerin arasını doldurur. Yenilenme (rejenerasyon) evresi denilen bu evre, endometriyumun fonksiyonel katmanının yenilenmesi ile endometriyumu yeni bir döngüye hazırlar (68, 89).

Menstruasyon süresince yaklaşık 35-50 ml kan kaybı olur. Dökülen endometriyum miktarı ile yitirilen kan miktarı kadından kadına, hatta aynı kadında bile değişik zamanlarda farklılık gösterir (68, 88-90).

#### **2.14. Uterus Fizyolojisi**

Dişi de üreme işlevi üç hormonun karşılıklı etkileşimi ile düzenlenir: Bunlar;

a)Hipotalamustan sentezlenen hipotalamik serbestleyicisi hormon ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH).

b)GnRH etkisi altındaki hipofiz bezi ön lobunda yer alan hücrelerden salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH).

c)Ovaryumdan salgılanan östrogen ve progesteron hormonları. Bunlar hipofiz bezi ön lobundan salınan FSH ve LH'a yanıt olarak salgılanırlar ve salgılanma miktarları ile salınım hızları genital döngünün farklı evrelerinde değişkendir (95, 96).

Puberteden menapoza değin süren menstruel döngüde, ovaryum hormonlarının etkisiyle, endometriyumda fizyolojik değişimler olaylanır (80).

Endometriyal döngü, ovaryum döngüsüne koşut olarak gerçekleşir. Her menstruel evrede, endometriyum dökülür (adet kanaması). Menstruel endometriyal dökülme sonlanınca elişmekte olan folliküllerden kaynaklanan östrojenlerin etkisiyle, menstruel döngünün 5. ve 14. günleri arasında endometriyumun kalınlığı hızla artar. Bu kalınlaşma hücrelerin büyümesi ve damarların artmasıyla olur. Bezler ve stroma hücrelerde mitoz bölünme olaylanır, bezler kıvrıntılı bir hal alır ve endometriyumu besleyen arterlerin boyları uzar. Bu evreye proliferatif evre denir. Östrojen hormonu, proliferasyon evresinde telomerazın yüksek düzeyde eksprese edilmesini uyarır ve bu yolla endometriyumda apoptozis önlenir (68, 97, 98).

Ovulasyondan kısa süre sonra, plazmada artan progesteron hormon düzeyi endometriyumda belirgin değişikliklere neden olur. Proliferasyon yavaşlar, mitotik erkve endometriyum kalınlığı azalır. Östrojenin aksine progesteron telomerazı baskılar. Telomerler yitirilir ve endometriyal hücrelerin apoptozisi uyarılır. Uterus bezleri çok daha kıvrıntılı bir hal alır ve bez hücrelerinde glikojen birikmeye başlar. Döngünün sekresyon evresi ilerlerken bez hücrelerinde salgı birikir ve progesteron hormon etkisiyle salgı, bez lümenine atılır. Bu salgılar, embriyonun yaşamasını, uterus endometriyumuna adhezyonunu ve implantasyonunu kolaylaştıran glikojen, glikoproteinler ve glikolipidler içerir. Endometriyum stroması ödemli bir hal alır ve başlangıçtaki düz spiral arterler daha da uzayarak spiral şekilde kıvrılırlar. Sekresyon evresinin geç döneminde, endometriyum hipofiz bezi lobu gibi prolaktin üretir. Sekresyon evresinde dölleme gerçekleşmezse, endometrial dökülme gerçekleşir ve yeni bir döngü başlar (97, 98).

Serviks, uterus gövdesinin devamı olmakla birlikte, bazı özellikleriyle farklılıklar gösterir. Serviks mukozasında aralıklı dökülme olmaz, ancak serviksin mukus salgısında düzenli değişiklikler olaylanır. Östrojen, mukusa daha ince ve daha alkali bir yapı kazandırarak spermiumun yaşaması ve taşınması için uygun ortamı hazırlar. Ovulasyon sırasında mukus en ince yapısındadır. Ovulasyondan sonra progesteron, servikal mukusun miktarını azaltır ve yeniden kalın esnek olmayan şekle geri dönmesini sağlar (97, 98).

Gebelik olaylanmaz ve korpus luteum gerilerse, endometriyumun hormon desteği ortadan kalkar ve incelik. Bu durum, spiral arterlerin kıvrımlarını arttırır. Endometriyumda nekroz odakları belirir ve bunlar birbiriyle birleşir. Spiral arterlerin duvarlarında önce spazm, daha sonra ise nekroz gelişmesi, leke tarzındaki kanamaların bir araya gelerek menstruel kanamayı başlatmasına neden olur (97, 98).

Gebelik sırasında uterusun aşırı büyümesi, östrojen ve progesteron hormon salgılanmasının artması sonucudur. Önceleri korpus luteumda salgılanan bu hormonlar, daha sonra plasenta tarafından üretilirler (80).

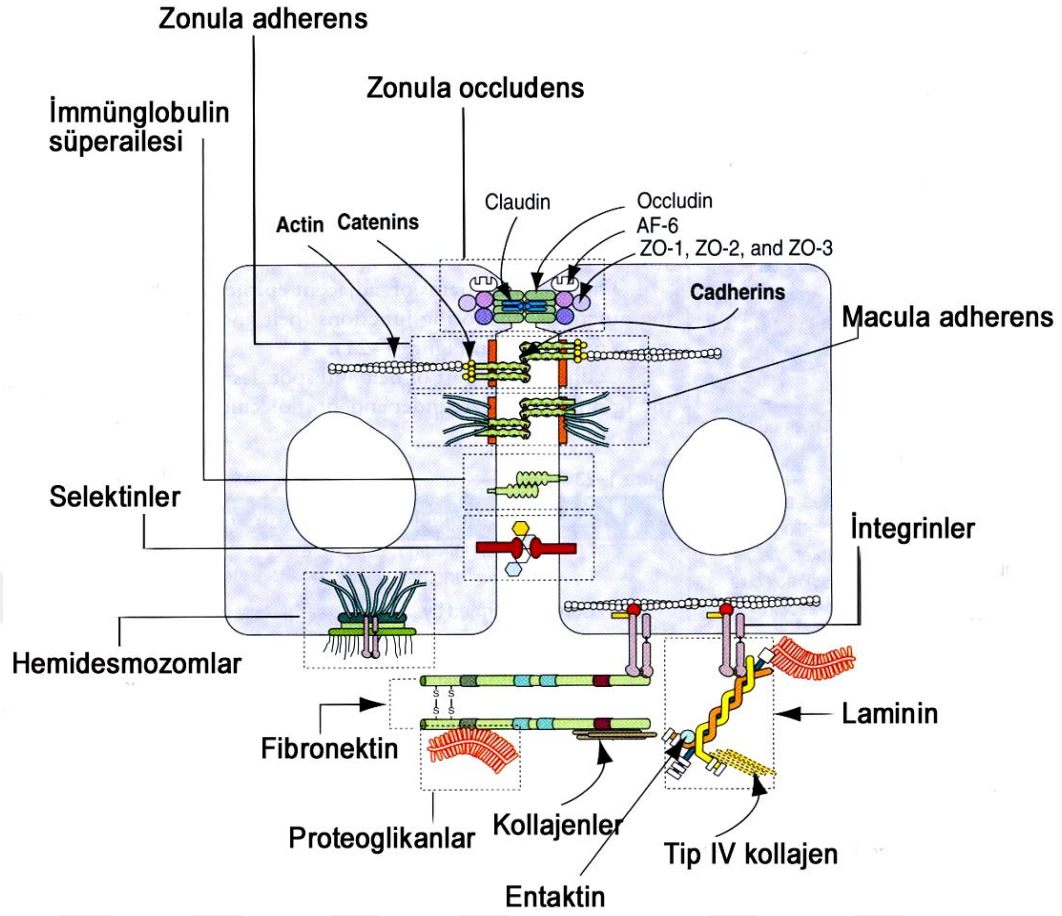
Relaksin, kadınlarda korpus luteum, uterus, plasenta ve meme bezlerinde yapılan bir polipeptid hormondur. Gebelik sırasında, simfizis pubisi ve pelvisin diğer eklemlerini gevşetir, uterus serviksini yumuşatır ve genişletir. Dolayısıyla doğumu kolaylaştırır. Aynı zamanda uterus kasılmalarını baskılar. Gebe olmayan kadınlarda, menstruel döngünün sekresyon evresinde korpus luteum ve endometriyumda relaksin bulunur. Gebe olmayan kadınlardaki işlevi bilinmemektedir (98).

### **2.15. Adezyon Molekülleri**

Biyolojik yapılarda hücre birlikteliğini sağlayan moleküller yapıştırıcılar “Hücre Adezyon Molekülleri (Cell Adhesion Molecules; CAM)” olarak adlandırılır (99) (Şekil 4).

Yapılan çalışmalarla bu moleküllerin sadece adeziv fonksiyonlarla sınırlı kalmayıp, başka hücre etkileşimlerine de katıldığı saptanmıştır. Günümüzde genel olarak 4 tip hücre adezyon molekülü vardır. Bunlar; Kaderinler, Selektinler, İmmünoglobulin süper ailesi ve İntegrinler

Adezyon moleküllerinin fonksiyonları şu şekilde sıralanmaktadır; Embriyonik gelişme, farklılaşma, hücre göçü, inflamasyon, kanser metastazı ve yara iyileşmesi. Adezyon molekülleri, epitelyal hücreler arasında teması sağlamaktadır. Bu hücre temasları hücredeki bağlantı birimleriyle (tıkayıcı, tutturucu ve oluklu) daha da sağlamlaştırılır (100).



Şekil 4. Hücre-Hücre adezyon molekülü tipleri (101).

### 2.15.1. Kaderinler

Kaderinler, molekül ağırlıkları 120.000-140.000 kDA arasında değişen yapı ve fonksiyonları açısından  $Ca^{2+}$ 'a bağımlı transmembran proteinleridir. Hücre yapışmasında ve farklılaşmasında rolleri olan ve birçok dokuda şekillenebilen hücreadezyon reseptörleridirler (102). Kaderinler, tutturucu bağlantı (zonula adherens), sıkı bağlantı (zonula okludens) bölgeleri ve desmozomlarda meydana gelen homotipik bağlantıları düzenlerler (100). Klasik bir kaderin, birçok tekrarlayan ilmikten (domain) oluşan ve  $Ca^{2+}$ 'a bağlanmasını sağlayan hücre dışı bir N-ucu ile hücre iskeleti, bağlantıyı sağlayan, bir transmembran bölge ve bir sitoplazmik bölge içeren C-ucu'ndan oluşur. Hücre dışındaki tekrarlayan bölgeler  $\beta$ -zincirlerinden oluşmaktadır ve bu  $\beta$ -zincirleri karşı hücredeki  $\beta$ -zincirleri ile homofilik ilişki kurarlar. Sitoplazmik kısım üç sitoplazmik protein ile ilişki içerisindedir. Bunlar  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  katenindir (103).



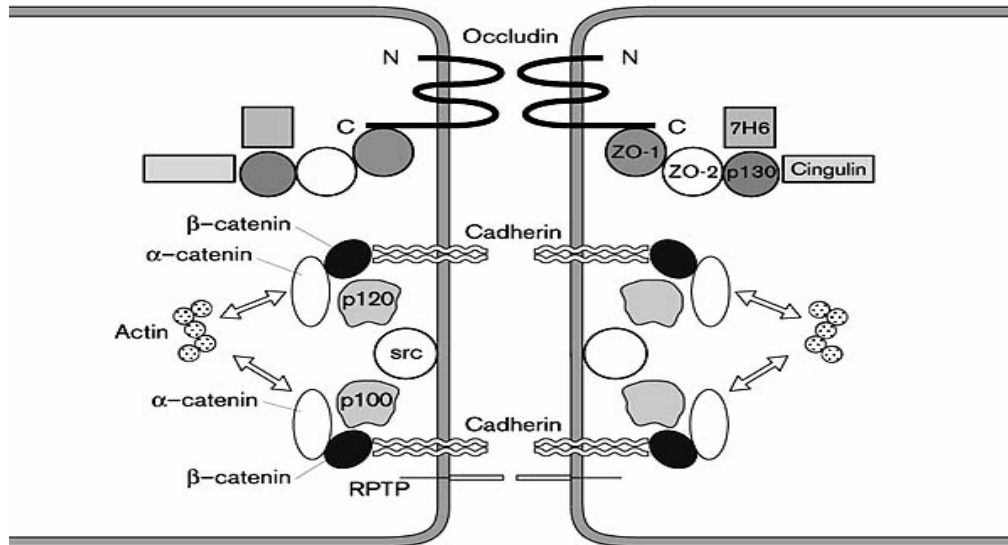
### 2.15.1.1. Kaderin Kompleksinin Bileşenleri

Kaderin kompleksinin bileşenleri şu şekilde sıralanmaktadır:

- 1.Kaderinler ile ilişkili hücre içi bileşenleri (kateninler)
- 2.Hücre iskeleti (aktin gibi)

Kateninler, kaderinlerin hücre içi sitoplazmik bölge ile bağlantısını sağlayan sitoplazmik protein grubudurlar. Bu şekilde, kaderinlerin mikrofilament yapısındaki hücre iskeletine bağlanmasını sağlar ve kaderinlerin fonksiyonunu düzenlerler. SDS-PAGE yürüme hızına göre tanımlanan kateninler şunlardır;  $\alpha$ -katenin,  $\beta$ -katenin ve  $\gamma$ -katenin.

$\alpha$ -kateninler, aktin bağlayıcı proteinler olan vinkulin ile kısmen benzer yapıya sahip olduğu için, aktin hücre iskeletine direkt bağlantıyı sağlar. Ayrıca, p120cas olarak tanımlanan katenin ailesine ait yeni bir tip protein de tanımlanmıştır. p120cas,  $\beta$ -katenin ile plakaglobin arasında bağlantıyı sağlar (100) (Şekil 5).



Şekil 5. Kaderin- katenin ve p120cas ilişkisi (104)

Kaderinler temel olarak dört gruba ayrılmaktadır; Tip 1 kaderinler, Tip 2 kaderinler, Desmozomal kaderinler ve Protokaderinler'dir.

### 2.15.1.2. Tip 1 Kaderinler

E-kaderin: Birçok epitelyal dokuda ve epitelyal morfogenezisde rol oynar. Yan hücre yüzeylerinde bulunur. E-kaderin molekülleri, komşu hücrenin zarındaki

aynı sınıf kaderinlerle homofilik bağlantı kurar. Bu tip bağlantı  $Ca^{2+}$  varlığına bağlıdır ve hücreler arasında fermuar benzeri bir yapışma modeli oluşturur (102).

N-kaderin: Endotelyal hücrelerde, nöral hücrelerde ve bazı kas dokusu hücrelerinde bulunur ve sinir hücresi büyümesinde etkilidir.

P-kaderin: Embriyonik dokuda ve plasentada eksprese edilirler (100)

### **2.15.1.3. Tip 2 Kaderinler**

Kaderin-5 ve kaderin-12 olarak tanımlanırlar. Ekspresyonları endotel hücreleri ile sınırlıdır. Bu kaderinler angiogeneizde damar geçirgenliğinin kontrolünde rol oynamaktadır (100).

### **2.15.1.4. Desmozomal Kaderinler**

Desmoglein ve desmokolinerde desmozom ile hücre bağlantısının sağlanmasından görevli kaderinlerdir. Bu kaderin türleri, desmoplakin ve plakoglobin (g-katenin) içeren sitoplazmik plak ile etkileşime girerler. Ayrıca bu yapılar da keratin intermediyet filamentlerine tutunurlar (100).

### **2.15.1.5. Protokaderinler**

Kaderinlerin en geniş grubudur. Bu gruptaki kaderinler, sıklıkla beşten fazla tekrarlayan hücre dışı bölge ve diğer kaderinlerden farklı yapıda bir sitoplazmik bölge içerirler. Protokaderinlerin  $Ca^{2+}$  bağlı kısımları zayıf hücre içi etkileşimleri düzenlemektedir (100).

### **2.15.2. Selektinler**

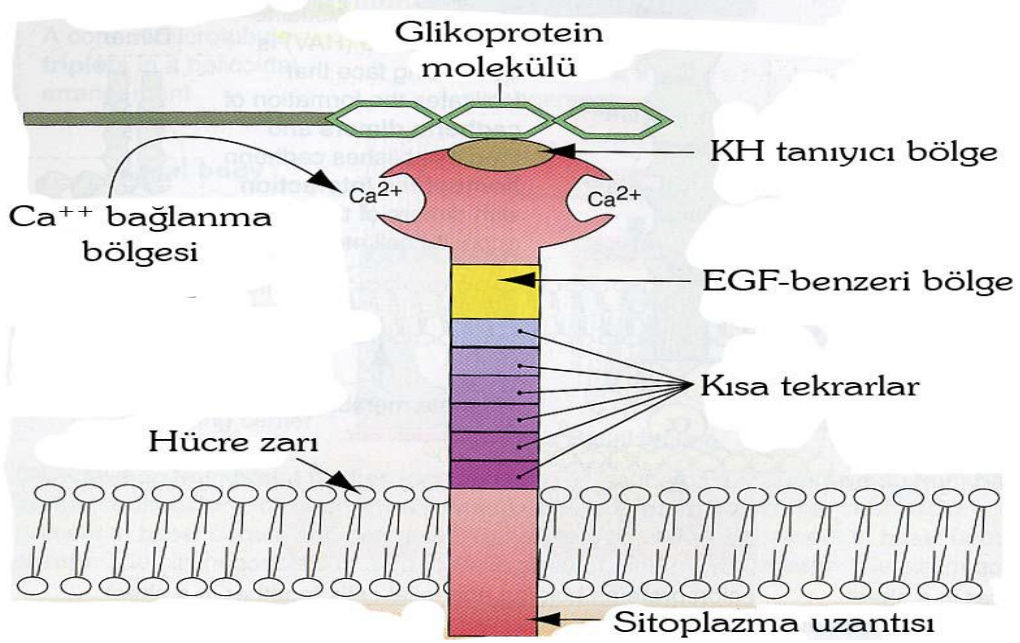
Kaderinler gibi  $Ca^{2+}$  bağımlı hücre adezyon molekülleridirler. Fakat kaderinlerin tersine selektinler karbonhidratlara bağlandıkları için lektinler grubuna dâhil edilmektedir (102) (Şekil 6).

Selektinlerin üç hücre dışı bölümü vardır:

1. Şeker (mannoz, galaktoz gibi) molekülüne özgü karbonhidrat tanıyıcı bölge (CRD): Bu kısım ligand ile bağlanan kısımdır.

2. Epidermal büyüme faktöründe bulunan tekrarlı benzer bölge (EGF): Bu bölümün molekülün genel yapısının sağlanmasında katkısı vardır. Bu bölümün çıkarılması selektinlerin adezyon fonksiyonunu ortadan kaldırır.

3. Kompleman düzenleyici proteinlerde bulunan bir dizi tekrarlar (SRC): Bu bölümün fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber, delesyonu durumunda fonksiyon kaybı meydana gelmektedir (106).



Şekil 6. Selektinlerin genel yapısı (101)

Selektinler, buldukları dokuya ve hücre yüzey molekülleri ile ilişkilerine göre üçe ayrılmaktadır; L-Selektin (CD62L), P-Selektin (CD62P) ve E-Selektin (CD62E). Bu üç tip selektininde yapısı yukarıdaki resimde gösterilmiş olan klasik selektine benzer (100) .

#### 2.15.2.1. Selektinlerin Fonksiyonları ve Lökosit Göçü

Selektinlerin temel fonksiyonu, lökositlerin özellikle nötrofillerin inflamasyon bölgesine hareketini sağlamaktır. Lökosit göçü;

**1.Yuvarlanma:** Selektinler, lökositlerin damar duvarını oluşturan endotele zayıf bir şekilde tutunmalarını düzenlerler.

**2.Tutunma:** İntegrinler, lökositlerin endotele güçlü bir şekilde tutunmasını sağlayan intrasellüler adezyon moleküllerine (ICAM) bağlanır.

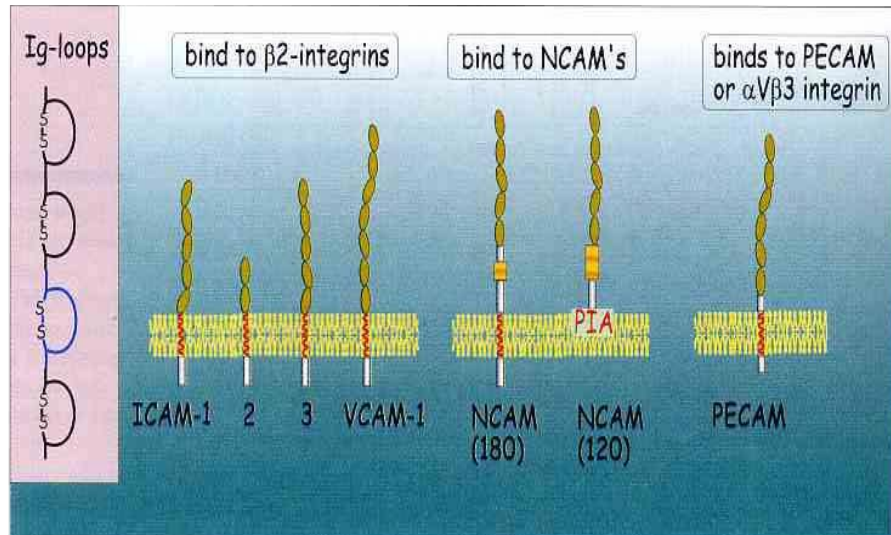
**3.Transendotelyal Göç:** Lökositler, kemoatraktan maddelerin derişimindeki değişikliklere cevap olarak diyapedez ile endotel hücre membranından dışarı çıkar (100).

**Her selektin farklı hızlarda yuvarlanmaya aracılık eder:**

1. L-selektin, akım halindeki hücrelerin yakalanmasında en etkili rolü oynar.
2. E-selektin, durağan yuvarlanmada etkilidir.
3. P-selektin, her ikisini de başlatır. Ayrıca yuvarlanmayı devam ettirir (107).

### 2.15.3. İmmünoglobulin Süper Ailesi

İmmünogloblin (Ig) süper ailesi, Ig benzeri bölgeler içeren hücre yüzey moleküllerinin olduğu bir gruptur (100). Kaderin ve selektinlerden farklı olarak Ig süper ailesi üyeleri,  $Ca^{2+}$ dan bağımsız hücre yapışma molekülleri olup, tek bir gen tarafından kodlanırlar. Ig süper ailesinin tüm üyelerinde bulunan ortak özellik Ig'ler için tipik olan bir veya daha fazla kez katlanmış hücre dışı segmentidir (102) (Şekil 7).Ig süper ailesi üyeleri şunlardır; ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, LFA-2 (CD2), LFA-3 (CD58), NCAM (CD56), PECAM-1 (CD31) ve VCAM-1 (CD106).



Şekil 7. Ig süper ailesi üyeleri (108)

#### 2.15.3.1. ICAM-1

İntrasellüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1), tek bir protein zinciridir ve 5 adet Ig benzeri bölge, bir tek transmembran protein ve kısa bir sitoplazmik

bölge içerir. ICAM-1, LFA-1, Hyaluronan, Mac-1, CD43 ve Fibrinojen gibi yapılara bağlanabilir.

Dinlenme halindeki endotel hücrelerde ICAM-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve LPS gibi dış uyaranlar tarafından aktive olarak, epitelial ve mezenseşimal hücrelerde ekspresyonu artar. ICAM-1'in temel fonksiyonu, inflamasyonda hücre-hücre adezyonunu sağlamaktadır (100).

#### **2.15.3.2. ICAM-2**

İntrasellüler hücre adezyon molekülü-2 (ICAM-2), ikitane Ig benzeri bölge içerir(100). ICAM-2'nin endotel hücrelerindeki ekspresyonu ICAM-1'e göre daha fazladır. Ayrıca sitokin ve LPS ile uyarılmasından sonra ekspresyon miktarı değişmez (109). ICAM-2, endotelde ve lenf nodüllerinin germinal merkezindeki dendritik hücrelerde yüksek miktarlarda eksprese edilir. ICAM-2, LFA-1 ve Mac-1'e bağlanabilir. ICAM-2, inflamasyonun gerçekleşmediği doku endotelinde lökositlerin tekrar sirkülasyonunda rol oynar (100).

#### **2.15.3.3. ICAM-3**

İntrasellüler hücre adezyon molekülü-3 (ICAM-3), ICAM-1 gibi beş tane Ig benzeri bölge içerir. Lökositlerde yüksek düzeyde eksprese edilir ve ICAM-1 ve ICAM-2'nin aksine, birçok endotel hücresinde bulunmaz. ICAM-3'ün LFA-1 ile etkileşiminin, T hücrelerinin antijen sunucu hücrelere bağlanmasının başlangıç aşamasını oluşturur (100).

#### **2.15.3.4. LFA-2 (CD2)**

Lökosit fonksiyonu ilişkili molekül-2 (LFA-2), iki tane Ig benzeri bölge içerir. İnsanlarda ve ratlarda timositlerde, T-hücrelerinde ve NK hücrelerinde sınırlı miktarlarda eksprese edilir. Ratlarda, B-hücrelerinde de eksprese edildikleri bulunmuştur. İnsanlarda LFA-2, LFA-3'e bağlanır ve temel ligandı CD48'dir. LFA-2'nin bu liganda bağlanması, T-hücresi ve antijen sunucu hücreler ya da hedef hücreler arasındaki adezyonu düzenler. LFA-2, ayrıca lenfositlere sinyaller gönderir ve bu sinyaller hücrenin aktivasyonunda rol almaktadır (100).

#### **2.15.3.5. LFA-3 (CD 58)**

LFA-3'ün yapısı LFA-2'ye benzer ve aynı şekilde iki tane Ig benzeri bölge içerir. LFA-3 lökosit, eritrosit, endotel hücreler ve fibroblastlar üzerinde eksprese edilirler. LFA-2'ye bağlanarak T-hücrenin hedef hücre ve antijen sunan hücreler ile ilişkisine, eritrositler ile adezyonuna (rozet oluşumuna) aracılık eder (110).

#### **2.15.3.6. NCAM (CD 56)**

Sinir hücre adezyon molekülü (NCAM), transmembran formda ve glukozilfosfolipidlerle birlikte bulunabilmektedir. Farklı izoformlar post-translasyonel mekanizmalarla belirlenir. NCAM, homotipik bağlanma gösterir ve kollajen, heparin, heparan sülfat ve kondroitin sülfat proteoglikanları ile etkileşime girer (100). NCAM nöral dokularda ve kas hücrelerinde bulunur. Embriyogenez sırasında normal doku mimarisinin gelişimi ve hücre büyümesi sırasında izlenenkontakt inhibisyona katılır (110).

#### **2.15.3.7. PECAM-1 (CD 31)**

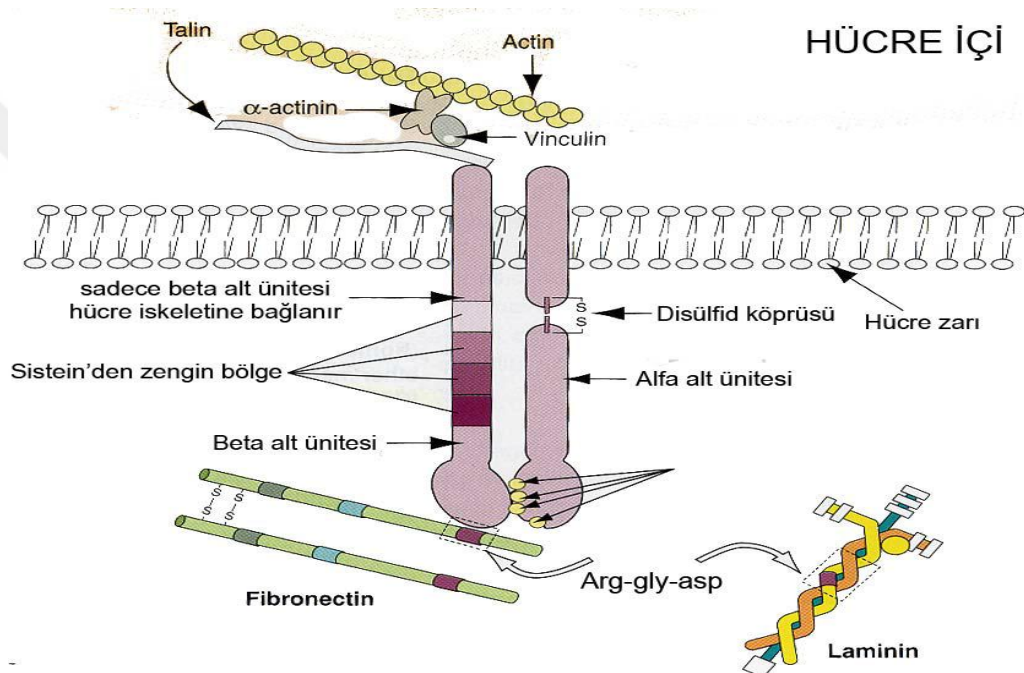
Platelet ve endotel hücre yapışma molekülü-1, altı tane Ig benzeri bölge içerir. Polimorfonükleer hücreler, monosit, trombosit, nötrofil ve endotel hücrelerinde bulunurlar. PECAM-1 homotipik bağlanma ile CD38 ve  $\alpha 5\beta 3$  integrinlerle bağlantı kurmaktadır. PECAM-1, nötrofil ve monositlerin transendotelial göçünde de rol almaktadır (111).

#### **2.15.3.8. VCAM-1 (CD106)**

Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), yedi tane Ig benzeri bölge içerir. Endotelial hücrelerde IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi birtakım inflamatuvar düzenleyiciler tarafından uyarılması sonucu eksprese edilir. VCAM-1 ayrıca bazı makrofajlarda, dendritik hücrelerde, kemik iliği stromal hücrelerinde, enfekte eklemlerdeki sinovial hücrelerde ve kas hücrelerinde eksprese edilir. VCAM-1 damarlanma bölgesinin dışında lenfositlerin, dendritik hücrelere ve kemik iliği stromal hücrelerine tutunmasını sağlar (100).

#### 2.15.4. İntegrinler

İntegrinler, farklı genler tarafından kodlanan iki  $\alpha$  ve iki  $\beta$  alt birimlerinden oluşur. Heterodimer yapıda olmalarıyla kaderin, selektin ve Ig süper ailesinden ayrılırlar. Yaklaşık olarak 17 farklı  $\alpha$  ve 8 farklı  $\beta$  alt biriminin çeşitli kombinasyonlarından oluşan 25 integrin türü bilinmektedir.  $\alpha$  ve  $\beta$  alt üniteleri birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlıdır. İntegrinlerin fonksiyonel aktivitesi için her iki alt ünite gereklidir, ancak bağlanma özgüllüğünün  $\alpha$  alt ünitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (102) (Şekil 8).



Şekil 8. İntegrinlerin temel yapısı (101).

Hemen her hücre bir veya çok sayıda integrin sentezler. Kaderinler gibi  $\beta$ -integrinlerin sitoplazmada bulunan parçası bağlayıcı proteinler olan talin, vinkülin ve  $\alpha$ -aktinin üzerinde aktine bağlıdır. İntegrinlerin hücre dışında kalan parçası bazal membranın önemli iki bileşeni olan laminin ve fibronektinde bulunan üç peptidli RGD (arginin-glisin-aspartik asid) dizisine bağlıdır. Laminin ve fibronektin ise birçok kollajen tipiyle (tip IV kollajen dâhil), heparan sülfat, proteoglikanlar ve entaktin (nidojen) ile ilişki içindedir (102). İntegrinler,  $\beta$  alt ünitelerinin birleşme durumuna göre;  $\beta 1$  integrinler (Çok geç aktivasyon antijenleri (VLA) ),  $\beta 2$  integrinler (Lökosit CAM) ve  $\beta 3$  integrinler (Sitoadezinler) olarak üç alt üniteye ayrılır.

#### 2.15.4.1. $\beta 1$ İntegrinler

İntegrin ailesinin en geniş üyesidirler. Dinlenme halindeki lökositlerde tespit edilebilir düzeyde eksprese edilirler (100).  $\beta 1$  yapısında olan integrinlere, çok geç aktivasyon antijenleri (VLA) denir. Bu isim aktive olmuş T-lenfositlerin yüzeyinde iki-dört hafta gibi uzun bir süre sonunda eksprese olmaları nedeniyle almışlardır.  $\beta 1$  integrinler özellikle lökositlerin endotel hücrelerine ve hücre dışı matrikse bağlanmasında görev alırlar (112).  $\beta 1$  integrinlerin ekspresyonuna örnek olarak, hücre yüzeyindeki  $\alpha 4\beta 1$ 'in timositlerdeki düzeyi hücre yaşlanınca düşmesi verilebilir.  $\beta 1$  integrinlerin hücre dışı matrikse bağlanmasına örnek olarak;  $\alpha 4\beta 1$ 'in VCAM-1 ve fibronektine bağlanması verilebilir.  $\alpha 4\beta 1$ 'in VCAM-1 ile etkileşimi, lenfositlerin aktive olmuş endotel hücrelerine bağlanmasını düzenler. Lökosit adezyonuna ek olarak  $\beta 1$  integrinler embriyonik gelişmede de kritik role sahiptirler (100).

#### 2.15.4.2. $\beta 2$ İntegrinler

Bu grupta yer alan integrinler üç homologtan oluşur;

- 1- Lökosit fonksiyonları ile ilişkili molekül-1 (LFA-1) (113).
- 2- Kompleman reseptör-tip 3 (CR3) = (CD11b) = Mac-1 ( $\alpha m\beta 2$ )
- 3- CR4 = (CD11c) = (P150,95)

**LFA-1;** ICAM-1, ICAM-2 ve ICAM-3'e bağlanabilir. LFA-1'in bu ligandlarla olan ilişkisi, T ve B-hücrelerinin cevabı ve lökositlerin endotel hücre yüzeyine adezyonu ile sonuçlanır (100).

**Mac-1 ( $\alpha m\beta 2$ );** Monositlerde ve granüositlerde yüksek düzeyde ve Thücrelerinde ise düşük miktarlarda eksprese edilir. Granüositlerin ve monositlerin enfeksiyon sonucu aktivasyonu, hücre içi depo Mac-1'in hücre yüzeyinde mobilize olmasını ve hücre yüzeyinde molekülün hızlı ekspresyonu sağlanır. Mac-1'in iC3b komplement sistemi bileşeni ile etkileşimi, fagositoz için gerekli olan opsonizasyonu sağlar. Mac-1 ayrıca, monosit ve nötrofillerin transendotelial göçünde de rol oynar (100).



**P150,95**; Özellikle dendritik hücreler, monositler, makrofajlar ve granüositler tarafından eksprese edilir. NK (Natural killer) hücrelerinde ve T-hücrelerinde düşük miktarda bulunur. P150,95 ayrıca, IC3s, ICAM-1, fibrinojen ve bakteriyel lipopolisakkaridlere bağlanabilir. Bu bağlanmayla birlikte, enfekte olmuş endotele monosit ve nötrofil adezyonunda önemli olduğu, sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonunu sağladığı düşünülmektedir (100).

**$\alpha\text{d}\beta\text{2}$** ; Yakın zamanda tanımlanmış bir integrin tipidir. Dalakta kırmızı pulpada, makrofajlarda ve aorta da yer alan köpük hücrelerinde sentezlenmektedir. Lökositlerde sentezi düşüktür.  $\alpha\text{d}\beta\text{2}$  ICAM-3'e bağlanabilir, ancak bu bağlantı ICAM-1 ve VCAM-1 ile gerçekleşmez (100).

### 2.15.4.3. $\beta\text{3}$ İntegrinler

$\beta\text{3}$ 'ü oluşturan alt üniteler ( $\beta\text{3}$ ) CD61,  $\alpha\text{2}\beta\text{3}$  (CD41) ve  $\alpha\text{5}$  (CD51)'dir.

**$\beta\text{3}$**  integrin heterodimerik bir yapıya sahiptir. CD61 tümör hücrelerinde sekresyonu artan bir belirteçtir.  $\alpha\text{2}\beta\text{3}$  reseptörünün ekspresyonu özellikle plateletlerde gerçekleşir.  $\alpha\text{2}\beta\text{3}$  aktive olmamış plateletlerde yalnızca fibronojene bağlanırken, aktive olmuş plateletlerde ise fibrinojen, von Willebrand faktör, fibronektin, vitronektin ve trombospondine bağlanmaktadır.  $\alpha\text{2}\beta\text{3}$  ve  $\alpha\text{5}\beta\text{3}$  integrinlerde bu grupta yer alır (100).

**$\alpha\text{2}\beta\text{3}$**  tarafından düzenlenen adezyon, platelet agregasyonunda ve aktivasyonunda önemli rol oynar. Platelet aktivasyonu  $\alpha\text{2}\beta\text{3}$ 'ün ligand bağlanması sonucu geçirdiği değişiklik sonucu meydana gelir (100).

**$\alpha\text{5}\beta\text{3}$**  reseptörleri ise, hematopoietik hücreler ve endotel hücreleri, bazı lenfositler, düz kas hücreleri, osteoklastlar ve tümör hücreleri gibi hematopoietik olmayan hücreler tarafından da eksprese edilir. Bu integrinde, vitronektin, fibrinojen, von Willebrand faktör, fibronektin ve trombospondine bağlanabilir.  $\alpha\text{5}\beta\text{3}$  ayrıca platelet ve lökosit endotelyumunda da bulunur (100).

### 2.15.4.4. İntegrinlerin Fonksiyonları

İntegrinler, dolaşımdaki lökositlerin damar endoteline tutunup, yapıştıktan sonra, inflamatuvar alana göç etmelerinde rol alırlar (109). Hücre dışı sinyaller

aracılığı ile haberleşmeyi sağlarlar (112). Embriyolojik gelişim, hemostazis, trombozis, yara iyileşmesi, immün ve immün olmayan savunma mekanizmaları gibi birçok fizyolojik olayda hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonuna katılırlar. Kardiyovasküler sistemde hücre-hücre ilişkisi dinamik bir olgudur ve ince ayarlı bir düzenleme gerektirir. Fibrinojen varlığına rağmen trombositler agregre olmaz, kan akımına rağmen lökositler inflamasyon alanına gidebilir. Bütün bu olaylar dizisinde integrinler anahtar rolü üstlenmektedir (113).

İntegrinlerin, lökositlerin inflamasyon bölgesine göçü sırasında diğer adezyon molekülleri ile koordinatlı bir şekilde fonksiyon görür. Lökosit göçü esnasında, başlangıçta olan yuvarlanma aşaması selektinler tarafından kontrol edilir. Bunu takiben lökositlerin yavaş gerçekleşen akış hareketi, aktive olmuş integrinler tarafından kontrol edilir (100).

## **2.16. Antioksidanlar**

Reaktif oksijen türlerinin düzeylerini ve bunların oluşturduğu hasarı sınırlandırmak için vücutta antioksidan savunma sistemleri ya da antioksidanlar gelişmiştir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir tepkimesini engelleyerek ya da reaktif oksijenleri toplayarak lipid peroksidasyonunu baskırlar. Antioksidanların işlevleri genelde koruma, durdurma ve onarım olarak gruplandırılabilir (114).

Antioksidanlar etkilerine göre dört gruba ayrılır (115):

1. Toplayıcı etki
2. Baskılayıcı etki
3. Zincir kırıcı etki
4. Onarıcı etki

Antioksidanların, serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutması ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürmesine “toplayıcı etki”, serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girip, onlara bir hidrojen vererek aktivitelerini azaltma ya da inaktif şekle dönüştürmesine “baskılayıcı etki”, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak tepkime zincirini kıran etkiye “zincir kırıcı etki” ve tamir işlevine de “onarıcı etki” denir. Antioksidan özelliği bulunan birçok farklı madde

vardır. Bu maddelerin bir kısmı besinlerle dışarıdan alınırken, bir bölümünü vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretir (116).

### **2.16.1. Antioksidanların Sınıflandırılması**

Kökenlerine göre;

- İç kökenli olanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, bilirubin, ürik asit, sistein, histidin, albümin, safra asitleridir.
- Dış kökenli olanlar: Ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz baskılayıcıları, DMSO, lokal anestezipler, rekombinant süperoksit dismutazdır.

Çözünürlüklerine göre;

- Suda çözünenler: Glutatyon, C vitamini, ürik asit
- Yağda çözünenler: A vitamini, E vitamini, ubikinonlar

Yerleşimlerine göre;

- Hücre içinde bulunanlar
- Plazma ve diğer hücre dışı sıvıda bulunanlar

Yapılarına göre;

- Enzimatik olanlar: Sitokrom oksidaz, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S transferaz, hidroperoksidaz
- Enzimatik olmayanlar: Glutatyon, askorbik asit, E vitamini, A vitamini, keratinoidler, ubikinonlar, flavanoidler, melatonin, ürik asit, albümin (117)

### **2.17. Melatonin**

Epifiz bezi, yaklaşık üç yüz yıl önce Fransız filozof Descartes tarafından “ruhun tahtı” olarak tanımlanmıştır. Bu bezde melatonin’ in varlığı ise 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından belirlenmiştir. Sığır epifiz bezi ekstraktının, kurbağa

deri rengini açtığını gözleyen Lerner, melanin granüllerinin agregasyona uğradığını belirlemiş ve ekstrelerden izole ettiği bu maddeye melatonin adını vermiştir (118).

### **2.17.1. Melatonin'in Sentez ve Metabolizması**

Melatonin'in, öncü aminoasiti triptofandır. Triptofan 5-hidroksilaz enziminin 5-hidroksitriptofana (5HTP), 5-hidroksitriptofan da aromatik amino asit dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) aracılığıyla 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin)'e dönüştürülür. Serotonin, arilalkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) ile N-asetilserotonine (NAS) ve son olarak Nasetilserotonin hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enziminin melatonin'e (5-metoksi-N-asetiltriptamin) dönüştürülür. Melatonin, esas olarak epifiz bezindeki pinealositlerde sentez edilir. Aynı zamanda mide-bağırsak sistemi, lens, retina ve diğer pek çok organda sentez edildiği gösterilmiştir (119).

Epifiz bezi, kollikulus süperiorlar, pulvinar talami ve korpokoris kallosi arasında bulunan nöroendokrin özellik gösteren bir organdır (120).

Melatonin sentezlendikten sonra depolanmaz. Düşük molekül ağırlık ve lipofilik, hidrofilik özellikleri nedeniyle pasif difüzyonla dışarı atılır. Kanda bulunan melatonin %70 oranında plazma albuminine bağlıdır. Dolaşımdaki melatonin beyin omurilik sıvısını da içererek tüm biyolojik sıvılara dağılır. Melatonin anneden fetusa plasental yol ve yenidoğanda süt ile geçmektedir. Melatonin' in kandaki yarılanma süresi 10-40 dakikadır. Esas olarak karaciğerde metabolize edilir. Karaciğerden ilk geçişte %90'ı mikrozomal enzimlerce 6-hidroksimelatonin' e dönüşür. İdrardaki başlıca metaboliti 6-sülfatoksi-melatoninidir (121).

### **2.17.2. Melatonin Sentezinin Düzenlenmesi**

Melatonin sentezinde rol alan başlıca faktör, aydınlık-karanlık döngüsüdür. Epifiz bezi, görme sisteminin bir uç organı olarak ritmik ışık mesajının canlıdaki her organa iletilmesini sağlamaktadır. Retinadan başlayan bu yola "Retinohipotalamik yol" adı verilmektedir.

Retinal ışık reseptörleri ışığı elektriksel uyarıya çevirerek suprakiazmatik çekirdeğe iletir. Suprakiazmatik çekirdekte çıkan lifler epifiz bezi ve omuriliğin

intermediolateral kolonuna gider ve buradan süperior servikal ganglionu (SSG) ulaşır. Sempatik bir ganglion olan SSG'dan çıkan postganglionik lifler nevri conarii aracılığıyla epifiz bezine ulaşarak kapiller boyunca bez içinde dağılırlar (122).

Endojen melatonin salgılanma ritmi, retinohipotalamik yol aracılığıyla çevresel ışık-karanlık ile düzenlenmektedir. Suprakiazmatik çekirdek elektriksel erki, günlük sürecin karanlık evresinde baskılanır. Bunun sonucunda, epifiz bezi sempatik sinirleri uyarır. Epifiz bezini sinirsel yapısını oluşturan postganglionik sempatik sinir liflerinden nöradrenalin salınır ve 3-5 siklik adenzin monofosfat (cAMP) ve adenil siklaz aktivite olur. Ayrıca pinealositlerde B adrenerjik ve alfa-1 reseptör aktivasyonu gösterilmiştir. Alfa-1 reseptörler, protein kinaz C (PKC) ve kalsiyum (Ca) miktarındaki artış ile uyarılır. Alfa-1 reseptör ve cAMP aktivasyonu ile melatonin sentezi başlar (123).

Melatonin sentezlenmesi ve saliverilmesi karanlık ile uyarılırken, ışık ile baskılanır. Melatonin sentezinde önemli rol oynayan AANAT ve HIOMT enzimlerin aktiviteleri gece daha yüksektir. Gün ışığının bulunduğu saatlerde retina fotoreseptör hücreleri hiperpolarizedir ve retinohipotalamik-pineal sistem sessizdir, bu dönemde çok az melatonin salgılanır (124).

### **2.17.3. Melatonin'in Antioksidan Etkisi**

Melatonin'in bir antioksidan olduğu, kaynaklarda ilk kez 1991 yılında İanas ve arkadaşlarınca öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmiştir (125).

Melatonin antioksidan etkisini üç şekilde gösterir:

**1. Doğrudan antioksidan etki:** Hidroksil radikalini, hidrojen peroksidi, süperoksit radikalini detoksifiye eder. Melatonin en fazla hidroksil radikaline etki etmekle birlikte melatonin' in antioksidan etkisi pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Serbest radikallerin varlığında melatonin'in pirol halkasından N1- Asetil- N2 formil, 5 metoksinüramin oluşumuyla serbest radikalleri tuttuğu gösterilmiştir. Melatonin' in lipit peroksidasyonunu peroksil radikalini yakalayarak engellediği de bilinmektedir (126, 127).

**2. Doğrudan olmayan antioksidan etki:** SOD, GSH-Px, Glutatyon redüktaz, Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz enzimlerinin gen ekspresyonları ya da aktivitelerini artırmakta ve bu yolla oksidatif stresi baskılamaktadır (126, 127).

**3. Prooksidan enzim aracılığı ile etki:** Melatonin'in bazı prooksidan enzimleri baskılayarak serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yolla antioksidan sistemi desteklediği Beyer ve Reiter' in çalışmalarında öne sürülmüştür (129).

In vitro ve in vivo koşullarda, nitrik oksit (NO) ve daha ileri aşamada peroksinitrit oluşumuna neden olan NO sentaz erkinin, fizyolojik melatonin yoğunluklarında baskıladığı bildirilmektedir (126, 127, 129).

Melatonin, elektrondan zengin bir moleküldür ve doğrudan antioksidan, yağ ve suda çözünür özelliğe sahip olması nedeniyle, vücudun her hücresine, sitozole ve hücre içindeki diğer yapılara kolaylıkla girer. Bu nedenle vitamin ve mineral antioksidanlara göre çok daha etkilidir. Doğrudan çekirdeğe girebilme özelliği nedeniyle DNA'da hasar yapma şansı yüksek olduğundan güçlü antioksidandır. Melatonin'in E vitaminine karşın en az iki kat, glutatyona göre beş kat daha etkili bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (127, 129, 131). Yapılan çalışmalarda melatonin'in vitamin E ve vitamin C'nin antioksidan etkilerine sinerjik etki yaptığı ve mitokondriyonlardaki elektron taşınımı sırasında oluşan serbest radikallerin oluşumunu baskılayıcı etkisi olduğu da bilinmektedir (129).

Melatonin'in toksik ilaçlara, bakteriyel toksinlere, şiztosomiaya, ağır metallere etkin kalmaya karşı koruyucu etkileri bulunmakla birlikte Alzheimer, tardive diskinezisi, demir ve eritropoetin alımı, ultraviole (UV) radyasyonun neden olduğu deri eritemine karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir (131).

## **2.18. Selenyum**

Selenyum (Se) ilk olarak 1817 yılında Jons Jacob Berzelius tarafından keşfedilmiştir. Atom numarası 34, kütle numarası 78.96 olan, insan sağlığı için temel olan esansiyel bir elementtir. Aynı grupta yer aldığı sülfür ve telliryum ile kimyasal olarak benzerlik göstermektedir (132).

Başta böbrek ve karaciğer olmak üzere insanın tüm dokularında bulunan selenyumun birçok organik ve inorganik formu mevcuttur. Dimetil selenit,

selenometiyonin ve selenosistein organik şekli; saf selenyum, selenid, selenat ve selenit ise selenyumun inorganik şekilleridir. Yiyeceklerde organik bileşikler halinde bulunan selenyumun dışarıdan alındığı durumlarda kullanılan bileşiği sodyum selenittir ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ). Bu nedenle deneysel selenyum çalışmaları özellikle selenit mebolizması üzerinde yoğunlaşmıştır (132-135).

Selenyum yüksek dozlarda toksik olmasına rağmen çok az miktarları da belli enzimlerin aktif merkezlerini şekillendirir ve tüm hücrelerin fonksiyonları için gereklidirler. İnsanlarda glutasyon peroksidaz ve trioredoksin redüktaz gibi antioksidan enzimlerin yapısına kofaktör olarak katılmaktadır. Glutasyon peroksidazın biyokimyasal fonksiyonu birçok doku ve hücredeki hemen hemen bütün organik ve inorganik hidroperoksidazları indirgemektir. Glutasyon peroksidaz enzimi hidrojen peroksiti indirger ve süperoksit dismutaz ve katalaz ile birlikte organizmada hücrel antioksidan savunma sistemini oluşturur. Reaktif oksijen türlerinin lipid peroksidasyona yol açan ve intrasellüler makromoleküllerle reaksiyona girebilme özellikleri antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulmaktadır (132, 136-140).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda selenyumun kanser, inflamatuvar hastalıklar, tiroid fonksiyonu, karaciğer nekrozu, kardiyovasküler hastalık, nörolojik hastalıklar, yaşlanma, infertilite ve enfeksiyon oluşan dokularda meydana gelen dejenerasyonlara karşı koruyucu olduğu deneysel çalışmalarla, klinik araştırmalarla ve epidemiyolojik verilerle saptanmıştır. Bu durumlardaki birçok etkisi selenyumun antioksidan sistemlerdeki fonksiyonlarla ilgilidir. Eksikliğinde çeşitli hastalıklar gelişmektedir. Bunlar arasında Çin'in selenyum eksik bölgelerinde gelişen endemik kardiomiopati, kanser, musküler distirofi, sıtma ve kardiyovasküler hastalıklar bulunmaktadır (135).

Deney verileri sonuçlarına göre selenyum bileşikleri hem spesifik kanser türlerinin önlenmesinde ve hem de kanserin başlangıç fazında antitumorik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Özellikle kemoterapi uygulanan hastalarda selenyum eksikliğinin tamamlandığı durumlarda immün uyarıcı etkilerin varlığı bildirilmiştir (141).

Selenyum in vivo ve in vitroda insuline benzer özellikler göstermektedir. Bu etkiye muhtemelen insulin sinyal yolundaki tirozin kinazın uyarılması sonucunda

neden olabilmektedir. Bununla birlikte diyabetik sıçanlarda Se sadece glisemik kontrolü değiştirmeyen, ayrıca diyabetin kardiyak, renal, karaciğer ve plateletler üzerinde neden olduğu yan etkileri önler ya da hafifletir. Bu araştırıcılar Streptozotosin (STZ) ile uyarılmış diyabetik farelerde sodyum selenit uygulamasının kan glukoz, lipid peroksidasyon, glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon S transferaz ve kan selenyum seviyelerine etkisine bakmışlar ve bu parametrelerin kontrol seviyelerine yakın olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlar, selenyumun diyabetle ilişkili oksidatif stresi azaltmada rol oynadığını öngörmektedir (141).

Bazı çalışmalarda yüksek selenyumun oksidatif stres ve inflamasyonda yararlı olduğu bulunmuş ve hücre büyümesi, apoptoz, hücre sinyal sistemleri ile transkripsiyon faktörlerinin de etkilerini düzenleyebileceği belirtilmiştir (141).

## **2.19. Metalloproteinler**

Metalloproteinler (MT), küçük molekül ağırlıklı (6000-7000 Da), 18-23 sisteinli 61-68 aminoasitli sülfürden zengin, asidik pH'da metal bağlama yetenekleri artabilen, enzimatik olmayan, Zn, Cu ve Cd gibi ağır metallerle karşı bağlanma kapasitesi olan hücre içi metal bağlayıcı proteinlerdir (145). MT'lerin hayvanlarda, bitkilerde, bakterilerde ve mantarlarda değişik formları vardır. Bu moleküllerin temel rolü Cd ve Hg gibi toksik ve ağır metallerle, Cu ve Zn gibi iz elementleri bağlamasıdır. Çinkodan yoksun beslenmelerde, enfeksiyonlarda, yangıda, toksik metal alımında, oksijen radikalleri ve stres durumlarında, Cu ve Zn gibi iz element homeostazisi ile Cd ve Hg gibi ağır metallerin detoksifikasyonunda MT'lerin önemli rolleri olduğu tespit edilmiştir (142).

### **2.19.1. Metalloproteinlerin Çeşitleri ve Dokulardaki Dağılımı**

MT'lerin memelilerde 15 farklı tipi bulunmaktadır. Bu farklılık sistein moleküllerinin biyokimyasal yerleşimine bağlı olarak oluşur ve her bir tip MT değişik metalleri bağlama yeteneğine sahiptir. MT'lerin 15 farklı metale karşı affiniteleri olmakla birlikte Cu, Cd, Pb, Ag, Bi ve Zn'yi daha fazla bağlayabilmektedirler (43, 47). MT'ler 4 divalent bağlayabilen  $\alpha$  (c-terminal) zincirler ile 3 divalent metal bağlayan  $\beta$  (N-terminal) zincirlerine sahiptir (3).  $\beta$  zincirler Cd, Zn ve Cu gibi elementleri daha hızlı bağlayabilirken,  $\alpha$  zincirler diğer



elementlerin bağlanmalarında görev almaktadırlar. Memelilerde MT'ler genel olarak MT-1, 2, 3 ve 4 proteinleri olarak isimlendirilirken, insanlarda 10-17 MT geninin varlığından da bahsedilmektedir. İnsanlardaki MT'ler, hMT-1, hMT-2, hMT-3 ve hMT-4 formları olarak adlandırılmaktadır. Metalloproteinler vücutta pankreas, barsak, böbrek ve karaciğerde çok yoğun olarak bulunmaktadır. Genel olarak MT'lerin fizyokimyasal özellikleri aynı olmakla birlikte biyolojik fonksiyonları farklılık göstermektedir. MT-1 metallerin detoksifikasyonunda etkili iken, MT-2 daha çok hücre metabolizması üzerinde etkilidir. MT-1'in MT-2'ye göre birçok organda daha fazla bulunduğu da bildirilmektedir. Başlıca beyinde yer alan ve sinir sistemi için özelleşmiş olan MT-3; testis, prostat, epididimis, dil, ovaryum, mide ve kalp gibi dokularda az da olsa bulunmaktadır.

MT-3; MT-1 ve 2'den 7 aminoasit daha fazladır, ancak ağır metallerle karşı bağlanma hızı daha yavaştır. MT-4; dil ve deri gibi organlarda, çok katlı yassı epitelin stratum korneum katmanında ve maternal desidualarda bulunmaktadır. MT-3'ün beyin dokusunda growth inhibitory factor (GIF) olarak adlandırıldığı ve bu proteinin nöral bozukluklarda (Alzheimer hastalığı gibi) %30 azalarak nöronal büyümeyi inhibe ettiği bildirilmektedir (142).

### **2.19.2. Dokularda Metalloprotein'lerin Tespit Yöntemleri**

Metalloproteinlerin histolojik olarak tespitinde bilinen immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak bu proteini içeren hücreler belirlenebilir. Ayrıca MT'ler dokularda gümüş doyurma ve kadmiyum-hemoglobin affinite ölçüm metodları ile tespit edilebilmektedir. MT-1 ve MT-2 iyon değiştirme kromatografi, yüksek performanslı likid kromatografi (HPCL), kapillar zone elektroforez (CZE) yöntemleriyle ayrıldıktan sonra atomik absorpsiyon spektrometre (MS) ya da UV absorpsiyon yöntemleriyle de isimlendirilebilmektedir. Ayrıca ELISA yöntemiyle de belirlenebilirler (142).

### **2.19.3. Metalloproteinlerin Görevleri ve Bazı Organlardaki Dağılımı**

Bakır, molibden, çinko gibi esansiyel metaller ile kadmiyum, civa, kurşun gibi esansiyel olmayan elementlerin organ, doku ve hücrelerde aşırı miktarda birikmesi toksikasyona sebep olmaktadır. Bu toksikasyonun önlenmesinde enzimatik

düzyeyde, translokasyon ve transkripsiyon aşamalarında metal bağlayıcı protein olan MT'lerin devreye girmeleri ile Zn ve Cu düzenlenmekte Cd, Hg ve Pb gibi ağır metaller zararsız hale getirilmektedir (142).

Çinko canlılar için esansiyel iz elementlerin başında gelir. Protein sentezi, karbonhidrat ve enerji metabolizması, DNA ve RNA sentezi gibi önemli fonksiyonlara katılan çinko; birçok enzimin, metalloiyoninlerin, interlökinlerin ve bazı hormonların biyolojik fonksiyonları için esansiyel niteliktedir. Özellikle Cd gibi ağır metallerin toksik etkilerine karşı koruyucu etkileri bulunan çinko, metalloiyoninler içinde primer indükleyici bir elementtir. Çinko depolayan MT'ler ile çok sıkı ilişkili olan intrasellüler veziküller zincosome olarak isimlendirilmektedir. Bu veziküllerin hücrelerde taşınmasını sağlayan çinko transport (ZnT-1, 2, 3 ve 4)olarak adlandırılan proteinlerden özellikle ZnT-3 nöronlarda, ZnT-4 ise meme bezlerinde bulunur. T-hücre fonksiyonlarında, doğal öldürücü hücre (natural killer cell-NK) aktivitesinde, interlökin-2 (IL-2) üretiminde çinkonun kullanılabilirliğine bağlı olarak MT'lerin rolü artmaktadır (142).

Gastrointestinal kanaldan ve akciğerlerden emilebilen Cd, başlıca böbreklerde ve karaciğerde birikir. Bu metalin thiol gruplarına karşı affinitesi oldukça fazla olup detoksifikasyonunda ve taşınmasında Mt ve glutathione gibi proteinler önemli rol oynamaktadır. Diyetlerde Ca azalması ve Zn'nun artması, Cd emilimini artırır. Bu emilimde Cd'un çoğu yüksek molekül ağırlıklı proteinlere bağlanarak, az bir miktarı da küçük molekül ağırlıklı olan MT ve diğer proteinlere bağlanarak taşınmaktadır. Cd'un çok az miktarı karaciğer ve böbreklerden MT gibi proteinlere bağlanarak atılabilir. Geriye kalan önemli miktar ise yaklaşık 10 yıl kadar vücutta kalabilmektedir. Organizmada Zn'nun yetersizliği Cd toksikasyonu riskinin artmasına neden olmaktadır. Barsaklardaki Cd konsantrasyonu karaciğer ve böbreklerdekinden daha fazladır. Barsaklarda genellikle proksimal kısımlarda, böbreklerde ise medulladan daha çok kortekste birikim olmaktadır. Cd gastrointestinal kanaldaki Ca emilimini azaltarak kemiklerde dekalsifikasyon, kemiklerde ise Cd birikmesi ise kalsifikasyonu engelleyici etkiler oluşturmaktadır. Cd'a karşı antagonist etkili elementlerden olan Cu, Zn ve Fe karaciğer ve böbrekte MT sentezinin artmasına neden olarak Cd toksisitesini azaltmaktadır (142).

Ağır metalleri bağlayan bir protein olarak bilinen metallothiyoninin testislerde de bulunduğu ve sahip olduğu sistein rezidüleri ile çinko, bakır ve kadmiyum gibi ağır metallere bağlanarak detoksifikasyonda görev aldığı rapor edilmektedir (143).

Hızlı üreyen hücrelerin hem çekirdeklerinde hem de sitoplâzmasında MT artışı olmaktadır. MT'lerin çekirdekte artmasının sebebi henüz bilinmemekle birlikte oksidatif zararlardan DNA'yı koruyor olabileceği ya da bağlayıcı Zn molekülleriyle transkripsiyon faktörlerini ve kritik öneme sahip enzimleri düzenleyebileceği bildirilmektedir. Hücre siklusuna önemli katkıları bulunan MT'ler, G<sub>0</sub> (G: growth-büyüme fazı) fazında bazal miktarda, G<sub>1</sub> geç dönemlerinde ve G<sub>1</sub>/S (synthesis-sentez fazı) geçiş döneminde bol miktarda bulunur. Ayrıca maksimum çekirdek büyümesi sırasında bazal miktarın 2-3 katına kadar çıkarken, S ve G<sub>2</sub> fazında ise bulunmamaktadır. Hücre proliferasyonunu kolaylaştırdığı, göğüs kanserlerinde arttığı ve apoptozisin kontrolünde görev aldığı bazı kaynaklarda yer almaktadır. MT-1 ve 2 geni çıkartılmış (MT negatif) canlılarda hücre ölümünü etkileyen Bax ve tümör baskılayıcı protein olan p53 düzeyleri MT pozitif canlılardaki hücrelerden daha yüksek sınırlardadır. Lösemili ocukların periferal kanında, insanlarda karaciğer tümörlerinde ve laringeal hiperplastik lezyonlarda MT miktarının artışı apoptotik hücrelerde azalmaya neden olurken, MT'nin miktarının azalmasıyla hücrelerdeki apoptozisin artışı arasında bir korelasyonun bulunduğu tespit edilmiştir. Enfeksiyonlarda, yaralanmalarda ve yangısal olaylarda uyarılan MT'ler sitokrom C aracılığıyla caspas 3 aktivasyonunu inhibe ederek apoptozisi azaltmaktadır (40). Farelerde CCL<sub>4</sub>, parasetamol, kemoterapi, U.V ışınların zararlarına karşı MT'nin antioksidan özelliğe sahip olduğu, bu protein artışının göğüs kanserinin prognostik teğhisinde önemli kriterlerden biri olduğu da tespit edilmiştir (142).

MT sentezini uyaran metaller organlarda farklı reaksiyon oluşturmaktadır. Kadmiyum karaciğerde, çinko ise pankreasta MT sentezinin artmasına neden olmaktadır. İnterlökinler, hidrojen peroksit, glukokortikoidler, glukagon, kateşolaminler, TNF- $\alpha$ , gamma interferonlar ve yangısal faktörler MT sentezinin artmasına doğrudan etki ederlerken, Fe ve dektran türevleri dolaylı yoldan MT'nin artmasına neden olmaktadır (142).

Metallotiyoninler; endojen antioksidatif bir protein olması, proteinlerle redoks yapabilmesi ve metal bağlayıcı özellikleri sayesinde biyosistemde önemli fonksiyonların yerine getirilmesini sağlamaktadır. Bu hücre içi proteinler;

- MT'ler vücutta Zn ve Cu gibi elementlerin homeostazisi, Cd, Pb ve Hg gibi ağır metallerin detoksifikasyonunda aktif görev almaktadırlar.
- Çeşitli nedenlerle ortaya çıkan hidroksil radikaller ve oksijen serbest radikallerin oksidatif etkilerine karşı hücre yaralanmalarını önlemesi nedeniyle doğal anti-oksidatif proteinler olarak devreye girmektedirler.
- Merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunan MT'ler; vücutta meydana gelecek iz element yetersizliklerinde ve ağır metal toksikasyonlarında, bu metallerle kompleks oluşturarak beyinde bir bariyer görevi yaparlar.
- Gebelik dönemlerinde; annede ve yavruda iz element kullanılabilirliğinin artmasını ve ağır metallerin tutulmasını sağlayarak yavrunun normal gelişimini tamamlaması ve meydana gelecek teratojenik etkilerin en aza indirilmesini sağlamaktadırlar.
- Hücre bölünmelerinde etkili olan Zn ve Cu gibi iz elementlerle kompleks yaparak hücre proliferasyonuna direkt etkileri bulunmaktadır.
- Histolojik ve patolojik dokularda programlanmış hücre ölümü olan apoptozisi kontrol altında tutmaya yardımcı olmaktadır.
- Beyin, pankreas, barsak, karaciğer ve böbrekte meydana gelen yapısal hastalıkların (Alzheimer, epilepsi, sclerosis, diyabet, Wilson hastalığı gibi.) birçoğunun önlenmesinde ve tedavisinde bu proteinin önemli derecede etkilerinin olduğu, bu nedenlerle birçok hastalıkla mücadelede ve metabolik faaliyetlerin devam etmesinde bu proteinlerin kullanımının faydalı olacağı bildirilmektedir (142).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın deneysel kısmı Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Deneysel Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 180-230 gr arasında değişen, toplam 64 adet Wistar Albino cinsi Dişi sıçan (rat) kullanıldı. Deneysel süresince sıçanların su ve yeme (Yem Kurumu Standart Fare Yemi) sınırsız erişimine (ad libitum) izin verildi.

##### 3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Deneysel hayvanlarına uygulanan kimyasallar aşağıda belirtilmiştir.

-Kadmiyum Klorür (Kadmiyum) (Alfaeser Cat: 13677 Russia)

-Melatonin (Sigma Cat: M5250 China)

-Sodyum Selenat (Selenyum) (Alfaeser Cat: 12613 USA)

-Serum Fizyolojik

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Deneysel Planı

Çalışmada, her grupta 8 sıçan (n=8) olmak üzere 7 ayrı deneysel grubu ve bir kontrol grubu oluşturuldu ve toplam 64 sıçan (n=64) kullanıldı. Deneyselimiz 30 gün sürdü ve melatoninin gece aktif olmasından dolayı bütün ajanlarımız ratlara gece verildi. Deneysel planı tablo I'de verilmiştir.

**Grup I (Kontrol grubu):** Serum fizyolojik, 30 gün boyunca her gün 0,2 ml intraperitoneal olarak verildi.

**Grup II (Kadmiyum (CdCl<sub>2</sub>) grubu):** Kadmiyum klorür, 30 gün boyunca her gün 2 mg/kg gavaj yoluyla verildi.

**Grup III (Melatonin grubu):** Melatonin, 30 gün boyunca her gün 3 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı.

**Grup IV (Selenyum (NASE) grubu):** Sodyum selenat, 30 günde 6 defa beşer gün arayla 1 mg/kg intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı.

**Grup V (Cd + melatonin grubu):** Kadmiyum klorür ve melatonin, 30 gün boyunca 2 mg/kg Cd gavajla, 3 mg/kg melatonin i.p. olarak uygulandı.

**Grup VI (Cd + selenyum grubu):** Kadmiyum klorür ve sodyum selenat, 30 gün boyunca 2 mg/kg Cd gavajla her gün, Selenyum ise 1 mg/kg i.p. olarak 6 kez uygulandı.

**Grup VII (melatonin + selenyum grubu):** Melatonin ve selenyum birlikte 30 gün boyunca i.p. olarak uygulandı. Ancak melatonin her gün uygulanırken selenyum 6 kez uygulandı.

**Grup VIII (Cd + melatonin + selenyum grubu):** Kadmiyum 30 gün boyunca gavajla verildi. Melatonin ve selenyum ise birlikte 30 gün boyunca i.p. olarak uygulandı. Ancak melatonin her gün uygulanırken selenyum 6 kez uygulandı.

Serum fizyolojik (sf) her gün kontrol grubuna gavaj ve i.p. olarak uygulandı.

2mg kadmiyum, 1ml sf içinde çözülerek hazırlandı ve gavaj yoluyla ratlara uygulandı.

3mg melatonin, 1ml %100 saf alkol içerisinde çözülüp üzerine 9 ml Sf (pH=7.4) eklendi. Elde edilen çözünmüş melatoninden 3 mg/kg dozunda olacak şekilde i.p. uygulama yapıldı.

1mg sodyum selenat, 1ml sf içinde çözülerek i.p. olarak uygulandı.

Deneyimizin başladığı tarihte, 15 gün sonrasında ve deney bitiminde (30.günde) ratların ağırlıkları ölçüldü.

**Tablo 1.** Deney grupları, verilen kimyasalların dozları ve günleri

| Deney Grupları | Hayvan Sayısı | Verilen Kimyasal Türü       | Verilen Doz Miktarı  | Süre      |
|----------------|---------------|-----------------------------|----------------------|-----------|
| I              | 8             | Serum fizyolojik            | 2mg/ml               | 30        |
| II             | 8             | Kadmiyum                    | 2mg/ml               | 30        |
| III            | 8             | Melatonin                   | 3mg/ml               | 30        |
| VI             | 8             | Selenyum                    | 1mg/ml               | 6         |
| V              | 8             | Kadmiyum+melatonin          | 2mg/ml+3mg/ml        | 30, 30    |
| VI             | 8             | Kadmiyum+selenyum           | 2mg/ml+1mg/ml        | 30, 6     |
| VII            | 8             | Melatonin+selenyum          | 3mg/ml+1mg/ml        | 30, 6     |
| VIII           | 8             | Kadmiyum+melatonin+selenyum | 2mg/ml+3mg/ml+1mg/ml | 30, 30, 6 |

30 günlük deney sonunda sıçanlara 90 mg/kg ketamin-HCl ve 10 mg/kg ksilazin i.p. anestezi uygulanarak sakrifiye edildi. Ratların Dişi genital sistem organları (Over, tuba uterina ve uterus) alındı. Alınan dokular histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar için %10'luk tamponlu (sodyum fosfat monobazik ve dibazik) nötral formaldehitte tespit edildi.

### **3.2.2. Histolojik Doku Takip Çalışmaları**

%10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda, immersiyon-fiksasyon yöntemi uygulanarak tespit edilen dokular yıkama işleminden sonra aşağıda gösterilen işlemlerden geçirildi.

#### **A) Dehidratasyon**

Dokular dereceli alkollerde aşağıdaki sürelerde bekletildi.

#### **Alkol derecesi Süre**

%50 1 saat

%70 1 saat

%80 1 saat

%90 1 saat

%96 1'er saat arayla 3 kez alkol değiştirilerek bekletildi.

## **B) Şeffaflaştırma**

Ksilolde 15-30 dk

## **C) Emdirme**

Ksilol+parafin (65° C etüvde) 15 dakika

Sıvı parafin (65° C etüvde) 1 saat

Sert parafin 1 gece oda ısısında tutuldu.

Ertesi gün sabahtan sert parafinde bulunan dokular etüvde (65° C) eriyinceye kadar bekletildi.

## **D) Gömme**

Sert parafin kullanılarak dokular bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan, Leica marka kızaklı mikrotom kullanılarak 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı.

## **E) Hematoksilen-Eozin Boyama**

Preparatlar etüvde 1 saat bekletildi ve parafinin erimesi sağlandı. Preparatlar Ksilol 1 ve ksilol 2'de 20'şer dk bekletildi. Sonra %96, 90, 80, 70'lik alkol serilerinde 5'er dk bekletildi. Daha sonra distile su'da 5 dk bekletildi. Hematoksilen (DDT hemalum)'de 4 dk bekletildi. 5dk çeşme suyunda yıkandı. Asit alkol (%80'lik alkol 2/3, HCL 1/3 oranında karıştırılarak hazırlandı) solüsyonuna 2 kez batır çıkar yapıldı. Eozin (DDT eozin) ile 2 dk boyandı ve 1dk çeşme suyunda yıkandı. Boyanmış preparatlarımızı %70, 80, 90'lık alkol serilerinden 1'er kez batır çıkar yapılarak ksilol şalesine 1 günlüğüne bırakıldı.

## **F) Kapama**

Işık mikroskobunda preparatlar incelendi ve görüntü netliği kazanılınca entellan ile preparatlarımızın kapama işlemi yapıldı.

## **İmmünohistokimyasal boyamada kullanılan kimyasalların hazırlanışı:**

### **Primer antikolar:**

Kullanılan primer antikolar

- Rabbit Anti-CD171/NCAM L-1 (BİOSS Cat: bs-1996R USA).



- Rabbit Anti-Metallothionein-3 (GenetexCat: GTX60188 USA)
- E-cadherin/CDH1 (Thermo Cat: PA5-29252 Taiwan)

NCAM antikorunu 1:500 oranında, Metallothionein-3 1:500 ve E-cadherin 1:500 oranında Antibody diluent (Labvision) solüsyonu ile sulandırıldı.

#### **Sekonder antikor:**

Sekonder antikor olarak kullanılan goat-anti rabbit IgG (Santa Cruz) 1:200 oranında dilüe edildi.

#### **Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS; Phosphate Buffer Solutaion):**

Hazır PBS tabletlerin her biri 100 ml distile suda çözülerek hazırlandı ve taze olarak kullanıldı.

#### **Sodyum Sitrat Solüsyonu:**

16,5 gr sodyum sitrat, 500 gr distile su ile karıştırılarak pH=6 olacak şekilde ayarlandı. Her boyama için taze solüsyon hazırlandı.

#### **%3'lük Hidrojen Peroksit Solüsyonu:**

90 ml metanol üzerine 10 ml %30'luk hidrojen peroksit eklenerek karıştırılır. Her boyama için taze solüsyon hazırlandı.

#### **Kromojen:**

DAB (diaminobenzidin), Horseradish-peroksidaz enziminin substratı olarak kullanıldı. Üretici firmanın (Labvision) önerisine göre 2 ml substrat için 1 damla kromojen içerecek şekilde karıştırıldı. Her karışım kullanımından yaklaşık 20 dk önce taze olarak hazırlandı.

#### **Zıt Boyama:**

Zıt boyamada amaç dokudaki antijenik olmayan hücre ve hücre yapılarını boyamaktır. Zıt boyama için Mayer hematoksilen (J.T. Baker) kullanıldı.

#### **İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü**

• 4 µm kalınlığında elde edilen parafin kesitler etüvde 37C' de etüvde bir saat bekletildi.

- Deparafinizasyon işlemi için Ksilol-1’de 10 dk
- Deparafinizasyon işleminin devamı Ksilol-2’de 10 dk
- Dehidratasyon işlemi için sırasıyla %100’lük alkolde 5 dk
- %96’lık alkolde 5 dk
- %90’lık alkolde 5 dk
- %80’lik alkolde 5 dk
- %70’lik alkolde 5 dk bekletildi.
- PBS solüsyonunda 5 dk bekletildi.
- Kesitler sodyum sitrat tamponunda 600W’a ayarlı mikrodalga fırında 1 dk ısıtıldı ve 20 dk oda sıcaklığında dokularla birlikte soğumaya bırakıldı.
- Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3’er dk bekletildi.
- PAP Pen kalem ile polilizinli lamların üzerindeki doku kesitlerinin etrafını çizildi. Bu işlem ileriki safhalarda da gerektiğçe tekrarlandı.
- Dokuların üzerini kaplayacak şekilde ve diğer dokularla karışmamasınadikkat edilerek %3’lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu damlatıldı. 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3’er dk bekletildi.
- Dokunun üzerini kapatacak şekilde Ultra V Block (Labvision) damlatıldı ve 10 dk bekletildi.
- Lamlardaki son kesitlere kontrol amacıyla sekonder antikor, diğer kesitlerin üzerine de primer antikor damlatıldı. Lamlar nemli kabin içerisinde +4C’de bir gece bekletildi.
- Ertesi gün kesitler PBS-1, PBS-2 ve PBS-3’te 3’er dk bekletildi.
- Sekonder antikor, dokuların üzerini kaplayacak şekilde damlatılarak 10dk beklendi.
- Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3’er dk bekletildi.

- Dokunun üzerini tamamen kaplayacak şekilde Streptavidin Horseradish Peroksidaz (Labvision) damlatıldı ve 10 dk beklendi.

- Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dk bekletildi.

- DAB solüsyonu (Labvision), dokuların üzerine damlatıldı ve reaksiyon vermesi için 10dk karanlıkta bekletildi.

- Kesitler üç ayrı PBS solüsyonunda 3'er dk bekletildi.

- Zıt boyama Hematoksilen (Mayer) ile 10 sn süresince yapıldı.

- Çeşme suyunda 5 dk yıkandı.

- Sırasıyla %70, %80, %90 ve %100'lük alkol serilerinden batır çıkar yapılarak geçirildi.

- Kesitler şeffaflaşana kadar ksilolde bekletildi.

- Entellan kullanılarak kapama yapıldı.

Boyanan örnekler Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve fotoğraflar elde edilerek değerlendirildi.

### **3.2.3. Apoptotik DNA Analizi**

- Elution Buffer su banyosunda 70C'ye ısıtıldı

- 200 uL tam kan örneğini üzerine 200 uL Binding/Lysis Buffer eklendi (son hacim 400 uL)

- Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi

- Pozitif kontrolün üzerine direkt 400 uL Binding/Lysis Buffer eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi

- Örneklerin ve pozitif kontrolün üzerine 100 uL isopropanol ilave edilerek vorteksle karıştırıldı

- Temiz filtreli tüpe örnekler pipet yardımıyla akatarıldı

- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüjlendi

- Supernatant döküldü

- Filtreli tüpe 500 uL Washing Buffer eklendi ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüjlendi
- Tekrar supernatant döküldü
- Tekrar 500 uL Washing Buffer eklendi ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüjlendi
- Son olarak 13000 rpm'de 10 saniye santrifüjlendi
- Supernatant döküldü
- Filtreki bölümün altına yeni temiz 1,5 mL'lik ependorf yerleştirildi
- Su banyosunda 70C°'de ısınmış hazır bekleyen Elution Buffer'dan 200 uL alınarak filtreli tüpe eklendi ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüjlendi
- Ependorf içinde DNA örnekleri elde edildi.

DNA örnekleri %1'lik etidium bromidli agaroz jelde 90V elektrik akımı ile yürütüldü. Bant paternleri UV transilüminatör altında değerlendirildi.

#### **3.2.4. Biyokimyasal Analiz**

##### **MALONDİALDEHİT (MDA)**

MDA standartları hazırlanır, benmari 100°C'ye getirilir, soğuk su ve blank için 2 tüp hazırlanır.

##### **Standart Hazırlanışı:**

%40'lık etanol hazırlanır; (40ml etanol+60ml distile su)

50 µl TEP (1,1,3,3-Tetraethoxypropane)- %40'lık etanol karışımı ile 25 ml'ye tamamlanır;

Bu durumda **8360 µmol/Lstok** oluşturulmuş olur.

Stok solusyondan 0.1 ml alınır, %40'lık etanol ile 20 ml'ye tamamlanır. Böylece **41.8 µmol/Llik Standart 1**.konsantrasyon oluşturulur.

**Standart 2:** 1ml distile su + 1ml **standart 1 (20.9µmol/L)**

**Standart 3:** 1ml distile su + 1ml **standart 2 (10.47µmol/L)**

**Standart 4:** 1ml distile su + 1ml **standart 3** (5.22 $\mu$ mol/L)

**Standart 5:** 600 $\mu$ l **standart 1**+ 4400 $\mu$ l distile su (D.su ile 5ml'ye tamamlanır) (4.86 $\mu$ mol/L)

**Standart 6:** 300 $\mu$ l **standart 1**+ 4700 $\mu$ l distile su (D.su ile 5ml'ye tamamlanır) (2,43 $\mu$ mol/L)

**Standart 7:** 150 $\mu$ l **standart 1**+ 4850 $\mu$ l distile su (D.su ile 5ml'ye tamamlanır) (1.22 $\mu$ mol/L)

**Standart 8:** 75 $\mu$ l **standart 1**+ 4925 $\mu$ l distile su (D.su ile 5ml'ye tamamlanır) (0.62 $\mu$ mol/L)

**Manuel MDA Çalışma Prensibi:**

0.5 ml numune+2.5 ml % 10'luk TCA, (kör için numune yerine 0.5 ml distile su kullanılır)

Vortexle, 15 dakika kaynar suda bekletilir, süre dolunca hemen soğutulur,

5000 devir/dakika, 10 dakika santrifüj edilir.

2 ml süpernatant al + 1 ml % 0.67'lik TBA eklenir,

Vortexle, 15 dakika kaynar suda bekletilir, süre dolunca hemen soğutulur.

532 nm'de (numune yerine distile su koyarak hazırlanan) köre karşı okutulur.

\* Drapper HH, Hadley M (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol 186:421–431

**Tablo 2.** İki çalışmanın absorban örnekleri

| MDA standart | Abs.         |
|--------------|--------------|
| Standart 1   | 0,835 /1,414 |
| Standart 2   | 0,405 /0,679 |
| Standart 3   | 0,199 /0,347 |
| Standart 4   | 0,096 /0,178 |
| Standart 5   | 0,089 /0,172 |
| Standart 6   | 0,045 /0,083 |
| Standart 7   | 0,017 /0,040 |
| Standart 8   | 0,007 /0,018 |

Doku için:

( $\mu\text{mol/L}$ )/ (mgr/dL)  $\rightarrow$   $\mu\text{mol}$  / mgr protein

Hemolizat için:

( $\mu\text{mol/L}$ )/ (gr/dL)  $\rightarrow$   $\mu\text{mol}$ / gr Hg

### **Katalaz Aktivitesi Ölçümü**

KAT aktivitesi Aebi yöntemine göre çalışılmıştır. Yöntem, hidrojen peroksidin ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) katalaz varlığında su ve moleküler oksijene dönüşmesi sırasında harcanan  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin absorbansının 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (27).Dişi genital dokusuna ait KAT aktivite değerleri, U/mg protein olarak verildi.

### **Katalaz Aktivitesi Ölçümü**

Kullanılan Reaktifler

1. pH 7,0 50 mM fosfat tamponu
2. %30'luk Hidrojen peroksit

### **GSH-Px Aktivitesi Ölçümü**

GSH-Px aktivitesi, spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür. Yöntem, kümen hidroperoksit varlığında GSH-Px'in glutatyonun oksidasyonunu katalizlemesi sonucunda okside olan glutatyonun tekrar redükte forma dönüşmesi için harcanan NADPH'in absorbansının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (28). Karaciğer dokusuna ait GSH-Px aktivite değerleri, U/mg protein cinsinden ifade edildi.

## 4. BULGULAR

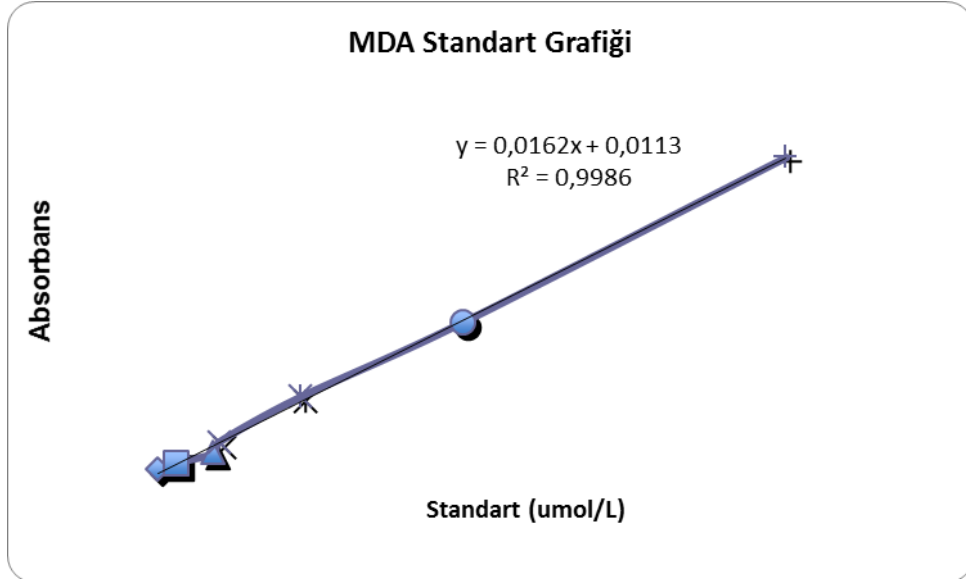
### 4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

#### 4.1.1. MDA Sonuçları

MDA standart grafiği ve numuneler çalışıldı ve MDA standart grafiği elde edildi (Tablo 3, Grafik1).

**Tablo 3.** MDA standart sonuçları

| Standartlar (umol/L) | Abs   |
|----------------------|-------|
| 1,220                | 0,040 |
| 2,430                | 0,053 |
| 4,860                | 0,073 |
| 5,220                | 0,095 |
| 10,470               | 0,190 |
| 20,900               | 0,346 |
| 41,800               | 0,690 |

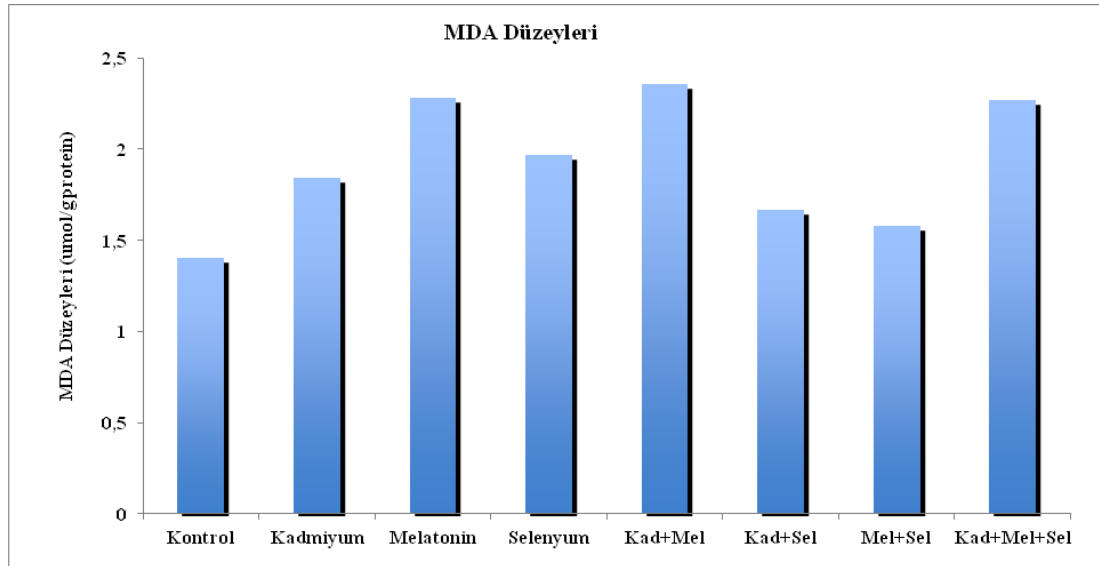


**Grafik 1.** MDA standart grafiği

Kadmiyum verilen grupta MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdiği gözlenmiştir ( $p<0,001$ ). Bu durum kadmiyumun lipid peroksidasyonunu arttırdığını göstermektedir. Ancak melatonin ve selenyum uygulanan gruplarda da MDA düzeylerinde bir artış olduğu görülmektedir. Yine Cd+melatonin, Cd+selenyum ve Cd+mel+se gruplarında da MDA düzeylerinde artış görülmüştür. Bu sonuçlar, melatonin ve selenyumun lipid peroksidasyonunu azaltmadığını göstermektedir. (Tablo4, Grafik 2).

**Tablo 4.** MDA sonuçları

| Gruplar                     | Ortalama | SEM   |
|-----------------------------|----------|-------|
| Kontrol                     | 1,402    | 0,710 |
| Kadmiyum                    | 1,840    | 0,550 |
| Melatonin                   | 2,280    | 0,630 |
| Selenyum                    | 1,970    | 0,650 |
| Kadmiyum-Melatonin          | 2,350    | 0,450 |
| Kadmiyum-Selenyum           | 1,660    | 0,680 |
| Melatonin-Selenyum          | 1,570    | 0,770 |
| Kadmiyum-Melatonin-Selenyum | 2,260    | 0,520 |

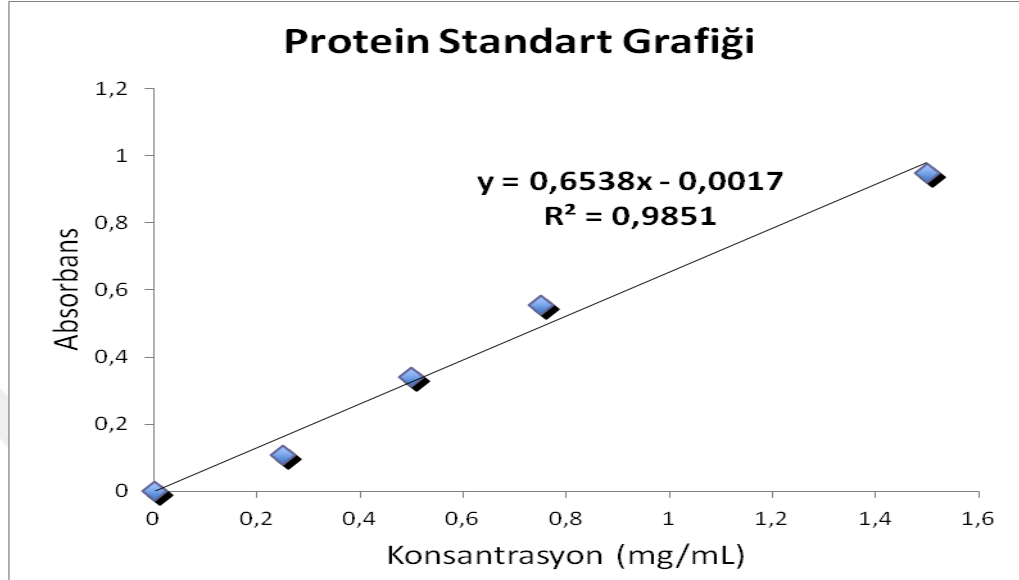


**Grafik 2.** Gruplara göre MDA düzeyleri



#### 4.1.2. Protein Analizi Sonuçları

Protein standart grafiği ve numuneler çalışıldı. Protein ölçümü neticesinde standart grafiği edildi (Grafik 3).



**Grafik 3.** Protein standart grafiği

#### 4.1.3. Katalaz Enzimi Sonuçları

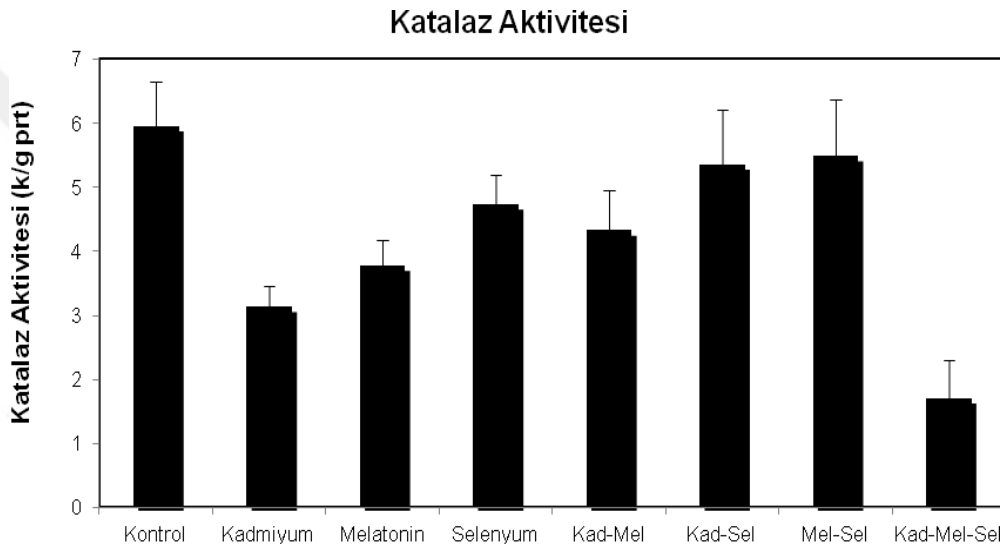
CAT enzimi bulguları ışığında, kontrol grubuna kıyasla tüm deney gruplarında katalaz enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Cd verilen gruba kıyasla Cd + Melatonin + Selenyum grubu haricindeki tüm deney gruplarında CAT enzim aktivite değerlerinde artış görülmüştür (Tablo 5, Grafik 6).

Aşağıdaki değerler grupları içerisinde aykırı değerler olduğu için değerlendirme dışı bırakıldı.

Melatonin 4, selenyum 1 ve 4, kadmiyum+melatonin+selenyum 1,2 ve 8 değerlendirme dışı bırakıldı.

**Tablo 5.** Katalaz enziminin sonuçları

| Gruplar                     | Ortalama | SEM  |
|-----------------------------|----------|------|
| Kontrol                     | 5,95     | 0,70 |
| Kadmiyum                    | 3,13     | 0,32 |
| Melatonin                   | 3,77     | 0,41 |
| Selenyum                    | 4,73     | 0,47 |
| Kadmiyum-Melatonin          | 4,32     | 0,63 |
| Kadmiyum-Selenyum           | 5,35     | 0,87 |
| Melatonin-Selenyum          | 5,48     | 0,60 |
| Kadmiyum-Melatonin-Selenyum | 1,70     | 0,90 |



**Grafik 4.** Katalaz aktivitesi

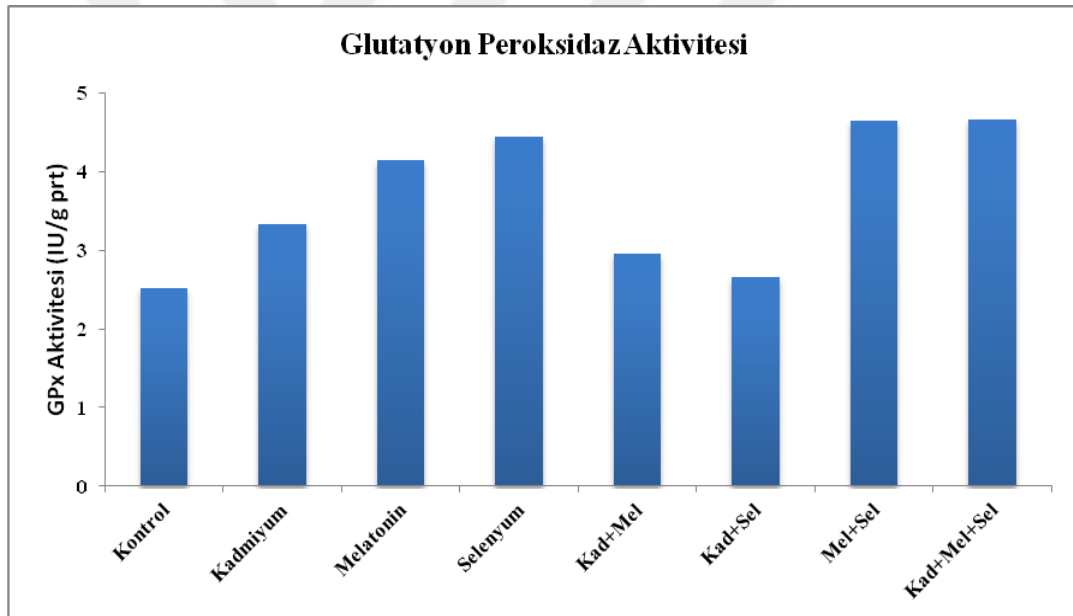
#### 4.1.4. GSPx Sonuçları

GSPx değerleri kadmiyum grubunda kontrol grubuna kıyasla düşmüştür. Diğer tüm deney gruplarında ise GSPx enzim aktivitesinde artış görülmüştür. Kadmiyumdaki oksidatif stresin arttığı grafikte görülmektedir. Bunun sebebi ise kadmiyumun oluşturduğu lipid peroksidasyonu kompanse etmek için hücrelerde enzim sentezi artmıştır. Melatonin ve selenyumu tek başına verdiğimiz gruplarda GSPx seviyesi kadmiyuma kıyasla daha fazla artmıştır. Ancak Cd+melatonin ve Cd+selenyum verilen gruplarda sadece kadmiyum verilen gruba kıyasla bir GSPx değerlerinde düşüş gözlenmektedir. Bu düşme Cd+selenyum grubunda daha

belirgindir. Ancak cd+mel+se verilen grupta Cd grubuna göre enzim değeri artış göstermiştir (Tablo 6, Grafik 5).

**Tablo 6.** GSPx sonuçları

| Gruplar                     | Ortalama | SEM  |
|-----------------------------|----------|------|
| Kontrol                     | 2,52     | 0,48 |
| Kadmiyum                    | 3,33     | 0,59 |
| Melatonin                   | 4,14     | 0,61 |
| Selenyum                    | 4,44     | 0,63 |
| Kadmiyum-Melatonin          | 2,96     | 0,55 |
| Kadmiyum-Selenyum           | 2,66     | 0,51 |
| Melatonin-Selenyum          | 4,65     | 0,77 |
| Kadmiyum-Melatonin-Selenyum | 4,66     | 0,84 |

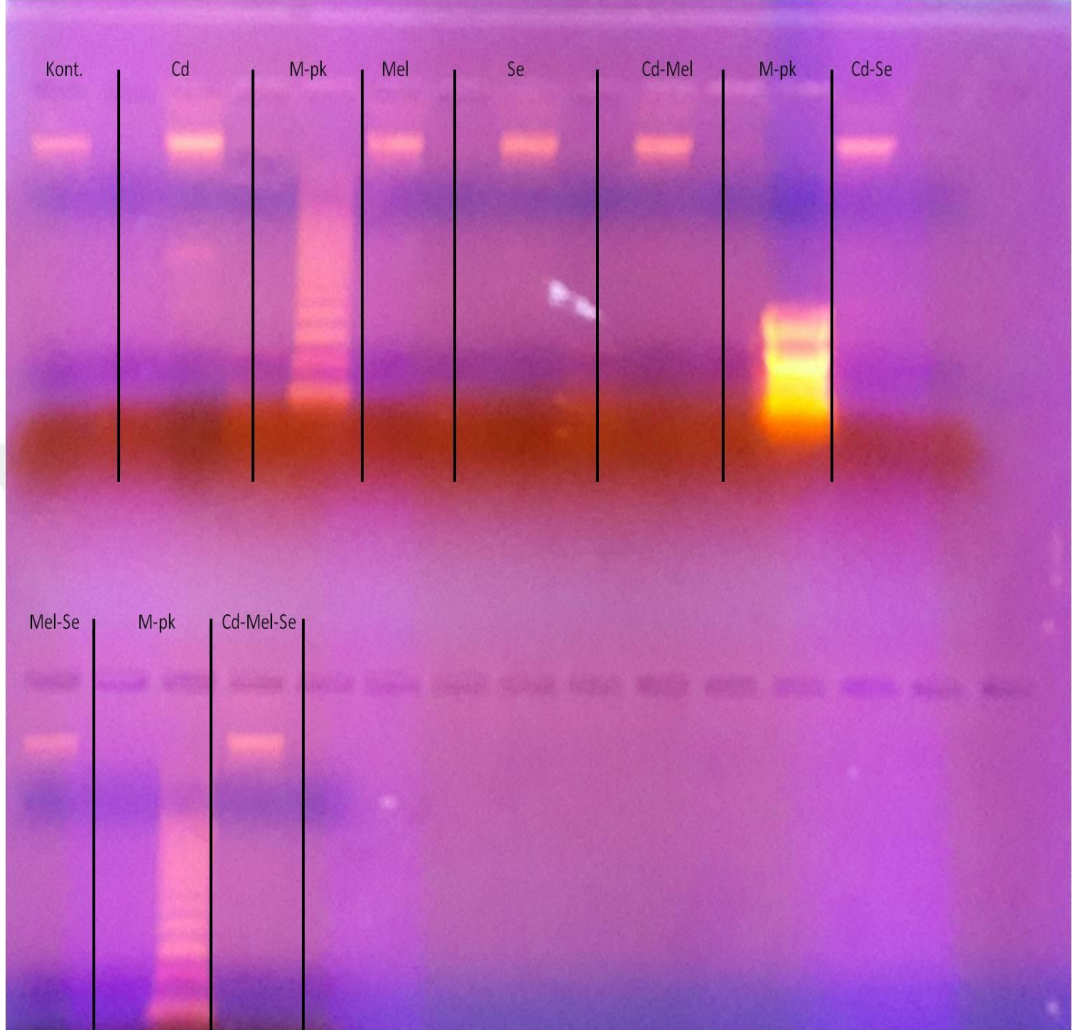


**Grafik 5.** Gruplara göre GSPx aktivitesi

#### 4.2. Apoptotik DNA İzolasyonu Sonuçları

Apoptotik DNA izolasyon bulgularımıza göre; kontrol grubunda herhangi DNA hücre hasarı görünmemektedir. Ancak kadmiyum verilen dişi sıçanların kan örneklerinden elde edilen sonuçlar ve görüntüler apoptotik hücre hasarı olduğunu göstermektedir. Melatonin, selenyum, kadmiyum+melatonin, kadmiyum+selenyum,

melatonin+selenyum ve kadmiyum+melatonin+selenyum verilen gruplarda ise apoptotik DNA hücre hasarı görünmemektedir (Resim 1).



**Kont:** Kontrol, **Cd:** Kadmiyum, **M-pk:** Marker pozitif kontrol, **Mel:** Melatonin, **Se:** Selenyum.

**Resim 1.** DNA elektroforezde yürütülmesi sonucu oluşan görüntü. Sadece kadmiyum grubunda apoptotik DNA hücre hasarı görünmekte.

### 4.3. Histolojik Bulgular

Kontrol ve deney gruplarının dişi sıçanlarına ait üreme sistemiorganlarının kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Refaiy ve arkadaşlarının yapmış oldukları skorlamaya göre değerlendirildi (146). Gruplar arasında gözlenen değişikliklerin “p” değerleri aşağıda verilmiştir.

Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirmesi skorlandı.

(-) skor (negatif skor): hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

(+) skor (1 pozitif skor): hafif derecede,

(++) skor (2 pozitif skor): orta derecede,

(+++) skor (3 pozitif skor): ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.

Kontrol grubu dişi sıçanlarının üreme sistemi organlarına ait kesitlerinin histolojik incelenmesinde, bu organlara ait normal histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmadı (Resim 2, 3, 4).

Kadmiyum grubuna ait dişi üreme sistemi over kesitleri incelendiğinde kontrol grubuna göre mononükleer hücre infiltrasyonunda (MHİ), folikülerde dejenerasyon, hemorajik alanlar ve bağ dokusunda artış gözlemlendi ( $p < 0,05$ ) (Resim 5). Tuba uterina preparatları incelendiğinde tubüllerde dejenerasyon, tuba uterina epitelinde dejenerasyon ve genel olarak yapısal bir bozulma görüldü (Resim 6). Uterus dokusu incelendiğinde ise endometriyum epitelinde dejenerasyon, bağ dokusunda dilate alanlar ve endometrial bezlerde dejenerasyon saptandı (Resim 7).

Melatonin grubundaki dişi sıçanların over organına ait kesitleri incelediğimizde ise kadmiyum grubundakine benzer patolojik bulgular gözlemlendi (Resim 8). Melatonin grubuna ait uterus ve tuba uterina organlarında ise kadmiyum grubundakine kıyasla biraz daha az olmakla birlikte yine benzer histopatolojik bulgular gözlemlendi (Resim 9, 10).

Selenyum grubuna ait over, tuba uterina ve uterus dokuları incelendiğinde kontrol grubuna benzer yapısal bulgular gözlemlendi. Sadece düşük düzeyde ovaryum dokusunda foliküler dejenerasyon görüldü (Resim 11, 12, 13).

Kadmiyum-melatonin verdiğimiz dişi sıçanların ovaryum dokusunda melatoninin herhangi bir koruyucu etkisi gözlemlenmedi. Hemorajik alanlarda ve bağ dokusu artışında az bir miktar iyileşme saptandı ancak anlamlı değildi (Resim 14). Tuba uterina dokusunda epitelde biraz düzelme gözlemlendi ancak anlamlı bir düzeyde değildi (Resim 15). Uterus dokusunda endometriyal bezlerdeki dejenerasyon neredeyse aynı şekilde devam ettiği gözlemlendi (Resim 16).

Kadmiyum-selenyum verilen dişi sıçanların over dokularında selenyumun koruyucu etkisi gözlemlendi. Over dokusunun mononükleer hücre infiltrasyonları

(MHİ), foliküler dejenerasyon, hemorajik alanlar ve bağ dokusu artışında anlamlı bir azalma saptandı (Resim 17). Selenyumun koruyucu etkisi tuba uterina dokusunda da görüldü. Tuba uterina'nın epitelinde düzelme gözlemlendi (Resim 18). Uterus dokusuna baktığımızda da over ve tuba uterina'daki düzelmelerin bu dokuda da olduğu tespit edildi. Epitelde düzelme, bağ dokusundaki dilate alanlarda azalma ve endometriyal bezlerde düzelme saptandı (Resim 19).

Melatonin-selenyum antioksidanlarının beraber verildiği dişi sıçanların over dokularında MHİ, foliküler dejenerasyon, hemorajik alanlar ve bağ dokusu artışının kadmiyum grubuna benzer şekilde devam ettiği gözlemlendi (Resim 20). Bu grubun tuba uterina dokularında da epitelyum dejenerasyonu, tubüllerde dejenerasyon ve genel bir doku dejenerasyonu saptandı (Resim 21). Kadmiyum verilen dişi sıçanın uterus dokusunda meydana gelen epitelyum dejenerasyonu, bağ doku alanlarında dilatasyon ve endometriyal bezlerdeki dejenerasyon bulgularının melatonin-selenyum grubunda da olduğu gözlemlendi (Resim 22).

Kadmiyum-melatonin-selenyum verilen dişi sıçanların over dokusunda anlamlı bir düzelme gözlemlendi (Resim 23). Aynı düzelme bu grupta tuba uterina ve uterus dokularında da saptandı (Resim 24, 25).

**Tablo 7.** Over dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme (Mann-Whitney U testine göre)

| Deney Grupları/parametreler | MHI   | Foliküler dejenrasyon | Hemorajik Alanlar | Bağ dokusu artışı | E-cadherin | NCAM  | MT-3  |
|-----------------------------|-------|-----------------------|-------------------|-------------------|------------|-------|-------|
| Grup I-II                   | 0,001 | 0,001                 | 0,000             | 0,000             | 0,001      | 0,001 | 0,000 |
| Grup I-III                  | 0,000 | 0,001                 | 0,001             | 0,000             | 0,004      | 0,001 | 0,001 |
| Grup I-IV                   | 0,001 | 0,001                 | 0,003             | 0,000             | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup I-V                    | 0,000 | 0,000                 | 0,001             | 0,000             | 0,004      | 0,004 | 0,001 |
| Grup I-VI                   | 0,001 | 0,001                 | 0,003             | 0,000             | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup I-VII                  | 0,000 | 0,000                 | 0,001             | 0,000             | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup I-VIII                 | 0,001 | 0,001                 | 0,002             | 0,000             | 0,001      | 0,001 | 0,003 |
| Grup II-III                 | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-IV                  | 0,001 | 0,004                 | 0,001             | 0,004             | 0,002      | 0,001 | 0,001 |
| Grup II-V                   | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-VI                  | 0,004 | 0,003                 | 0,002             | 0,001             | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup II-VII                 | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-VIII                | 0,004 | 0,003                 | 0,003             | 0,004             | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup III-IV                 | 0,002 | 0,003                 | 0,001             | 0,004             | 0,004      | 0,003 | 0,003 |
| Grup III-V                  | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup III-VI                 | 0,005 | 0,002                 | 0,004             | 0,001             | 0,002      | 0,003 | 0,001 |
| Grup III-VII                | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup III-VIII               | 0,005 | 0,005                 | 0,004             | 0,005             | 0,003      | 0,004 | 0,002 |
| Grup IV-V                   | 0,002 | 0,005                 | 0,003             | 0,001             | 0,002      | 0,001 | 0,003 |
| Grup IV-VI                  | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup IV-VII                 | 0,001 | 0,003                 | 0,002             | 0,005             | 0,002      | 0,004 | 0,005 |
| Grup IV-VIII                | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup V-VI                   | 0,001 | 0,002                 | 0,003             | 0,005             | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup V-VII                  | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup V-VIII                 | 0,005 | 0,004                 | 0,005             | 0,004             | 0,002      | 0,001 | 0,001 |
| Grup VI-VII                 | 0,001 | 0,003                 | 0,014             | 0,025             | 0,001      | 0,005 | 0,004 |
| Grup VI-VIII                | A.D   | A.D                   | A.D               | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup VII-VII                | 0,015 | 0,003                 | 0,001             | 0,025             | 0,003      | 0,001 | 0,005 |

AD: Anlamlı Değil, MHI: Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu, NCAM: Nöral Hücre Adezyon Molekülü, MT-3: Metalloproteinin-3

**Tablo 8.** Tuba uterina dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme (Mann-Whitney U testine göre)

| Deney Grupları/parametreler | Epitelde dejenerasyon | Tübüllerde dejenerasyon | Genel doku hasarı | E-cadherin | NCAM  | MT-3  |
|-----------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------|------------|-------|-------|
| Grup I-II                   | 0,001                 | 0,000                   | 0,000             | 0,001      | 0,001 | 0,000 |
| Grup I-III                  | 0,001                 | 0,001                   | 0,000             | 0,004      | 0,001 | 0,001 |
| Grup I-IV                   | 0,001                 | 0,003                   | 0,000             | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup I-V                    | 0,000                 | 0,001                   | 0,000             | 0,004      | 0,004 | 0,001 |
| Grup I-VI                   | 0,001                 | 0,003                   | 0,000             | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup I-VII                  | 0,000                 | 0,001                   | 0,000             | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup I-VIII                 | 0,001                 | 0,002                   | 0,000             | 0,001      | 0,001 | 0,003 |
| Grup II-III                 | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-IV                  | 0,004                 | 0,001                   | 0,004             | 0,002      | 0,001 | 0,001 |
| Grup II-V                   | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-VI                  | 0,003                 | 0,002                   | 0,001             | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup II-VII                 | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-VIII                | 0,003                 | 0,003                   | 0,004             | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup III-IV                 | 0,003                 | 0,001                   | 0,004             | 0,004      | 0,003 | 0,003 |
| Grup III-V                  | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup III-VI                 | 0,002                 | 0,004                   | 0,001             | 0,002      | 0,003 | 0,001 |
| Grup III-VII                | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup III-VIII               | 0,005                 | 0,004                   | 0,005             | 0,003      | 0,004 | 0,002 |
| Grup IV-V                   | 0,005                 | 0,003                   | 0,001             | 0,002      | 0,001 | 0,003 |
| Grup IV-VI                  | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup IV-VII                 | 0,003                 | 0,002                   | 0,005             | 0,002      | 0,004 | 0,005 |
| Grup IV-VIII                | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup V-VI                   | 0,002                 | 0,003                   | 0,005             | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup V-VII                  | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup V-VIII                 | 0,004                 | 0,005                   | 0,004             | 0,002      | 0,001 | 0,001 |
| Grup VI-VII                 | 0,003                 | 0,014                   | 0,025             | 0,001      | 0,005 | 0,004 |
| Grup VI-VIII                | A.D                   | A.D                     | A.D               | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup VII-VII                | 0,003                 | 0,001                   | 0,025             | 0,003      | 0,001 | 0,005 |

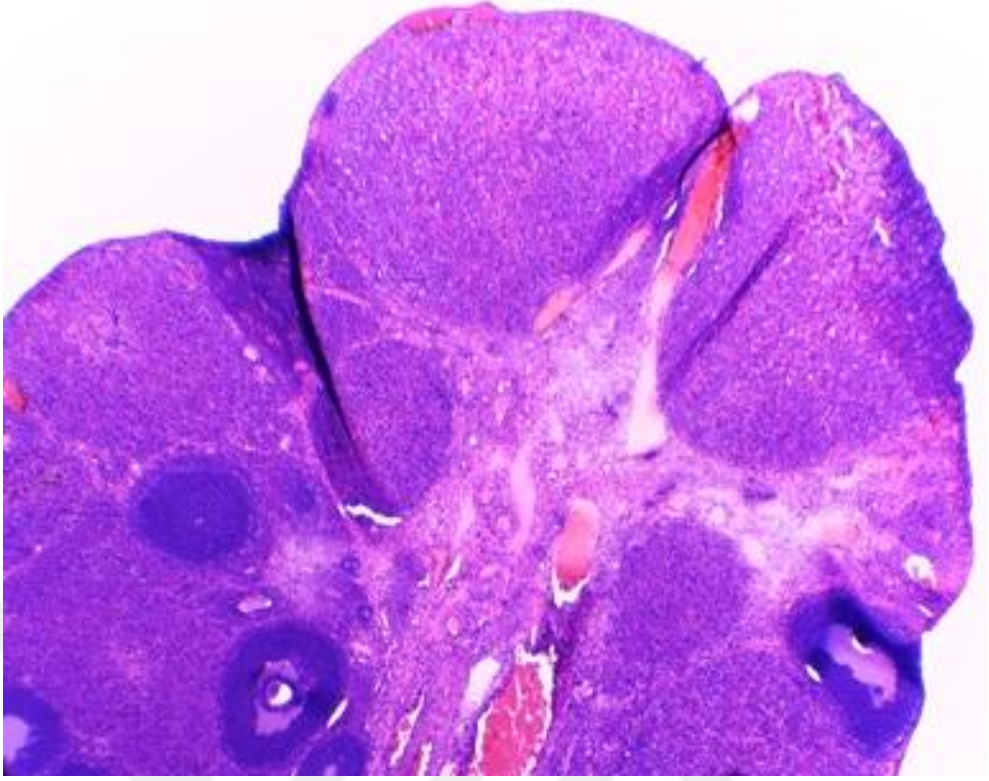
AD: Anlamlı Değil, NCAM: Nöral Hücre Adezyon Molekülü, MT-3: Metalloproteinaz-3



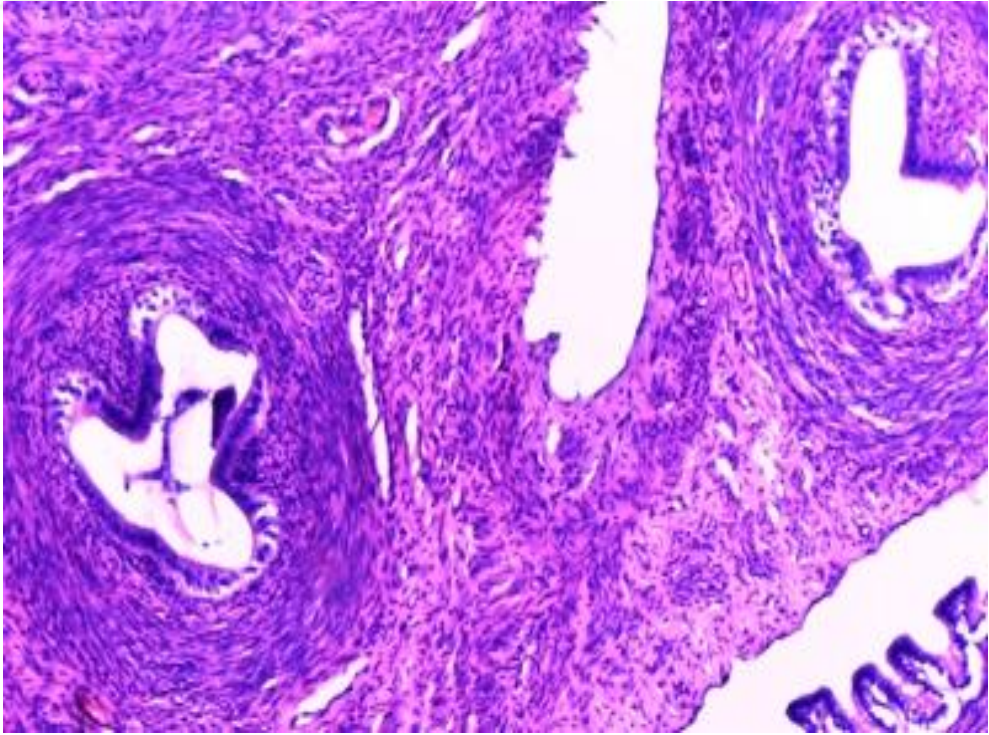
**Tablo 9.** Uterus dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme (Mann-Whitney U testine göre)

| Deney Grupları/parametreler | Uterus e.d. | BDDA  | EBD   | E-cadherin | NCAM  | MT-3  |
|-----------------------------|-------------|-------|-------|------------|-------|-------|
| Grup I-II                   | 0,001       | 0,001 | 0,000 | 0,000      | 0,001 | 0,001 |
| Grup I-III                  | 0,000       | 0,001 | 0,001 | 0,000      | 0,004 | 0,001 |
| Grup I-IV                   | 0,001       | 0,001 | 0,003 | 0,000      | A.D   | A.D   |
| Grup I-V                    | 0,000       | 0,000 | 0,001 | 0,000      | 0,004 | 0,004 |
| Grup I-VI                   | 0,001       | 0,001 | 0,003 | 0,000      | A.D   | A.D   |
| Grup I-VII                  | 0,000       | 0,000 | 0,001 | 0,000      | A.D   | A.D   |
| Grup I-VIII                 | 0,001       | 0,001 | 0,002 | 0,000      | 0,001 | 0,001 |
| Grup II-III                 | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-IV                  | 0,001       | 0,004 | 0,001 | 0,004      | 0,002 | 0,001 |
| Grup II-V                   | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-VI                  | 0,004       | 0,003 | 0,002 | 0,001      | 0,001 | 0,002 |
| Grup II-VII                 | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup II-VIII                | 0,004       | 0,003 | 0,003 | 0,004      | 0,001 | 0,002 |
| Grup III-IV                 | 0,002       | 0,003 | 0,001 | 0,004      | 0,004 | 0,003 |
| Grup III-V                  | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup III-VI                 | 0,005       | 0,002 | 0,004 | 0,001      | 0,002 | 0,003 |
| Grup III-VII                | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup III-VIII               | 0,005       | 0,005 | 0,004 | 0,005      | 0,003 | 0,004 |
| Grup IV-V                   | 0,002       | 0,005 | 0,003 | 0,001      | 0,002 | 0,001 |
| Grup IV-VI                  | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup IV-VII                 | 0,001       | 0,003 | 0,002 | 0,005      | 0,002 | 0,004 |
| Grup IV-VIII                | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup V-VI                   | 0,001       | 0,002 | 0,003 | 0,005      | 0,001 | 0,002 |
| Grup V-VII                  | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup V-VIII                 | 0,005       | 0,004 | 0,005 | 0,004      | 0,002 | 0,001 |
| Grup VI-VII                 | 0,001       | 0,003 | 0,014 | 0,025      | 0,001 | 0,005 |
| Grup VI-VIII                | A.D         | A.D   | A.D   | A.D        | A.D   | A.D   |
| Grup VII-VII                | 0,015       | 0,003 | 0,001 | 0,025      | 0,003 | 0,001 |

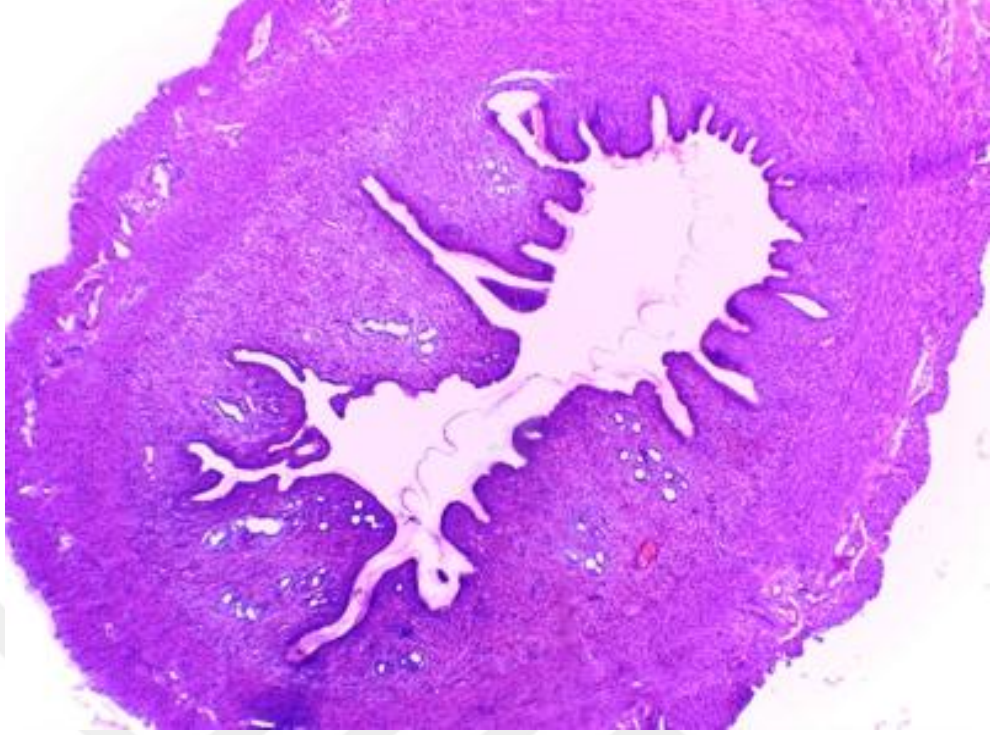
AD: Anlamli Değil, Uterus ED: Uterus epitelinde dejenerasyon, BDDA: Bağ dokusunda dilate alanlar, EBD: Endometrial bezlerde dejenerasyon, NCAM: Nöral Hücre Adezyon Moleküli, MT-3: Metalloproteinin-3



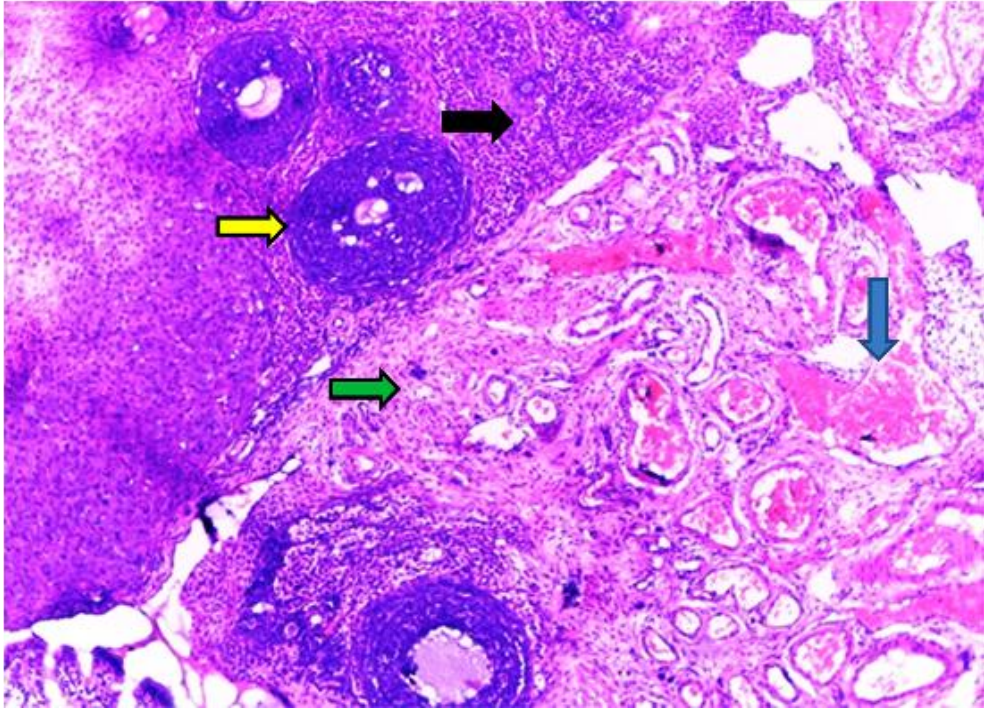
**Resim 2.** Kontrol grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



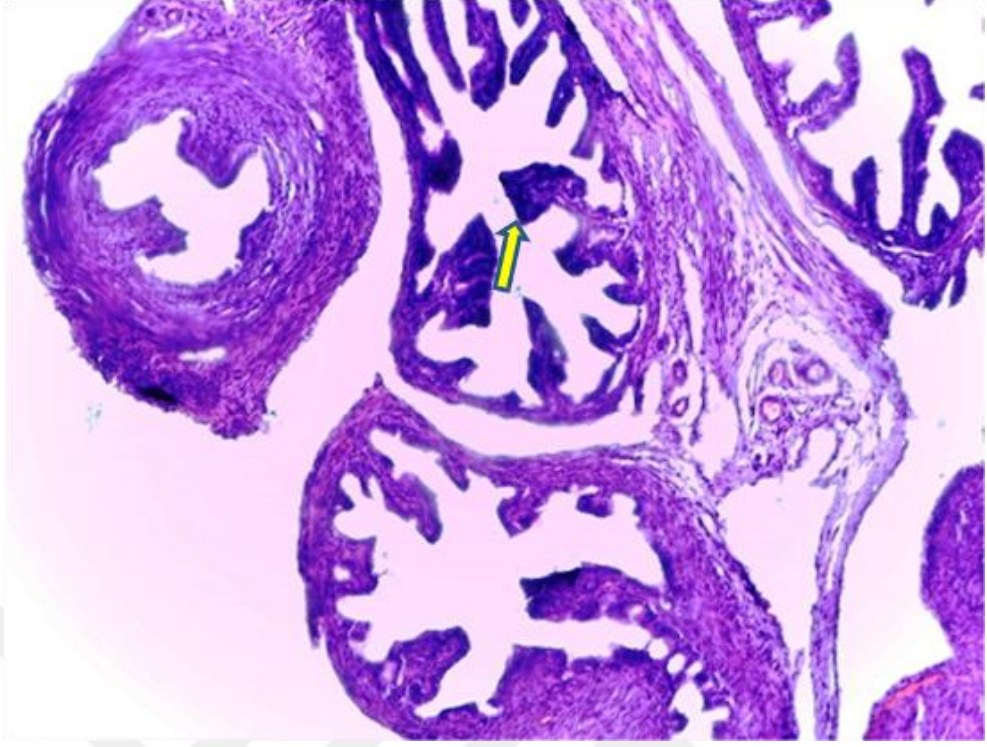
**Resim 3.** Kontrol grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Hematoksilen-Eozin) (10X100)



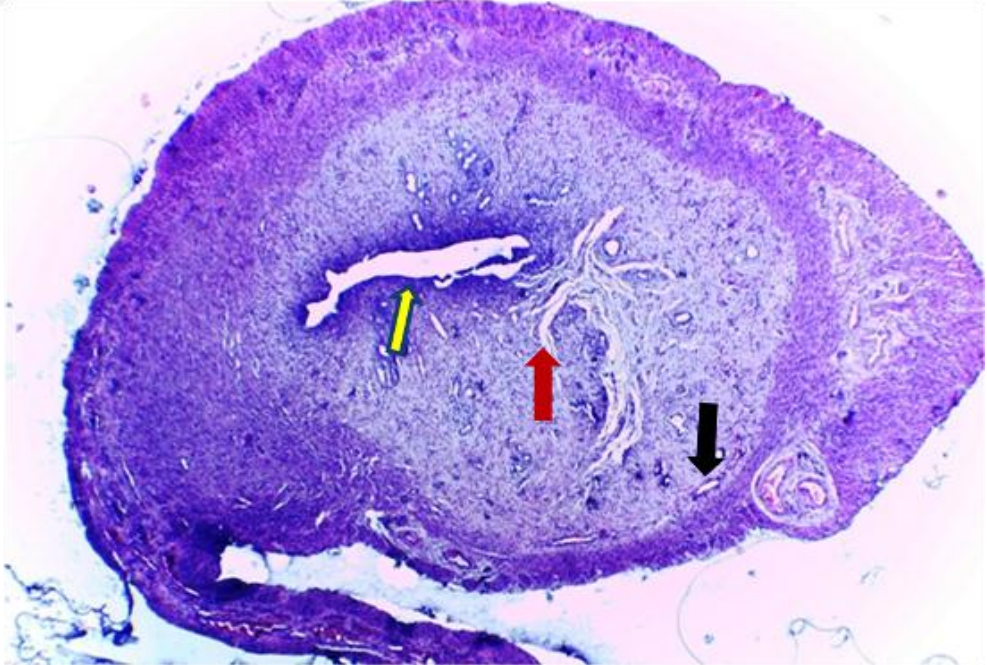
**Resim 4.** Kontrol grubuna ait sıçanların uterus dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



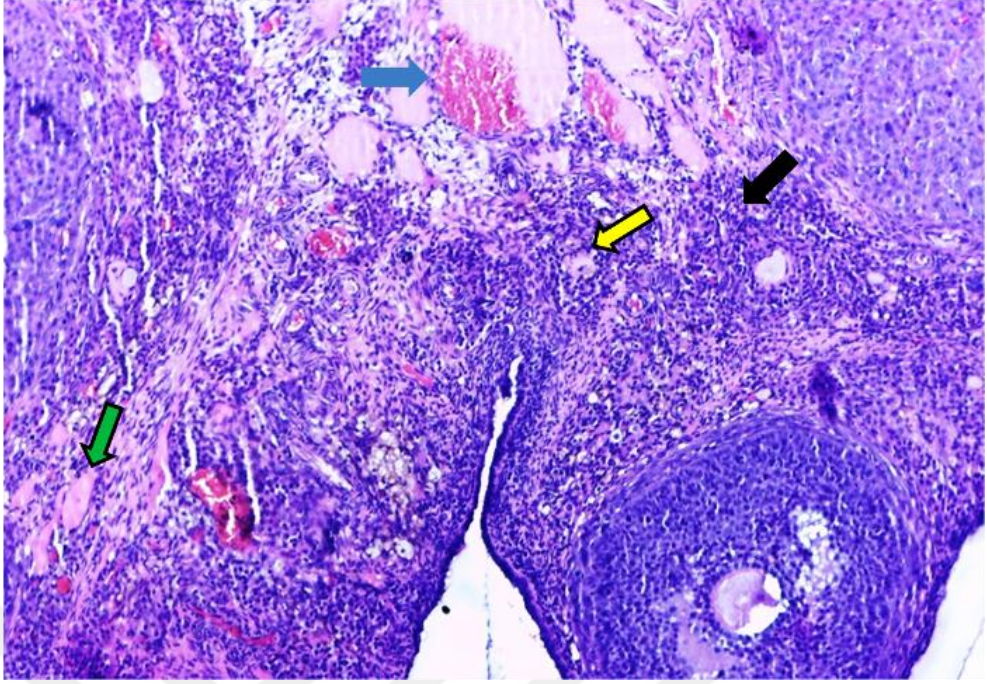
**Resim 5.** Kadmiyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Mavi ok hemorajik alanları, siyah ok MHİ, Yeşil ok bağ dokusu artışını ve sarı ok foliküler dejenerasyonu göstermekte (Hematoksilen-Eozin) (10X100)



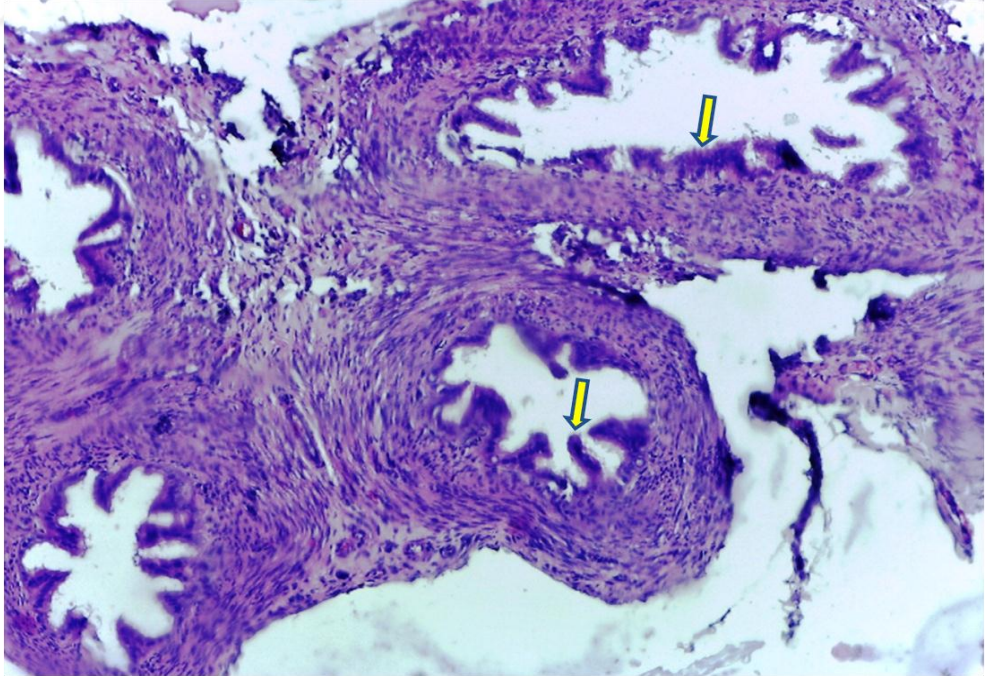
**Resim 6.** Kadmiyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



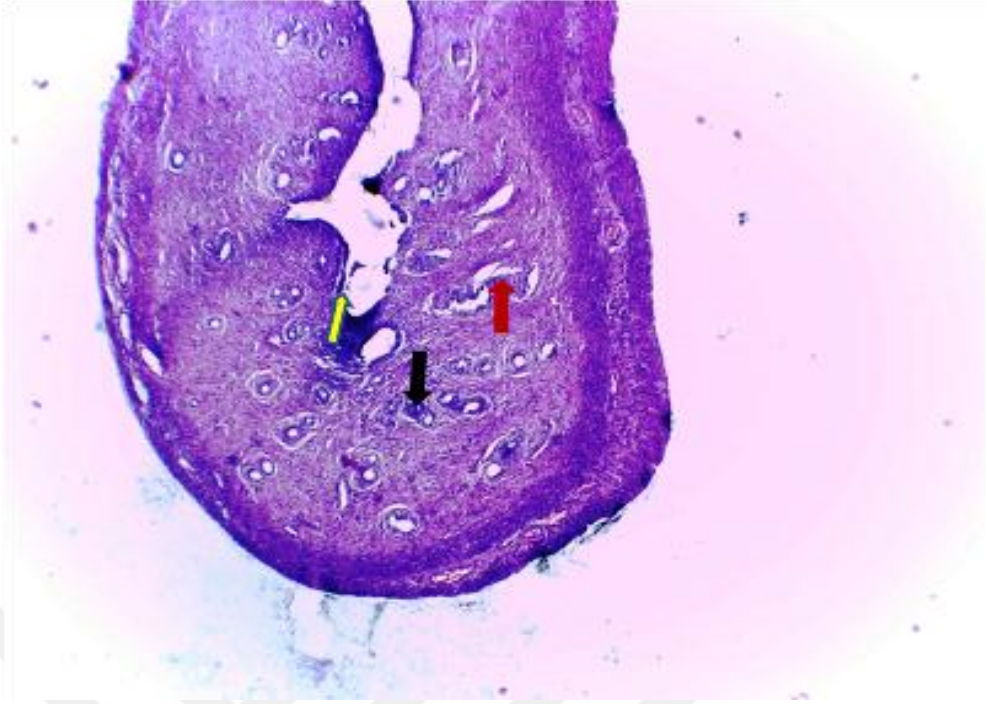
**Resim 7.** Kadmiyum grubuna ait sıçanların uterus dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonu, kırmızı ok bağ dokusundaki dilate alanları ve siyah ok endometrial bezlerdeki dejenerasyonu göstermekte)(Hematoksilen-Eozin) (4X100)



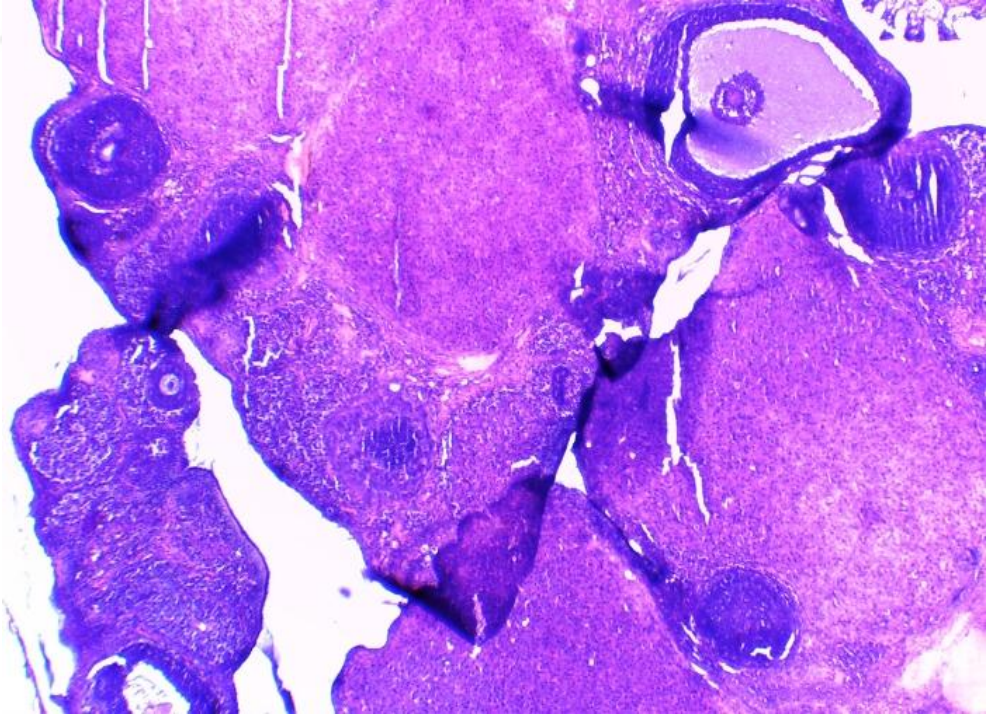
**Resim 8.** Melatonin grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Mavi ok hemorajik alanları, siyah ok MHİ, Yeşil ok bağ dokusu artışını ve sarı ok foliküler dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (10X100)



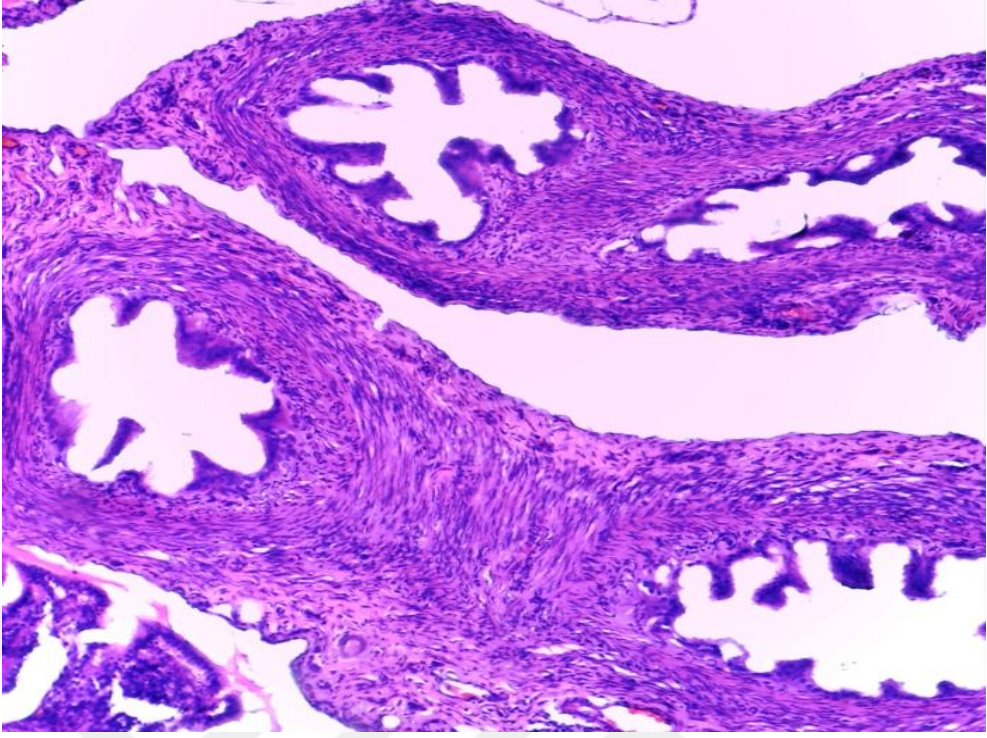
**Resim 9.** Melatonin grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



**Resim10.** Melatonin grubuna ait sıçanların uterus dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonu, kırmızı ok bağ dokusundaki dilate alanları ve siyah ok endometrial bezlerdeki dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (4X100).



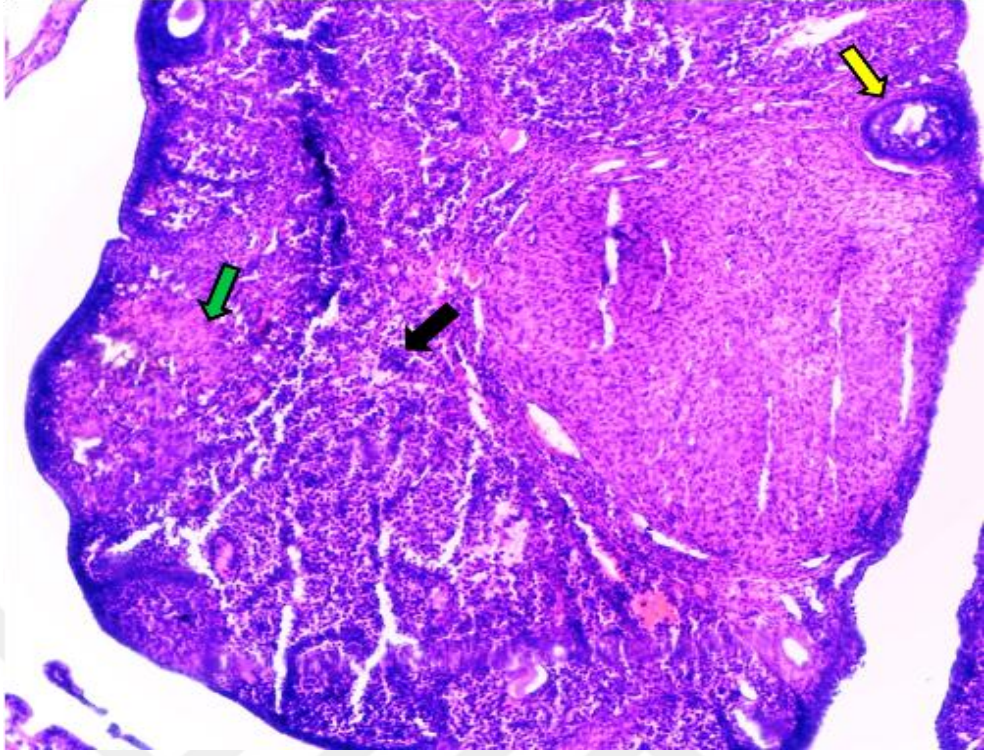
**Resim 11.** Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu(Hematoksilen-Eozin) (4X100)



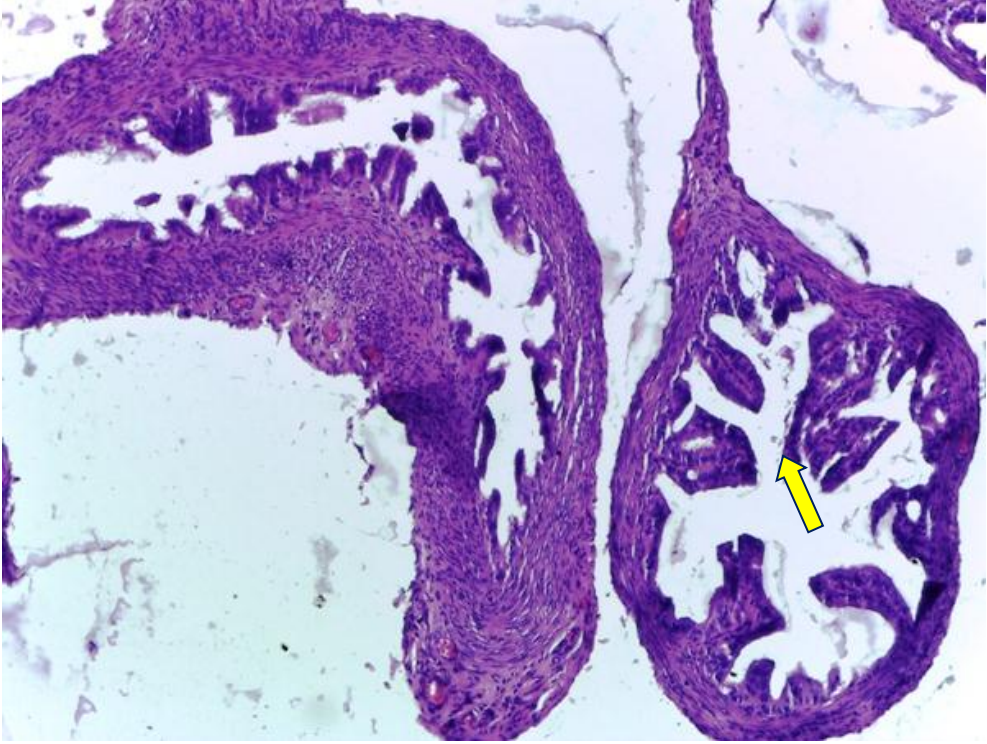
**Resim 12.** Selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



**Resim 13.** Selenyum grubuna ait uterus dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



**Resim 14.** Kadmiyum+melatonin grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Siyah ok MHI, Yeşil ok bağ dokusu artışı ve Sarı ok foliküler dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (4X100).

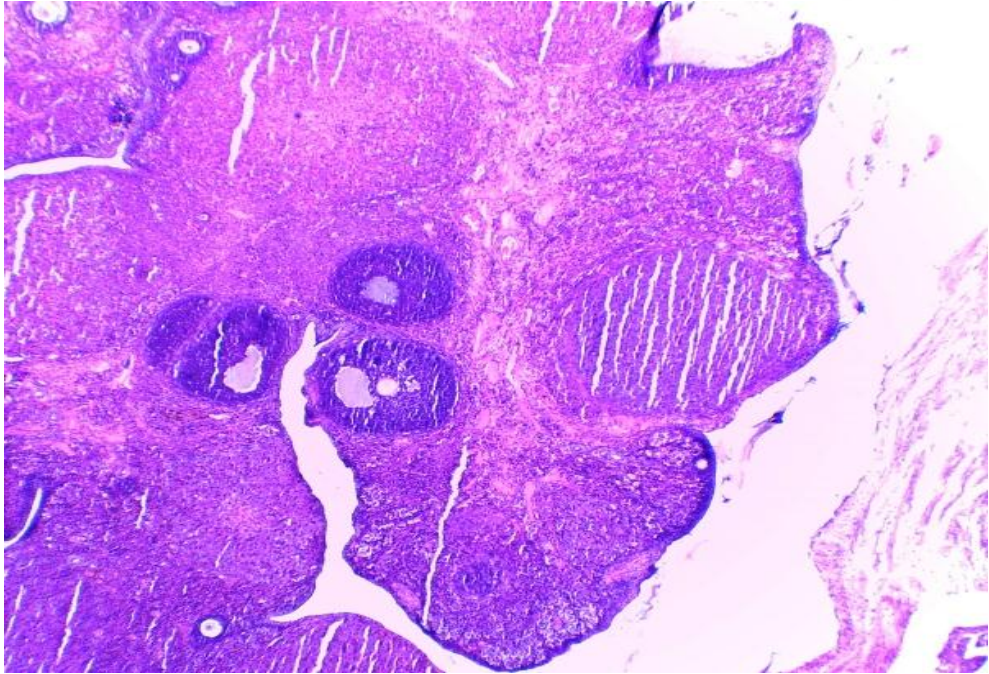


**Resim 15.** Kadmiyum+melatonin grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonun azaldığını göstermekte)(Hematoksilen-Eozin) (4X100).

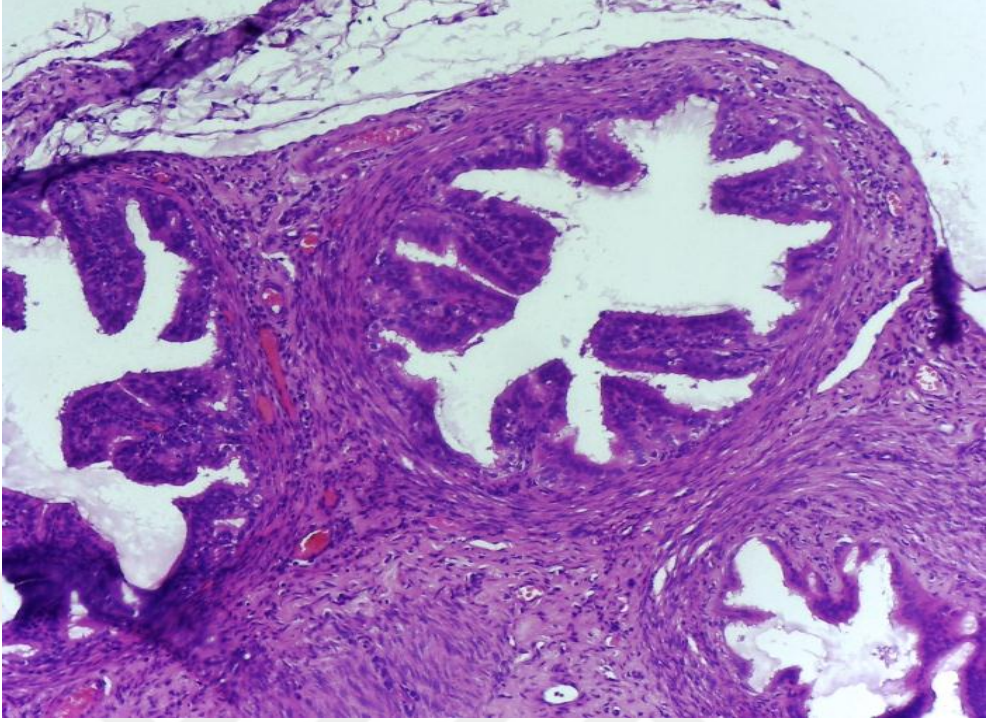




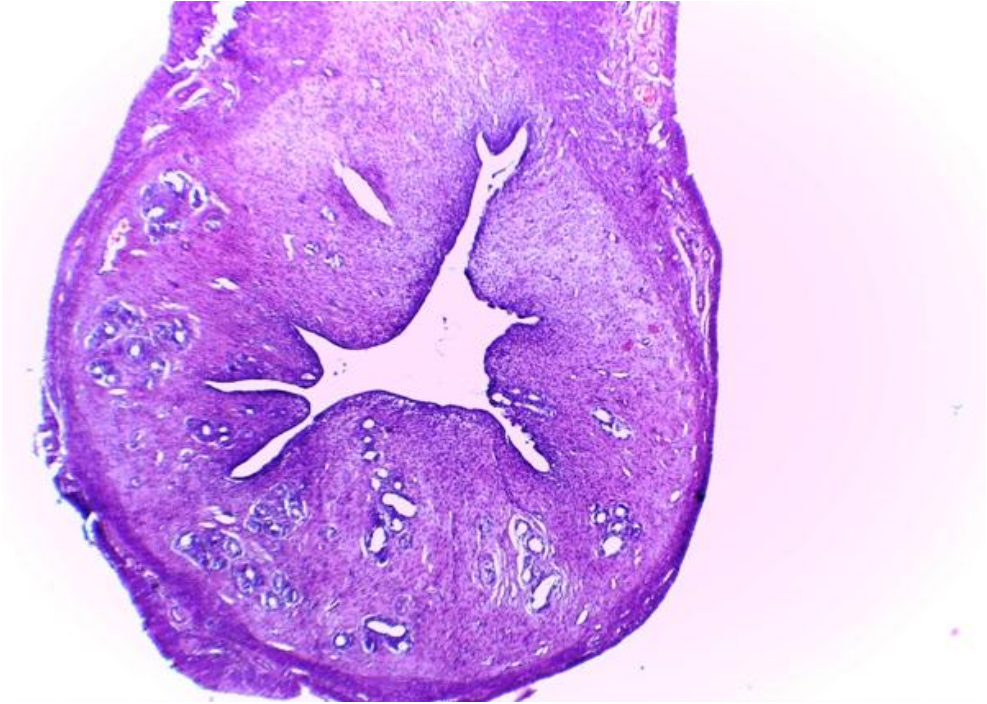
**Resim 16.** Kadmiyum+melatonin verilen gruba ait sıçanların uterus dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonu, Kırmızı ok bağ dokusundaki dilate alanları ve Siyah ok endometrial bezlerdeki dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (10X100).



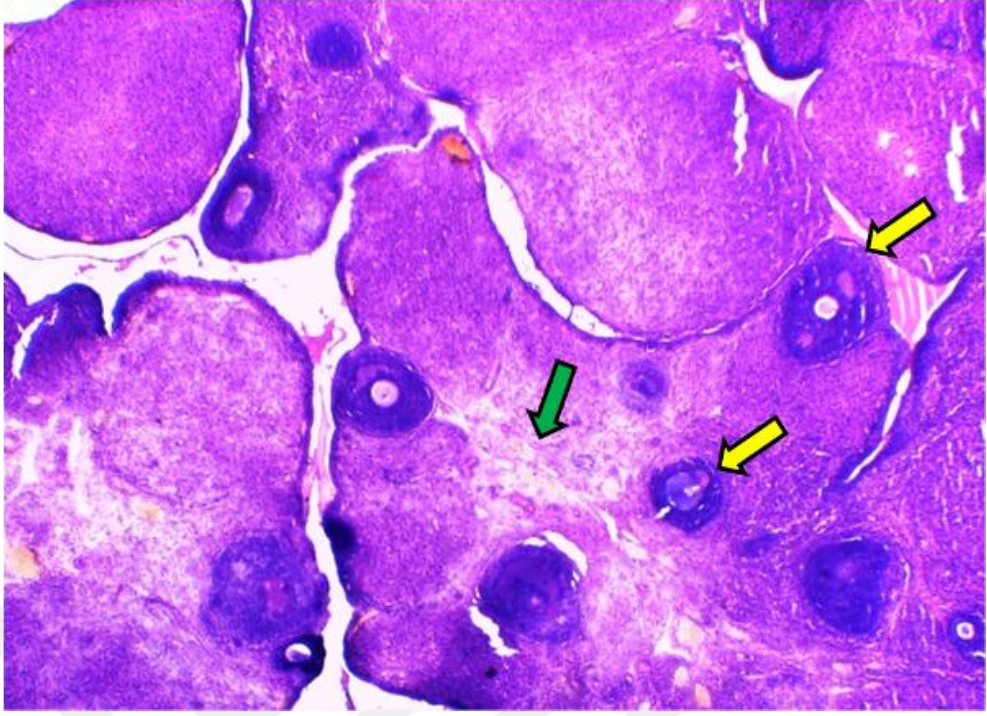
**Resim 17.** Kadmiyum+Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



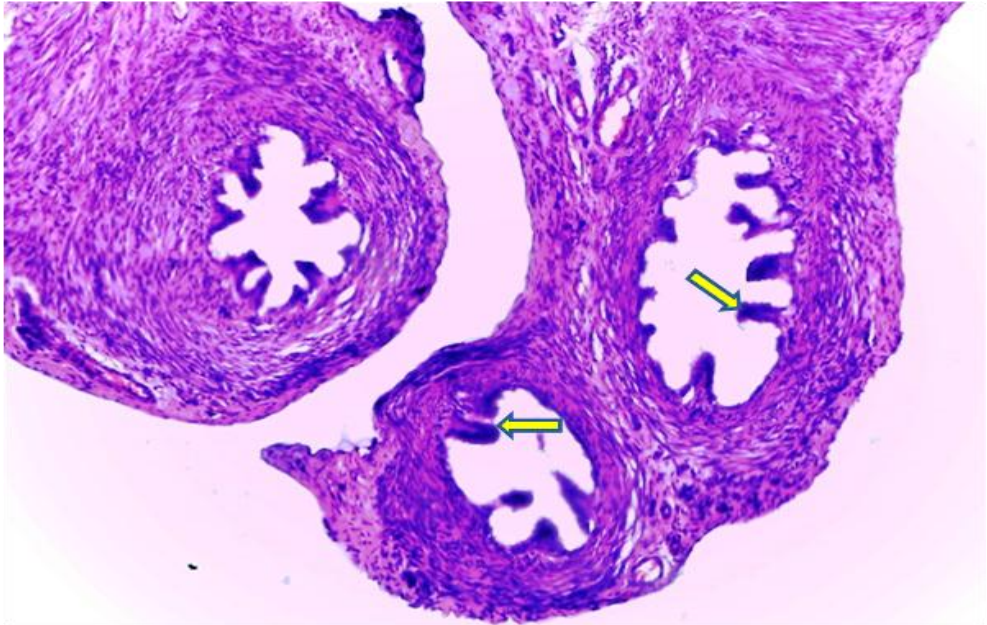
**Resim 18.** Kadmiyum+selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



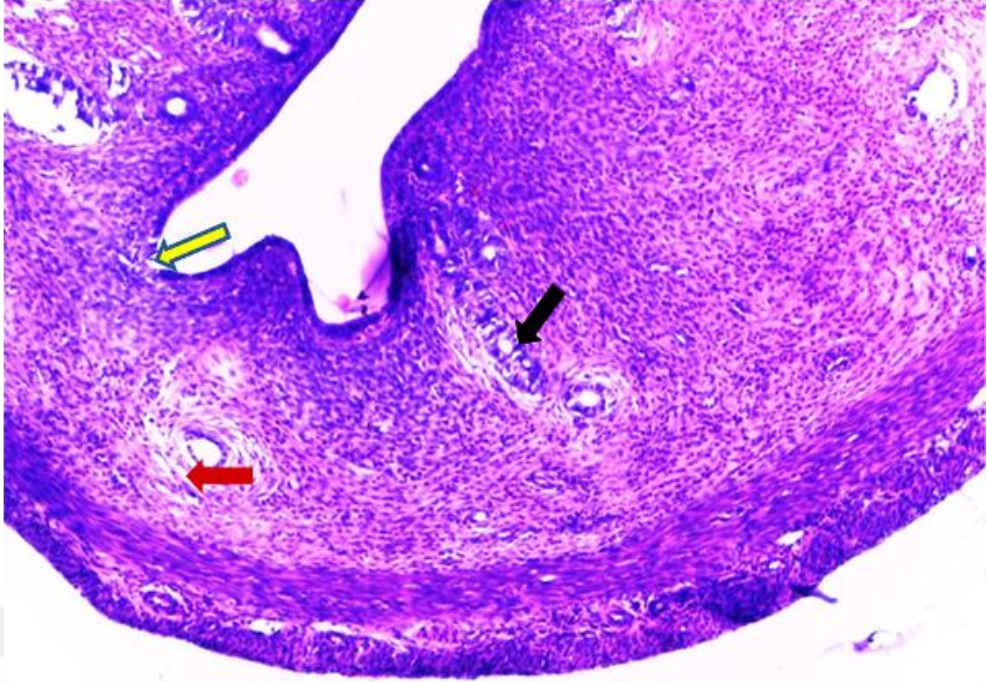
**Resim 19.** Kadmiyum+selenyum grubuna ait uterus dokusu(Hematoksilen-Eozin)(4X100)



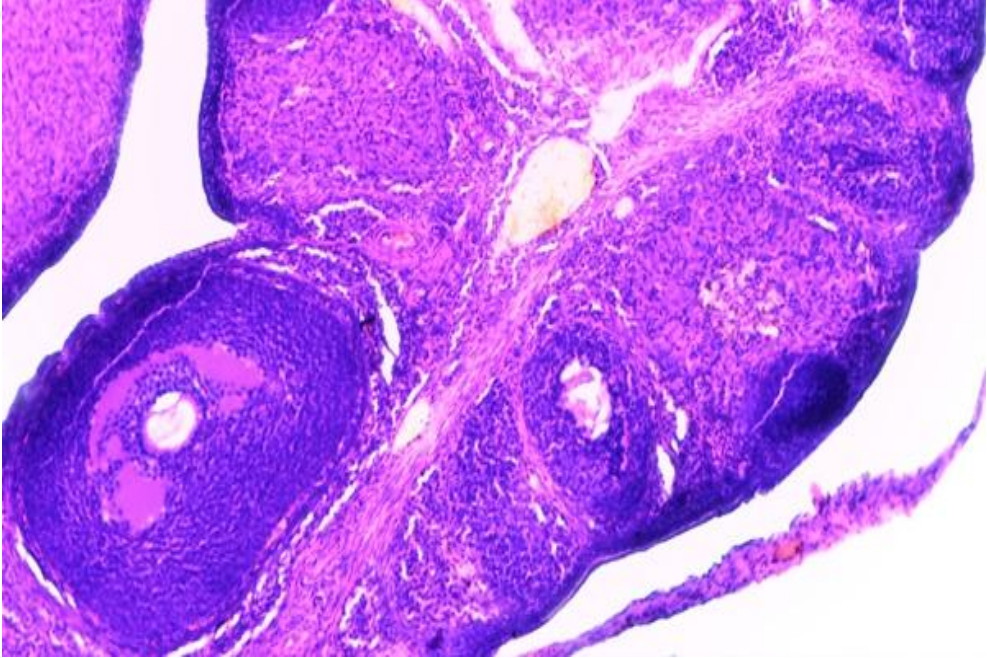
**Resim 20.** Melatonin+Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Siyah ok MHİ, Yeşil ok bağ dokusu artışını ve Sarı ok foliküler dejenerasyonu göstermekte) (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



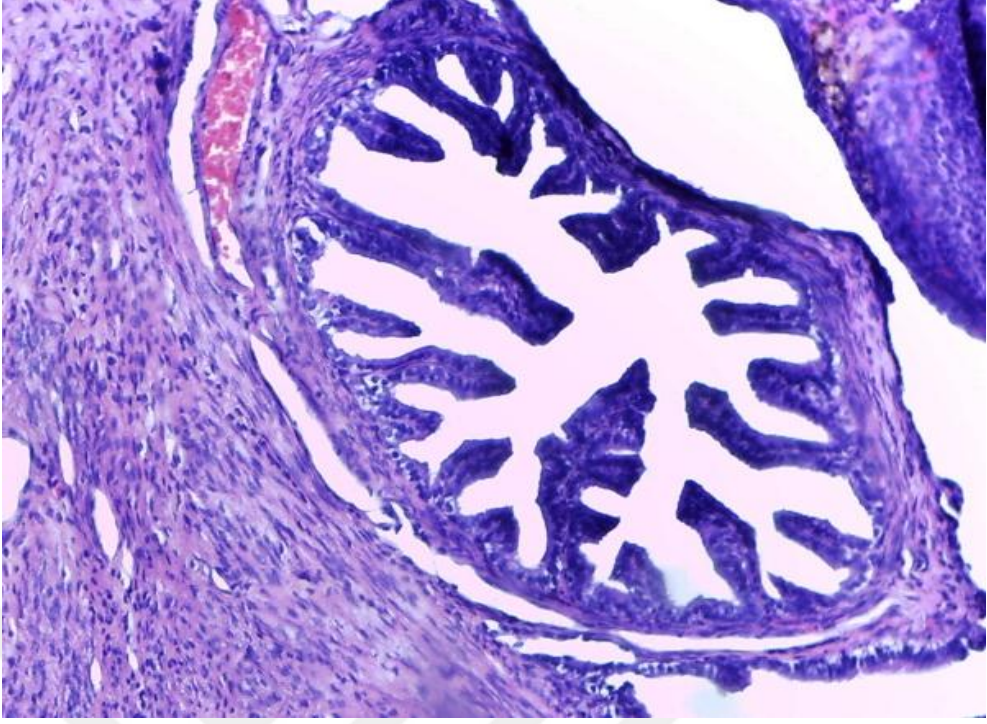
**Resim 21.** Melatonin+selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonun azaldığını göstermekte)(Hematoksilen-Eozin) (4X100).



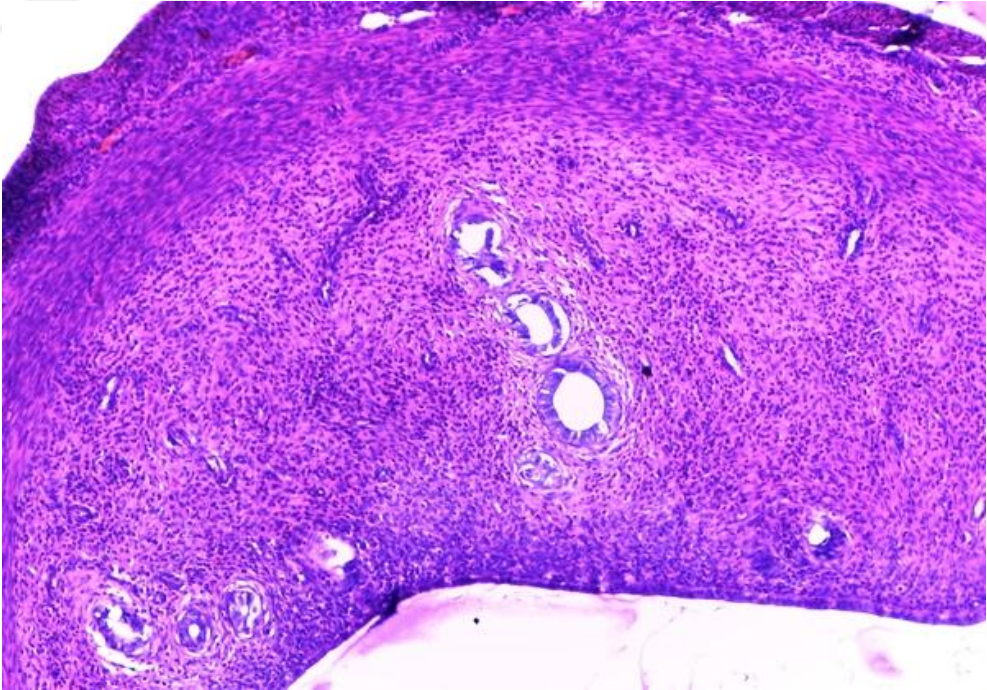
**Resim 22.** Melatonin+selenyum grubuna ait uterus dokusu (Sarı ok epiteldeki dejenerasyonu, Kırmızı ok bağ dokusundaki dilate alanları ve siyah ok endometrial bezlerdeki dejenerasyonu göstermekte). (Hematoksilen-Eozin)(4X100)



**Resim 23.** Kadmiyum+Melatonin+Selenyum grubuna ait sıçanların ovaryum dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



**Resim 24.** Kadmiyum+melatonin+selenyum grubuna ait sıçanların tuba uterina dokusu (Hematoksilen-Eozin) (4X100)



**Resim 25.** Kadmiyum+Melatonin+selenyum grubuna ait uterus dokusu. (Hematoksilen-Eozin)(4X100)

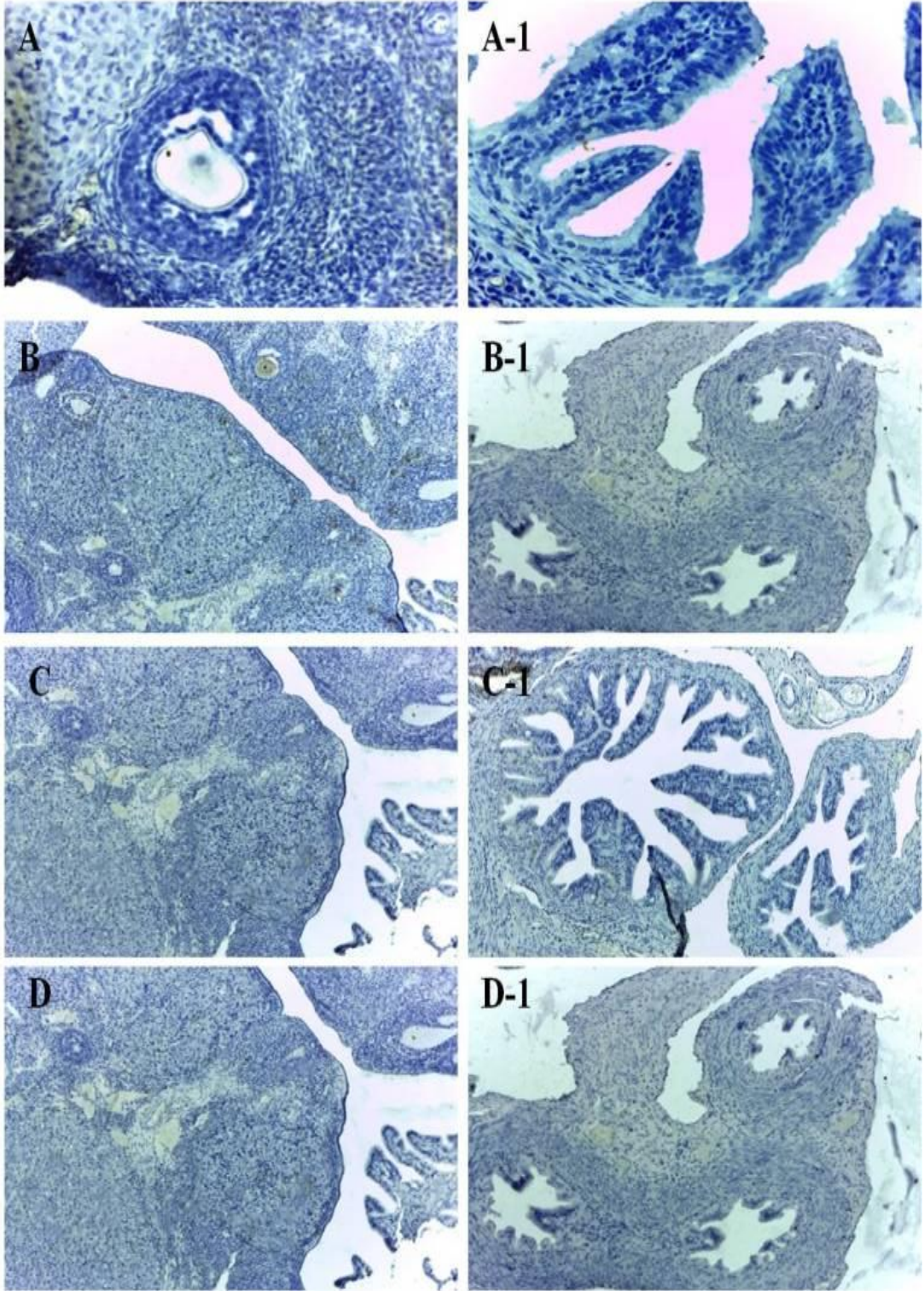
#### 4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

Doku kesitlerinin immünohistokimyasal incelemesinde, kontrol grubuna ait over dokusunun granuloza hücreleri ile tuba uterina ve uterus dokusunun epitelinde E-cadherin boyamasının olmadığı gözlemlendi (Resim 26,27). Kadmiyum verilen grupta ise E-cadherin sentezinin epitelyum hücrelerinde arttığı görüldü (Resim 28,29). Kadmiyumdan koruma amaçlı verilen cd+melatonin grubunda ise kadmiyum grubundakine benzer görüntüler elde edildi (Resim 34,35). Cd+selenyum verilen gruptaki E-kaderin görüntüleri ise kontrol grubundaki görüntülere benzer gözlemlendi (Resim 36,37). Melatonin+selenyum verilen grupta ise E-kaderin sentezinin Cd ve Cd+melatonin gruplarına benzer görüntüler elde edildi (Resim 38,39). Cd+melatonin+selenyum grubu incelendiğinde E-kaderin sentezinin kadmiyum grubuna göre biraz daha azaldığı tespit edildi (Resim 40,41).

Kontrol grubunun ovaryum dokusu incelendiğinde, granuloza hücrelerinde NCAM ile boyanmadığı gözlemlendi (Resim 26). Aynı şekilde tuba uterina'nın epitelyumu ve uterusun epiteli ile endometriyal bezlerinde NCAM ile boyanmanın olmadığı görüldü. Toksik ajan olarak kadmiyumun verildiği grupta ise granuloza hücrelerinde ve özellikle çevresindeki bağ dokusu yapısındaki teka interna ve externa yapılarından NCAM sentezinin arttığı saptandı (Resim 28). Kadmiyum grubunda uterusun endometriyal bezlerinde ve endometriyum tabakasında NCAM sentezinin arttığı tespit edildi (Resim 29).Cd+Melatonin verilen grupta ise sadece kadmiyum verilen gruptaki görüntülere kıyasla NCAM sentezinin biraz azaldığı saptandı (Resim 34,35). Cd+selenyum verilen grubumuzun ise NCAM sentezinin dokularda oldukça azaldığı ve kontrol grubuna yakın görüntüler gözlemlendi (Resim 36, 37). Melatonin+selenyum verilen grupta ise overin granuloza hücreleri ve teka tabakalarında, tuba uterina epitelinde ve uterusun endometriyum tabakasıyla endometrial bezlerinde herhangi bir NCAM sentezi artışı olmadığı gözlemlendi (Resim 38,39). Cd+melatonin+selenyum verilen grupta da selenyum, cd+selenyum ve melatonin+selenyum grubundaki görüntüler olduğu gibi NCAM sentezinin normal olduğu saptandı (Resim 40,41).

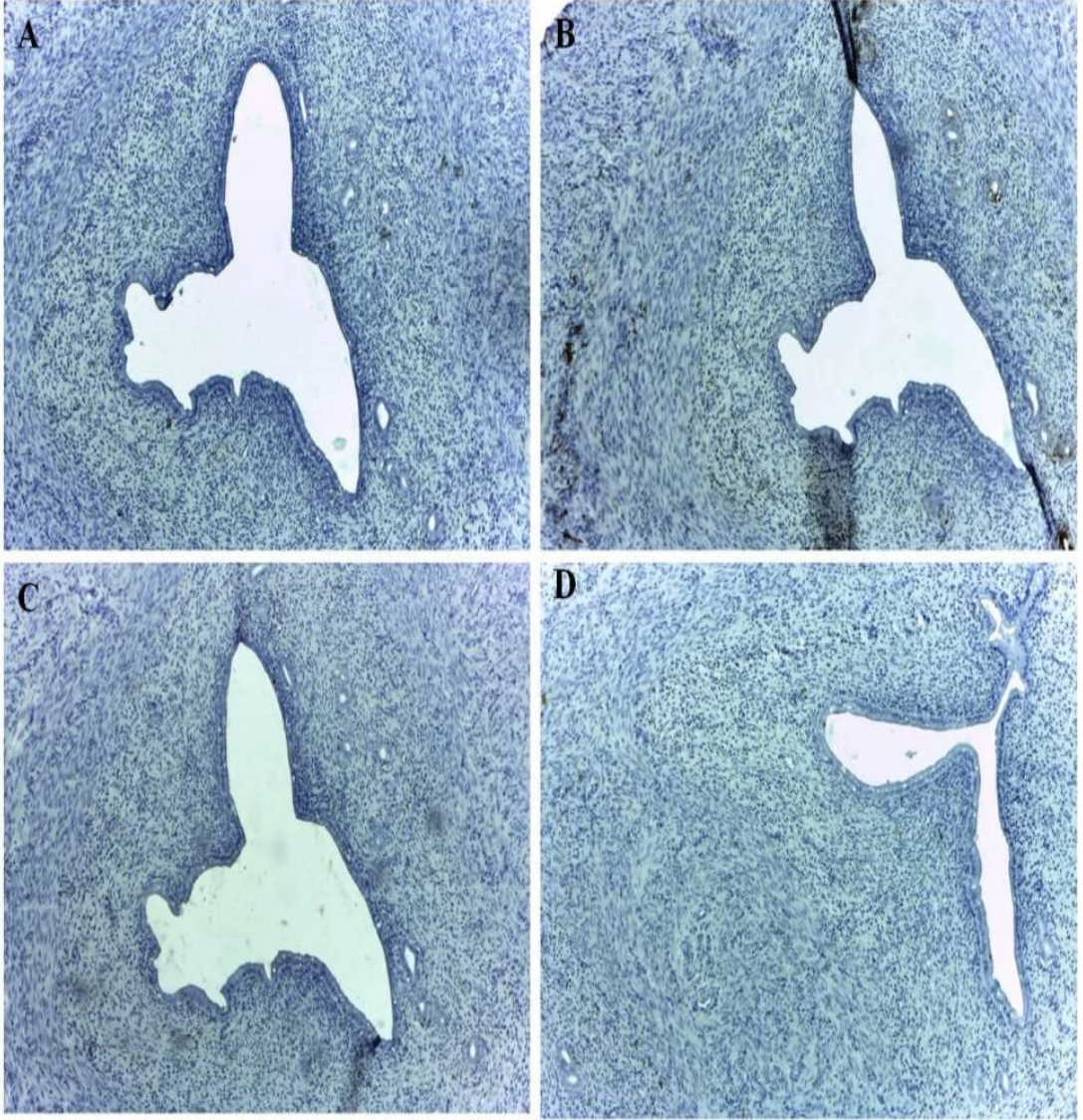
Kontrol grubuna ait dişi sıçanların genital sistem organlarında metallothionein-3 (MT-3) proteini birikiminin olmadığı gözlemlendi (Resim 26,27).

Kadmiyum verilen grupta ise ovaryumun granuloza hücrelerinde ve etrafını çevreleyen teka interna ve teka eksterna tabakalarında yoğun biçimde MT-3 boyanması gözlemlendi (Resim 28). Tuba uterina'nın epiteli ve bağ dokusunda da MT-3 boyamaları saptandı (Resim 28). Uterus'un epitelinde MT-3 boyanması gözlemlendi ancak endometriyum tabakası ve endometriyal bezlerdeki MT-3 boyanması daha yoğundu (Resim 29). Melatonin verilen grubun over dokusunun granuloza hücrelerinde boyama görünmezken teka interna ve eksterna tabakalarında hafif MT-3 boyanmaları gözlemlendi (Resim 30). Tuba uterina'da MT-3 boyanması gözlenmedi (Resim 30). Ancak uterusun endometriyal bezlerinde MT-3 boyamaları saptandı (Resim 31). Selenyum verilen grubun over ve tuba dokularında MT-3 proteini birikimine bağlı bir boyamaya rastlanmadı (Resim32). Ancak uterus'un endometriyal bezlerinde hafif MT-3 boyamaları gözlemlendi (Resim 33). Cd+melatonin verilen grupta over dokusunda yoğun MT-3 boyamaları gözlemlendi. Bu boyanmalar özellikle foliküllerin etrafını çevreleyen teka interna ve eksterna tabakalarında yoğunlaşmıştı (Resim 34). Tuba uterina dokusunun epitelinde boyanma gözlenmezken, lamina propria ve tunika adventisya tabakalarında MT-3 boyanmaları saptandı (Resim 34). Uterus dokusunda ise epitelde hafif MT-3 boyamaları gözlenirken, endometriyal bezlerde yoğun MT-3 boyamaları tespit edildi (Resim 35). Cd+selenyum grubunun over, tuba uterina ve uterus dokularında MT-3 boyanmaları gözlenmedi (Resim 36,37). Melatonin+selenyum verilen grubun over dokusunda MT-3 boyanması gözlenmezken, tuba ve uterus dokularında çok az MT-3 boyamaları saptandı (Resim38,39). Cd+melatonin+selenyum verilen grubun over dokusundaki foliküllerin etrafını çevreleyen teka interna ve eksterna tabakalarında hafif boyanmalar gözlenirken tuba uterina'da MT-3 boyanmasına rastlanmadı (Resim 40). Uterus dokusunda ise MT-3 boyanması gözlenmedi (Resim 41).

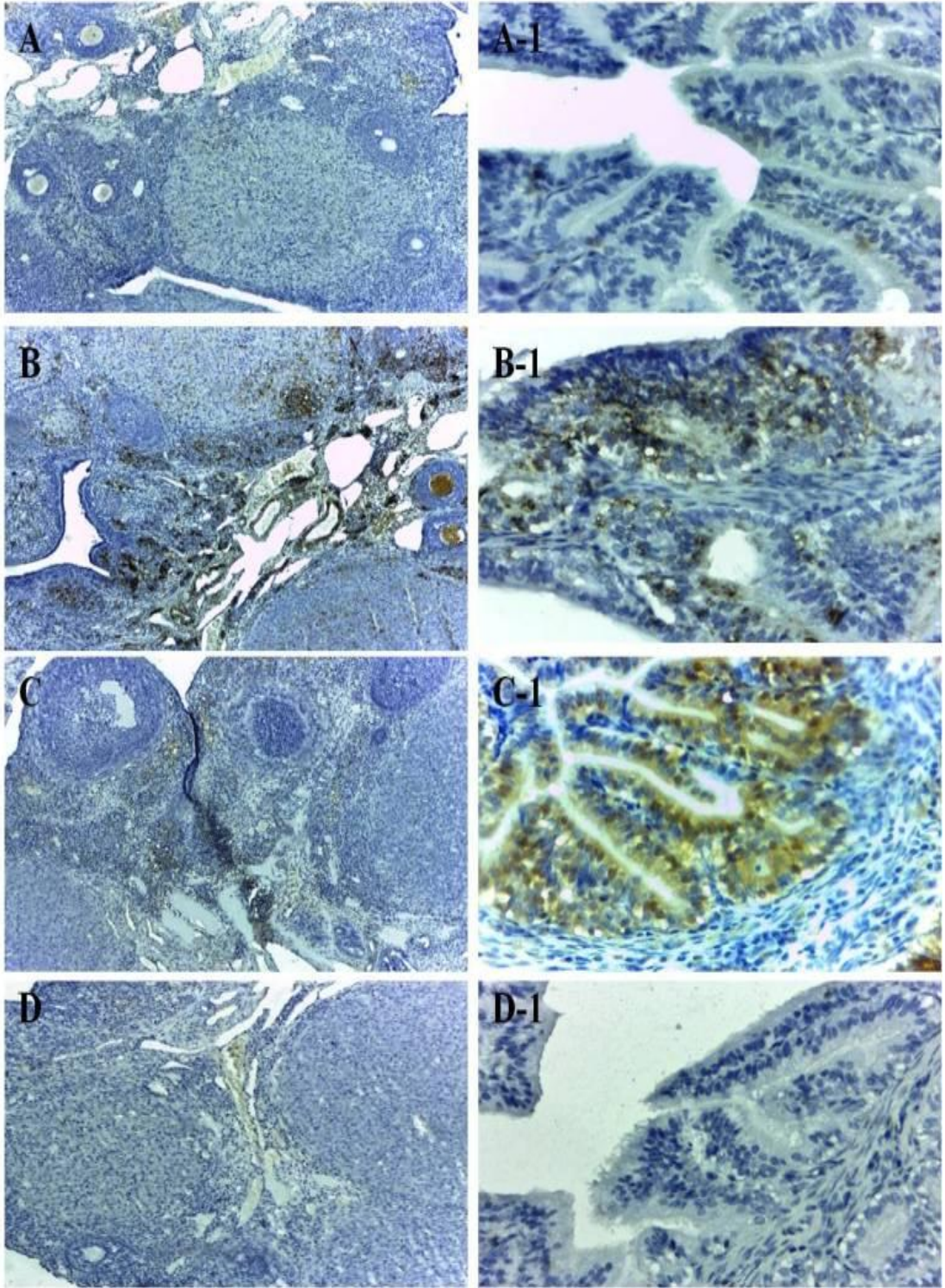


**Resim 26.** Kontrol grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 40X100, A-1 40X100 E-cadherin),(B 10X100, B-1 40X100MT-3), (C 10X100, C-1 10X100NCAM) ve (D 10X100, D-1 10X100 Negatif boyama).

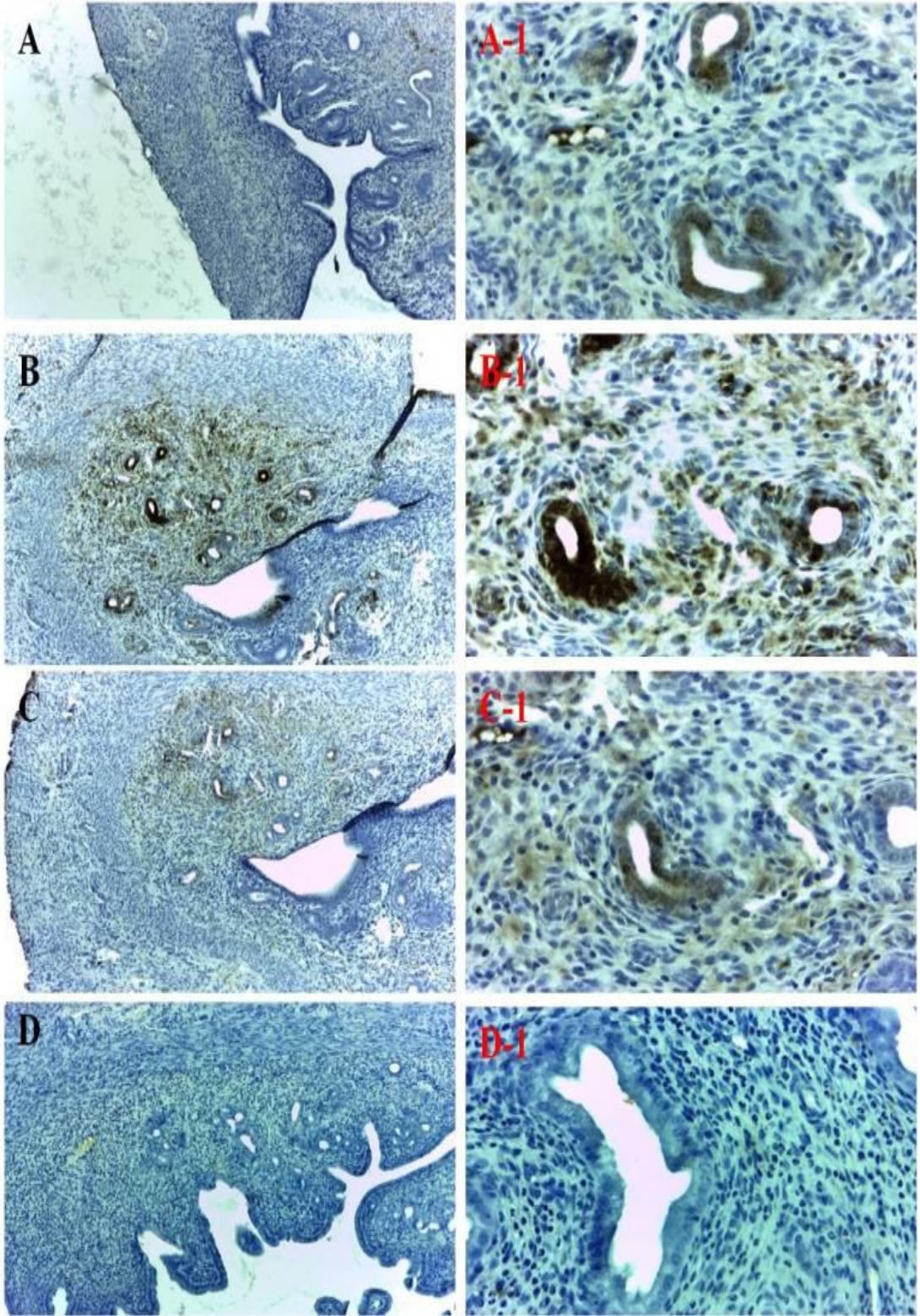




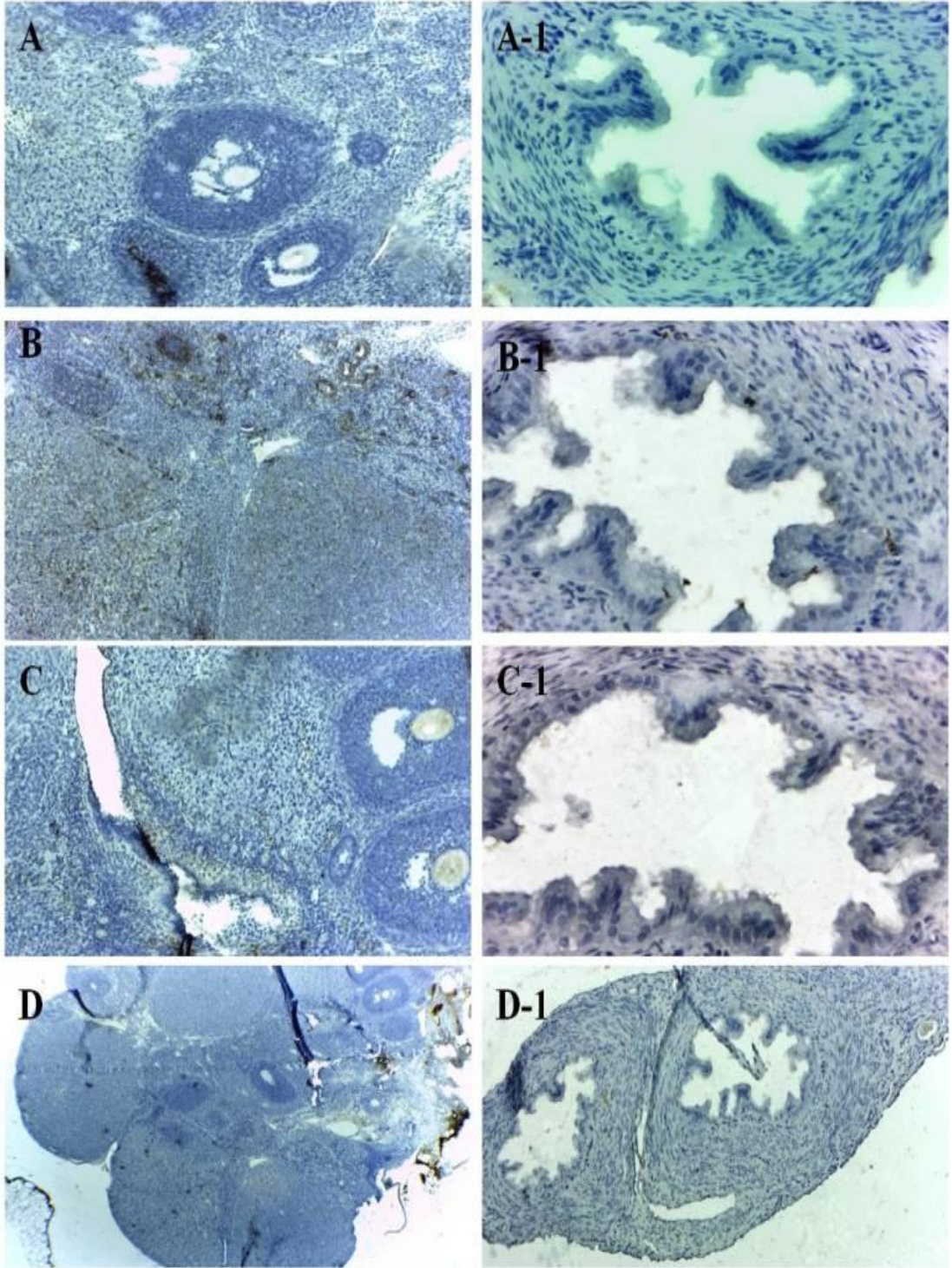
**Resim 27.** Kontrol grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin), ( B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100 Negatif boyama).



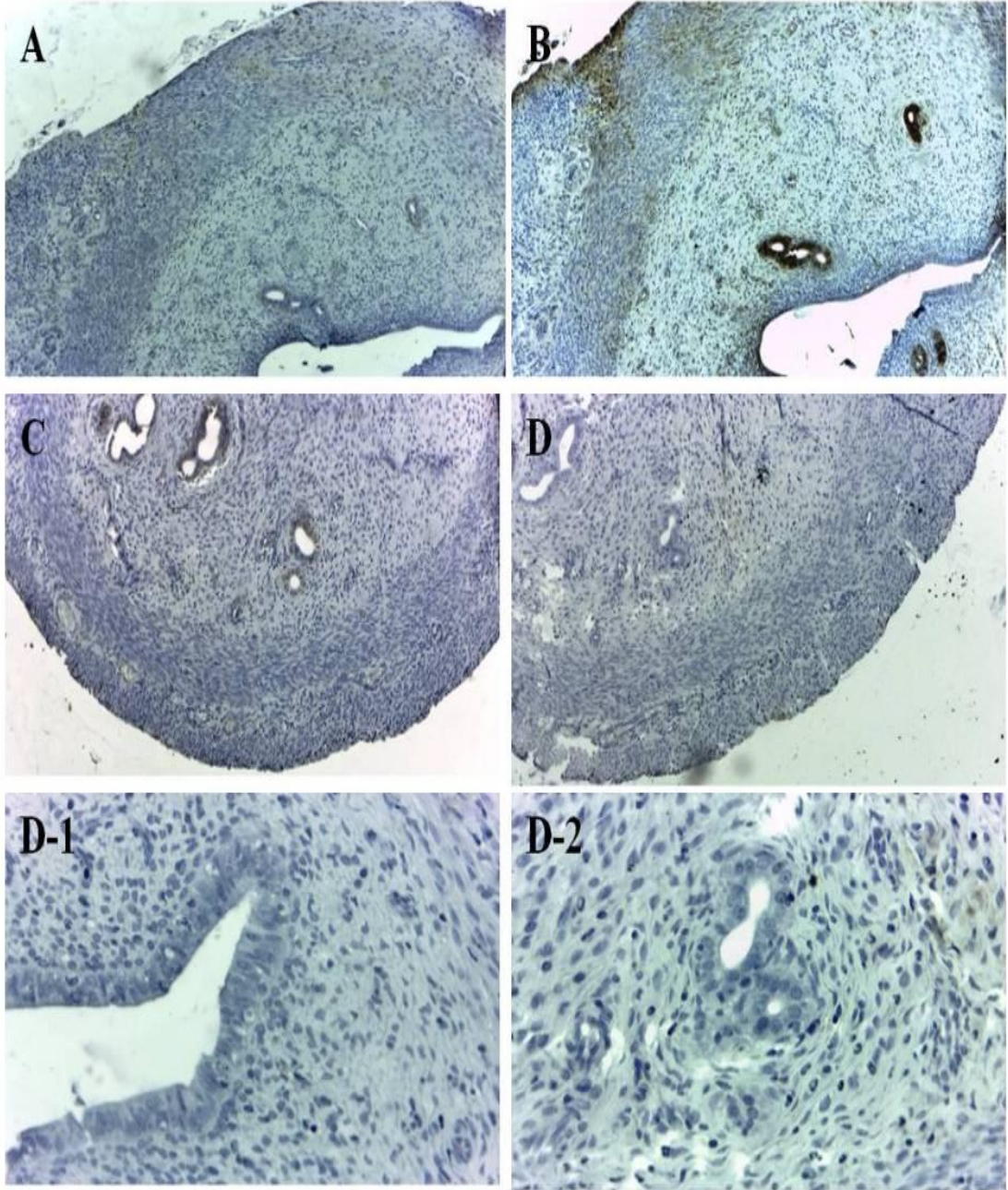
**Resim 28.** Kadmiyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 10X100, A-1 40X100 E-cadherin),(B 10X100, B-1 40X100MT-3), (C 10X100, C-1 10X100NCAM) ve (D 10X100, D-1 10X100 Negatif boyama).



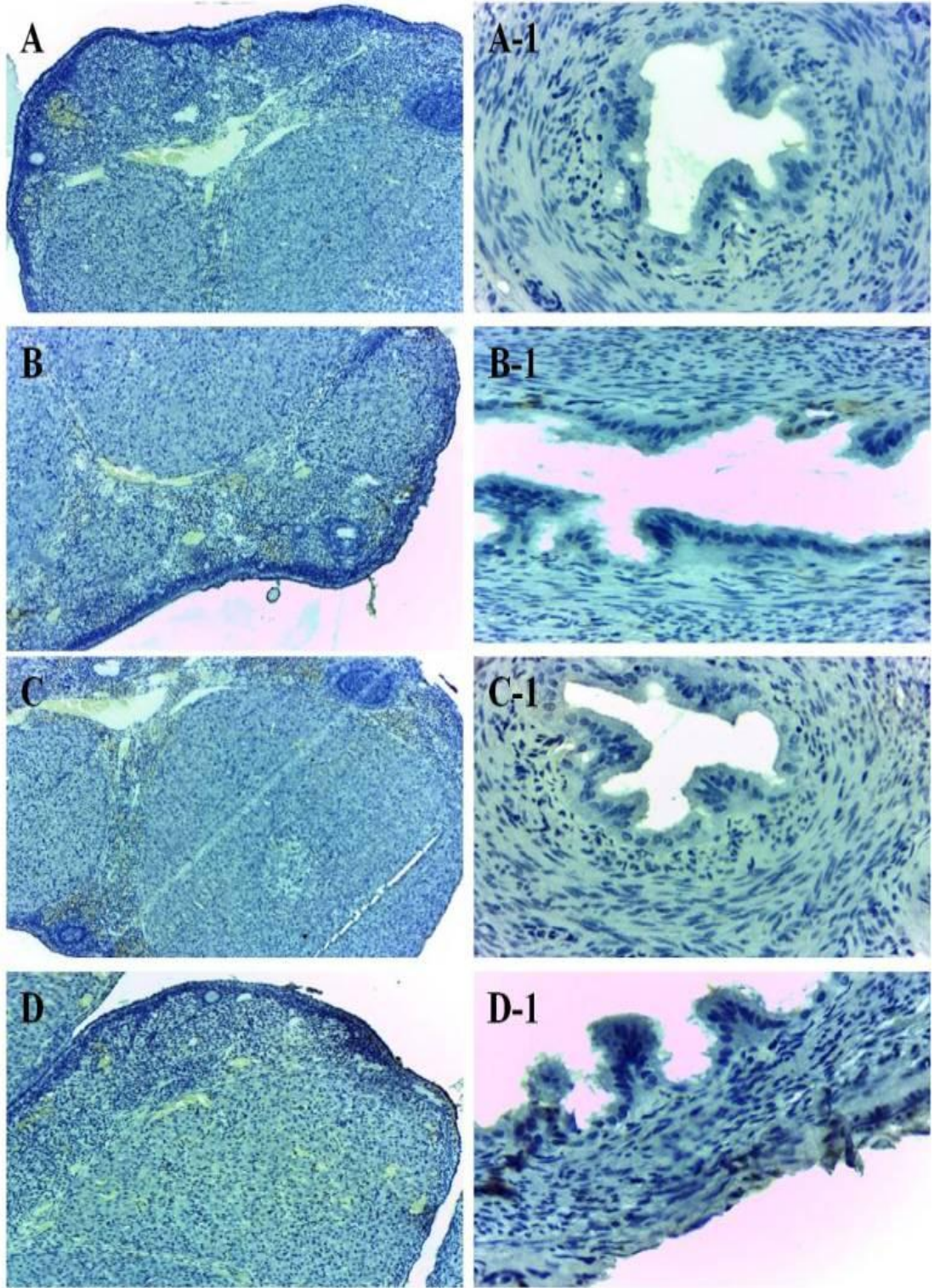
**Resim 29.** Kadmiyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100, A-1 40X100 E-cadherin),( B 10X100, B-1 40X100 MT-3), (C 10X100, C-1 40X100 NCAM) ve (D 10X100, D-1 10X100 Negatif boyama).



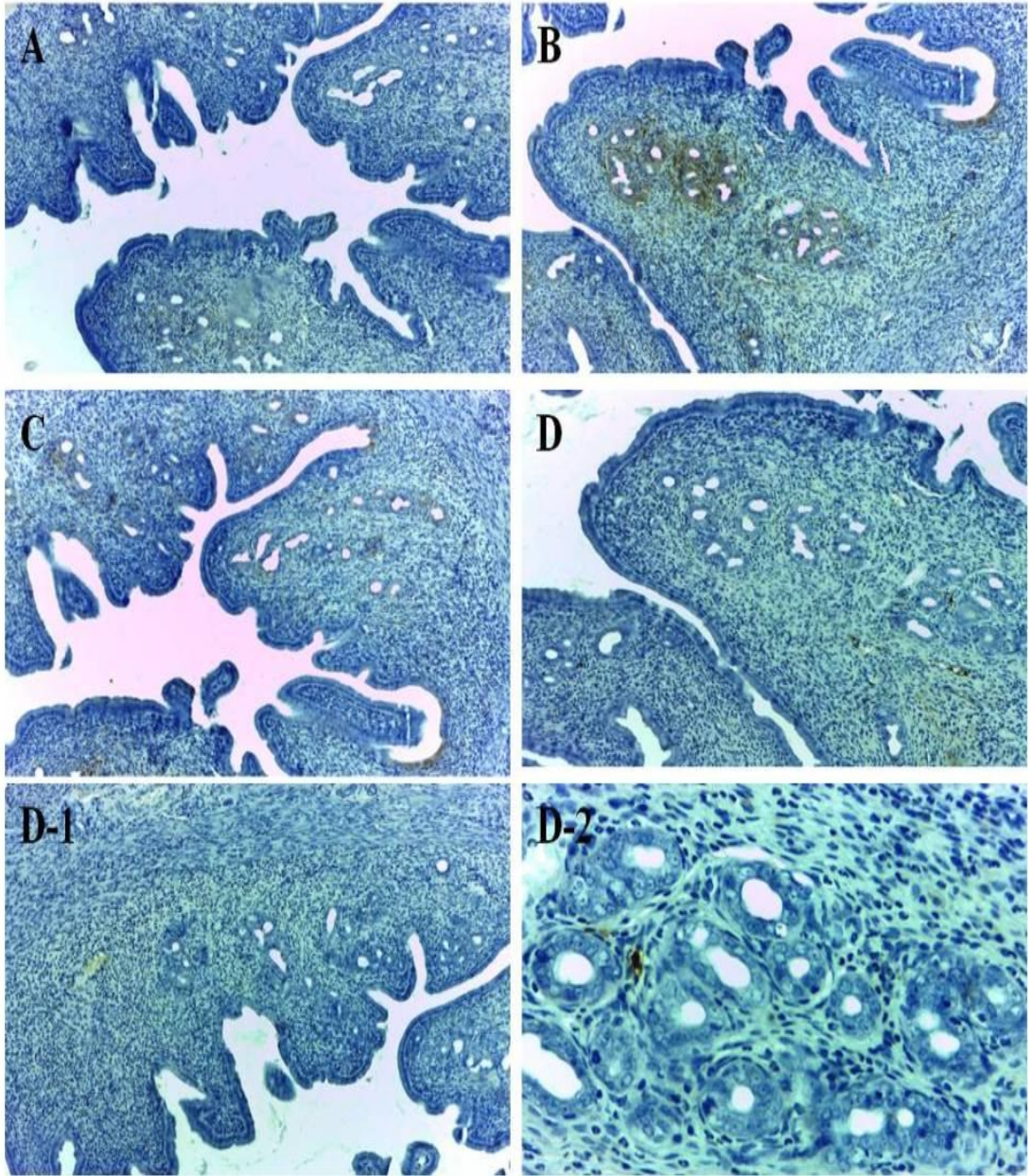
**Resim 30.** Melatonin grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 10X100, A-1 40X100 E-cadherin),(B 10X100, B-1 40X100 MT-3), (C 10X100, C-1 10X100 NCAM) ve (D 4X100, D-1 10X100 Negatif boyama).



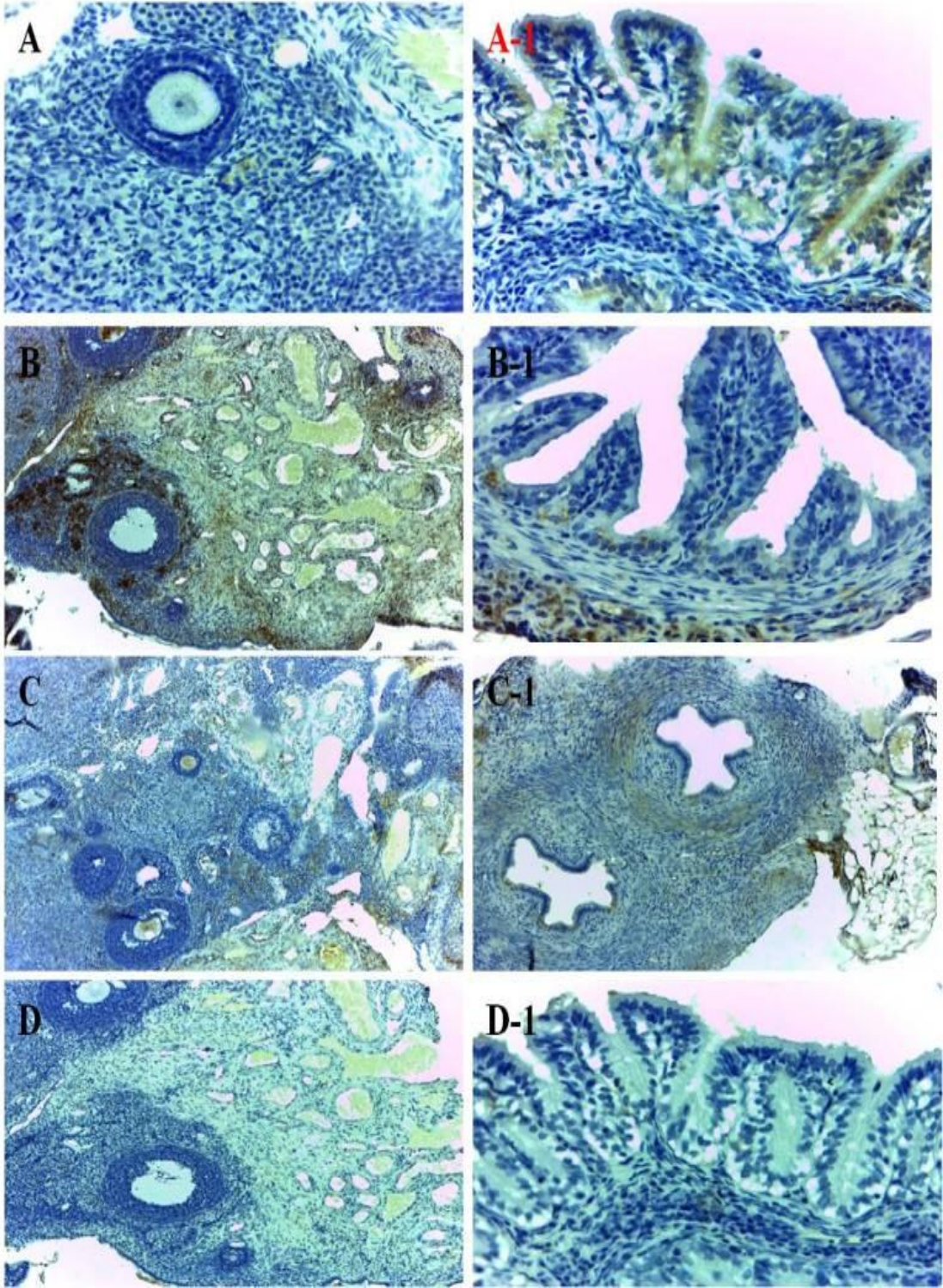
**Resim 31.** Melatonin grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin), ( B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100, D-1 40X100 ve D-2 40X100 Negatif boyama).



**Resim 32.** Selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 10X100, A-1 40X100 E-cadherin),(B 10X100, B-1 40X100 MT-3), (C 10X100, C-1 40X100 NCAM) ve (D 4X100, D-1 40X100 Negatif boyama).

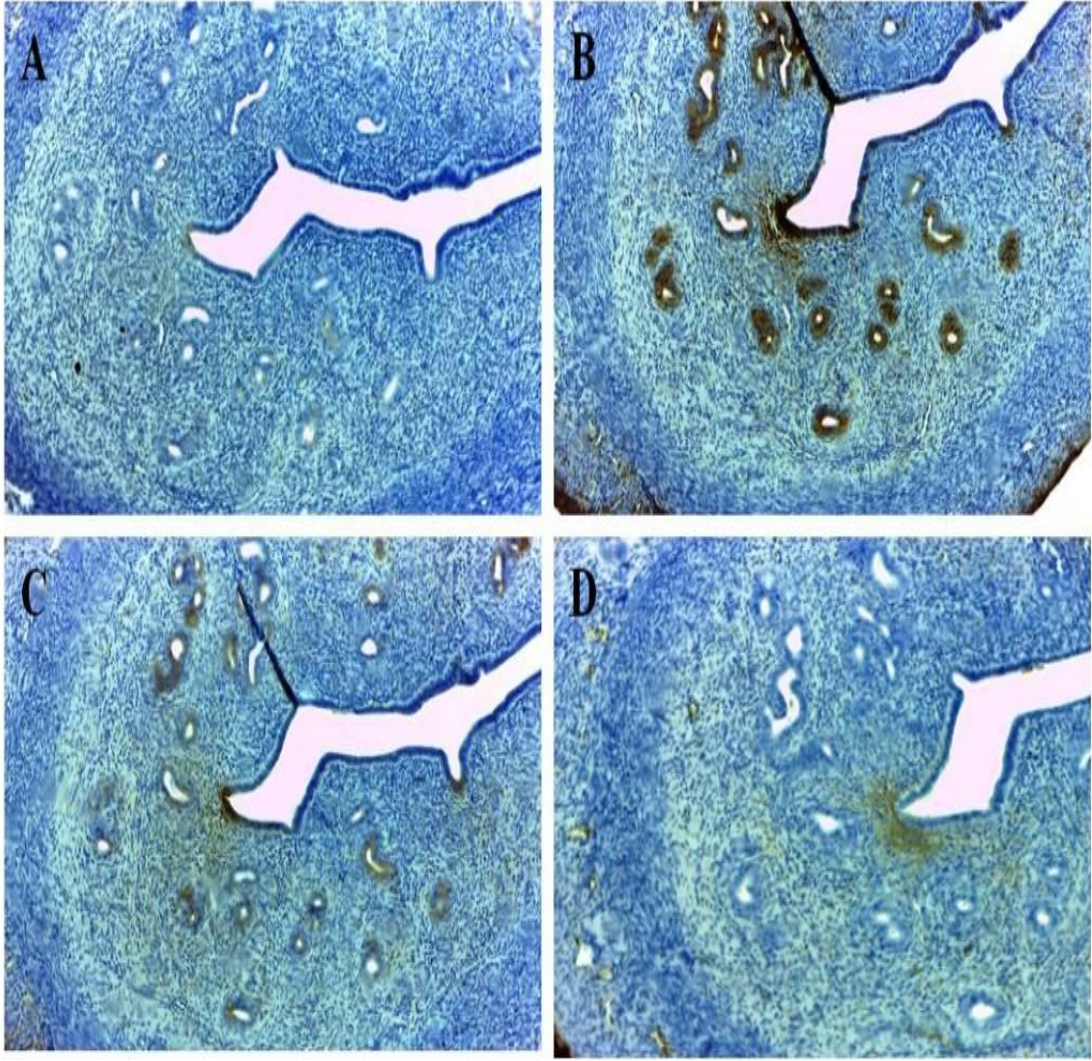


**Resim 33.** Selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin), (B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100, D-1 10X100 ve D-2 40X100 Negatif boyama).

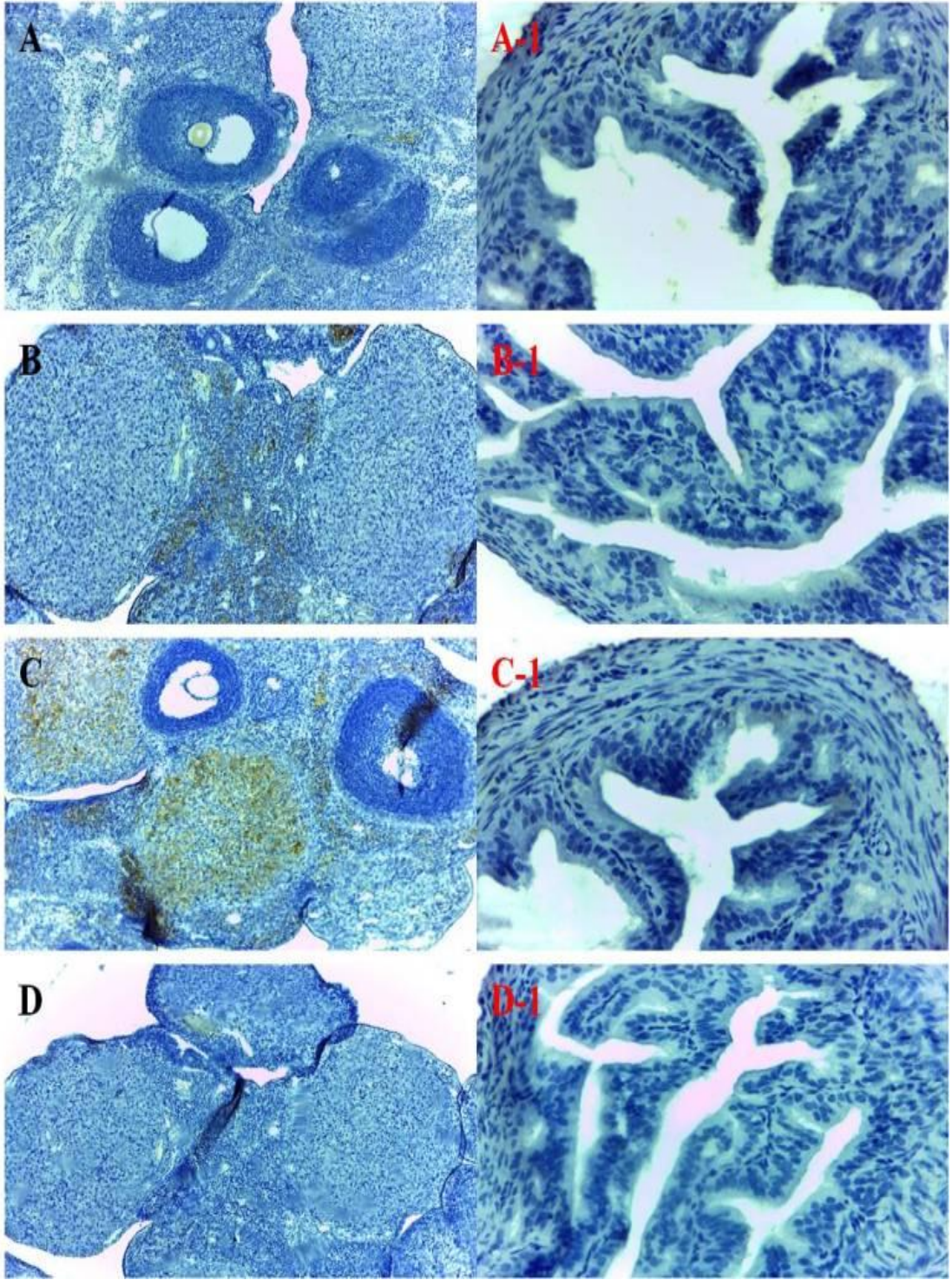


**Resim 34.** Kadmiyum+melatonin grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 40X100, A-1 40X100 E-cadherin), (B 10X100, B-1 40X100 MT-3), (C 10X100, C-1 10X100 NCAM) ve (D 4X100, D-1 40X100 Negatif boyama).

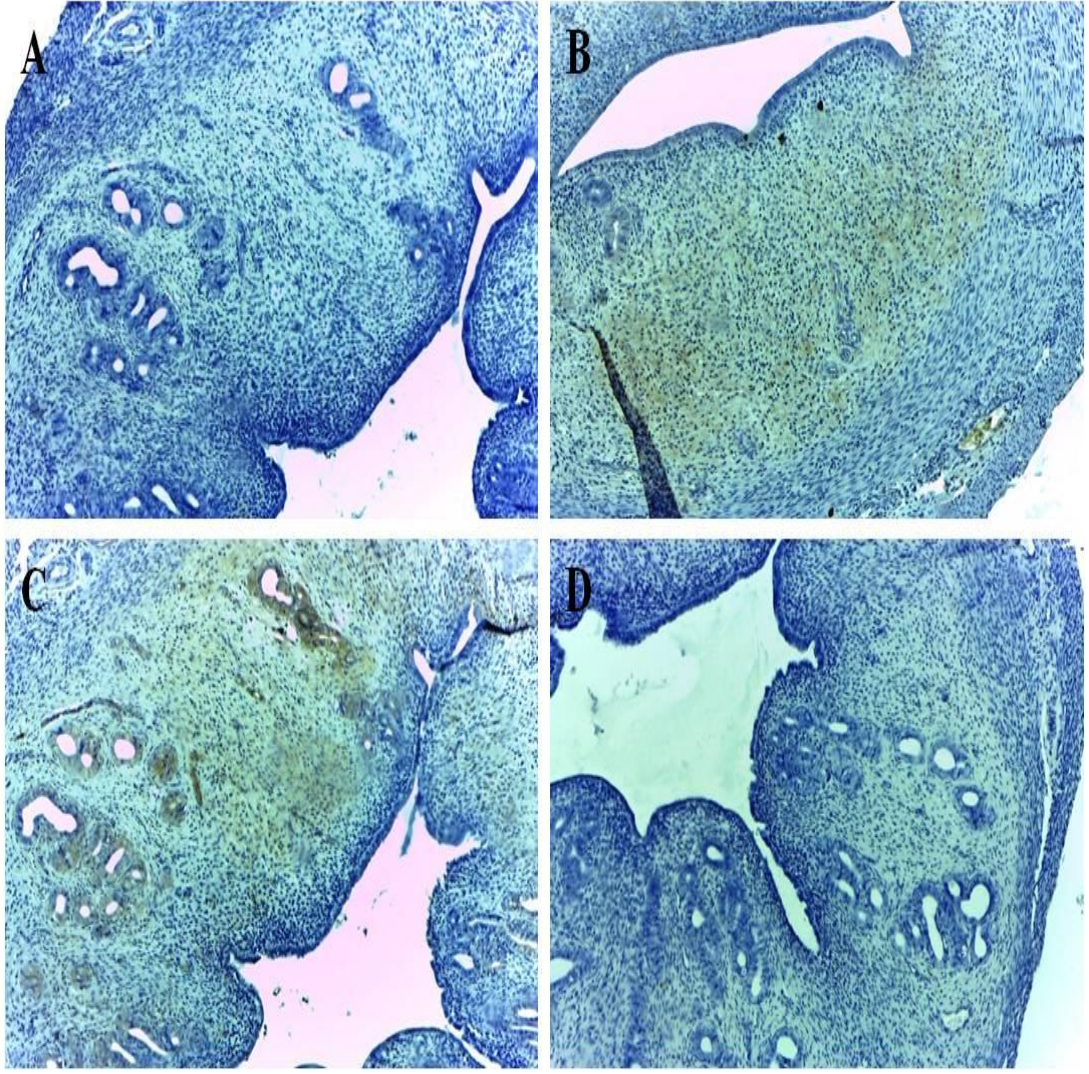




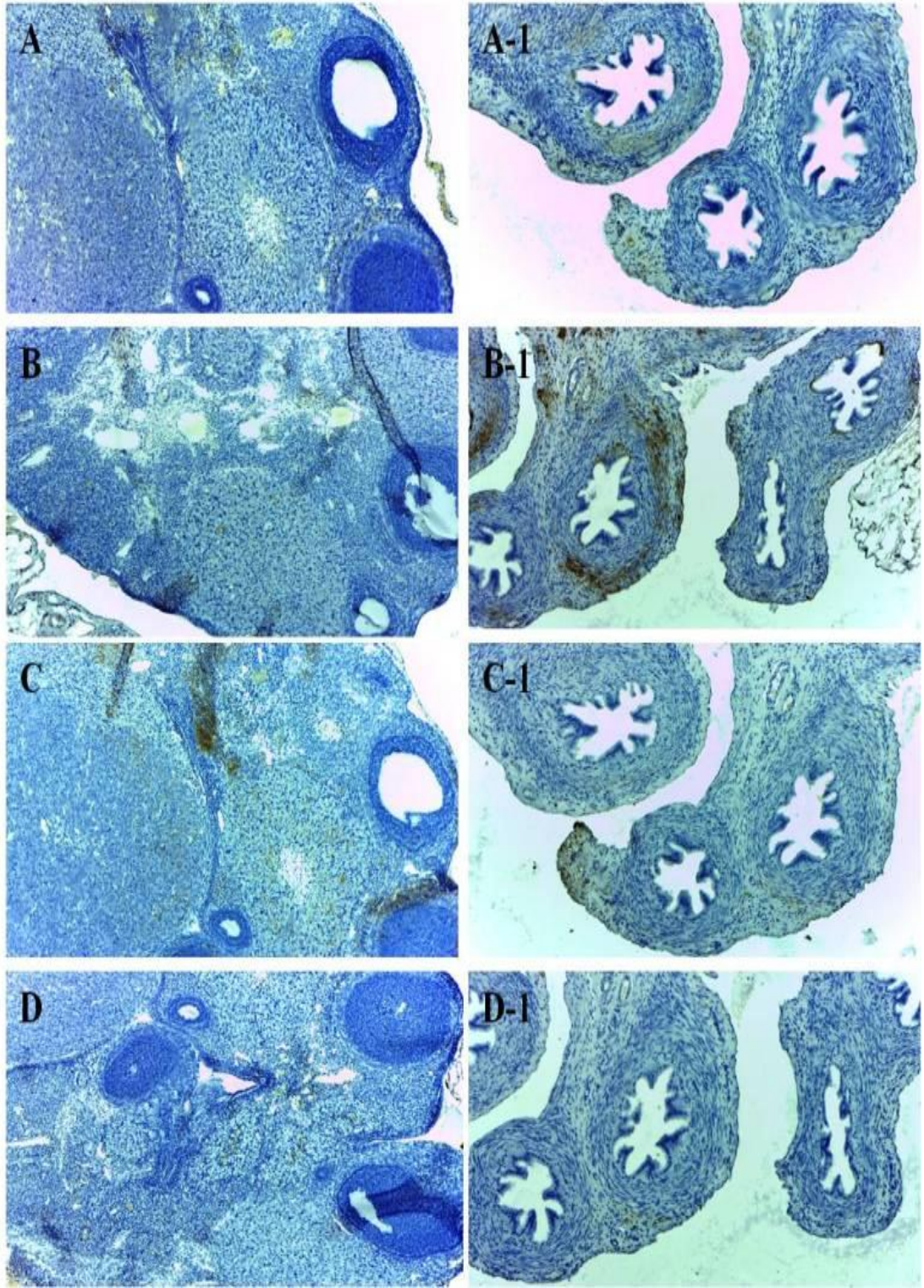
**Resim 35.** Kadmiyum+melatonin grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin), (B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100 Negatif boyama).



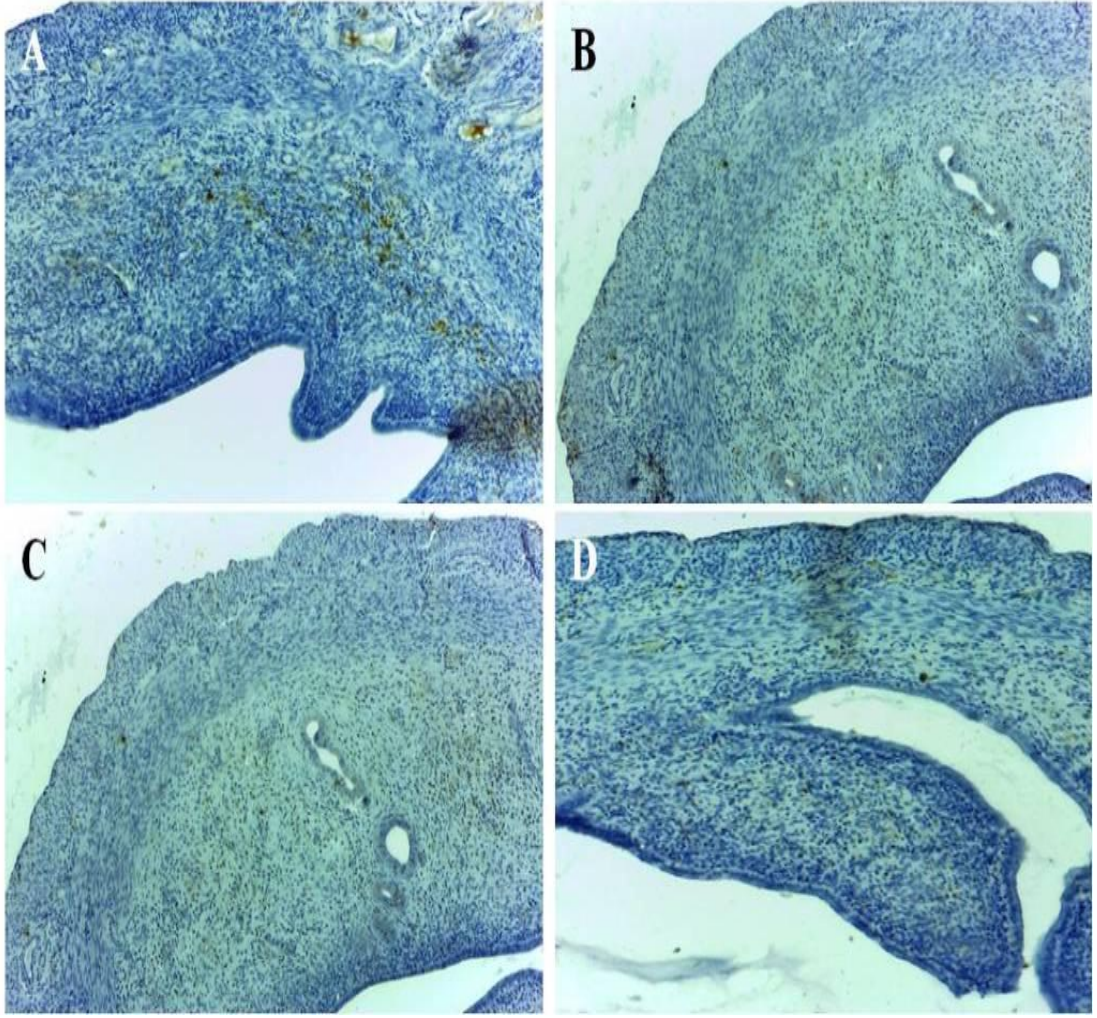
**Resim 36.** Kadmiyum+selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 10X100, A-1 40X100 E-cadherin),(B 4X100, B-140X100 MT-3), (C 10X100, C-1 40X100 NCAM) ve (D 4X100, D-1 40X100 Negatif boyama).



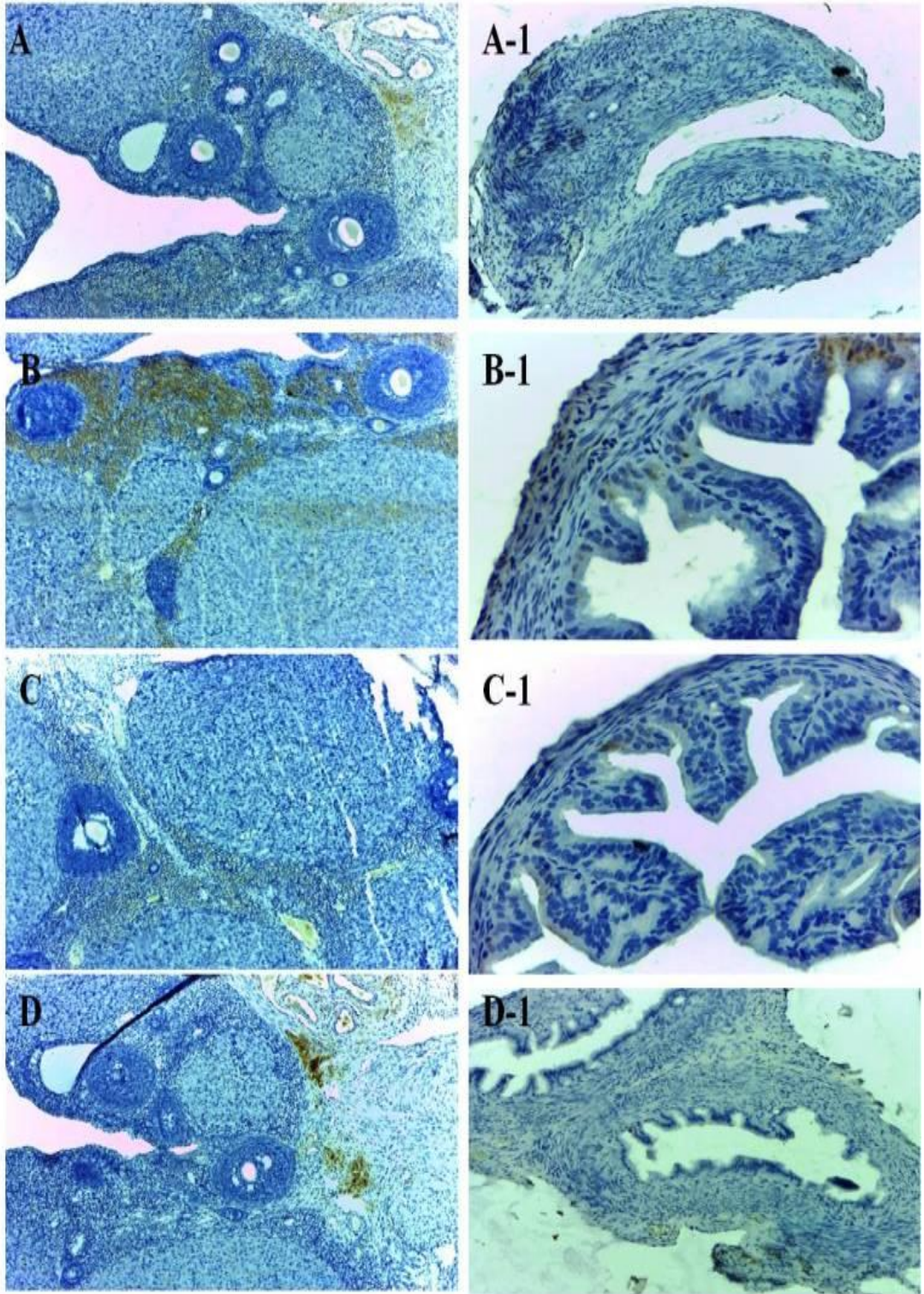
**Resim 37.** Kadmiyum+selenyum grubundaki dişi siçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin),(B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100 Negatif boyama).



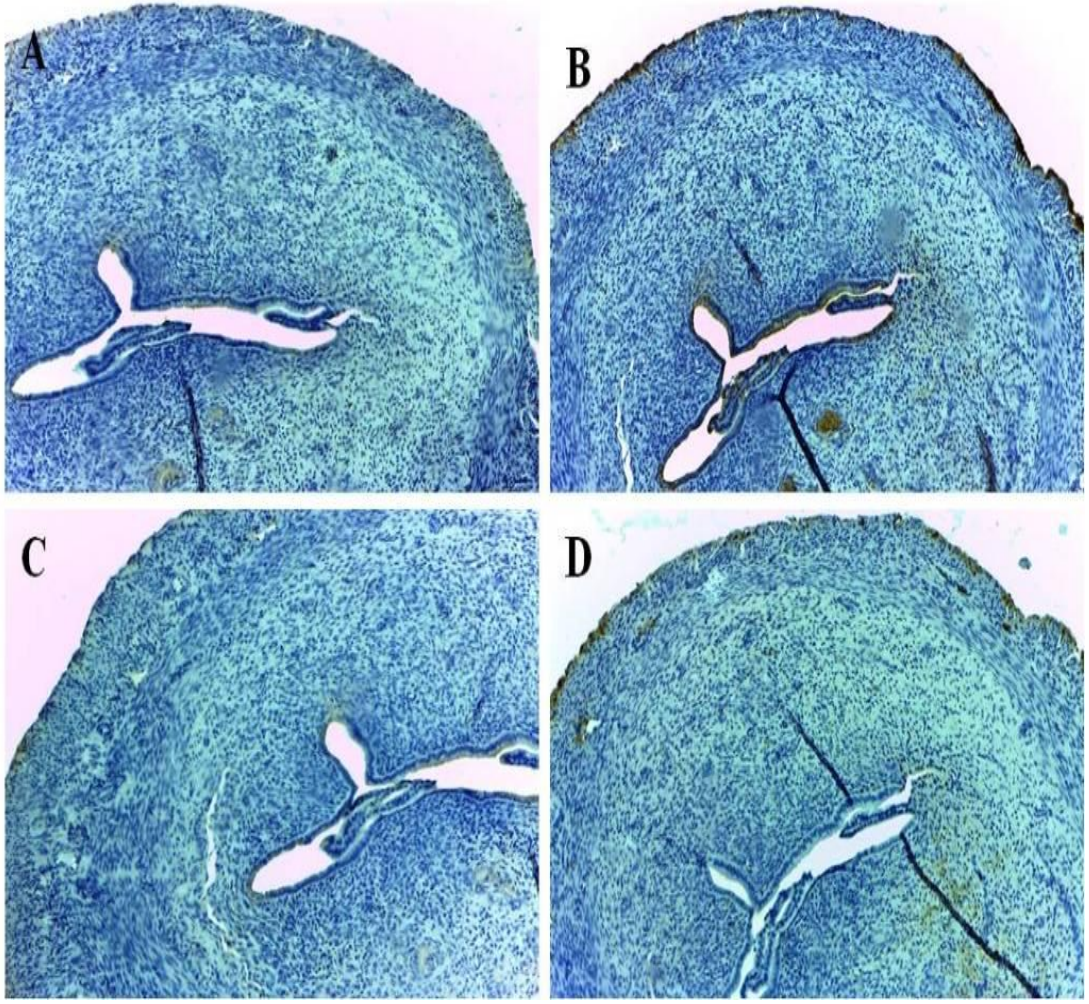
**Resim 38.** Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 10X100, A-1 10X100 E-cadherin),( B 10X100, B-1 10X100 MT-3), (C 10X100, C-1 10X100 NCAM) ve (D 10X100, D-1 10X100 Negatif boyama).



**Resim 39.** Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin),( B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100 Negatif boyama).



**Resim 40.** Kadmiyum+Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların ovaryum ve tuba uterina İHK boyamaları (A 10X100, A-1 10X100 E-cadherin), (B 10X100, B-1 40X100 MT-3), (C 10X100, C-1 40X100 NCAM) ve (D 10X100, D-1 10X100 Negatif boyama).



**Resim 41.** Kadmiyum+Melatonin+selenyum grubundaki dişi sıçanların uterus İHK boyamaları (A 10X100 E-cadherin), (B 10X100 MT-3), (C 10X100 NCAM) ve (D 10X100 Negatif boyama).

## 5. TARTIŞMA

Ağır bir metal olan kadmiyum major çevresel toksik ajanlardan biridir. Doğada kadmiyum sülfat, kadmiyum oksit ve kadmiyum klorür şeklinde ve genelde çinko, bakır ve kurşun madenleriyle birlikte ince partiküller şeklinde bulunur. Fizyolojik olarak non-esansiyel bir metaldir. İnsan ekolojisi açısından kadmiyum havadan solunumla alınır. Besinlerle, sigara ve hava yolu ile günde yaklaşık olarak 18-200 µg Cd alındığı tespit edilmiştir. Asitli topraklar (asit yağmurları) besin içeriğindeki kadmiyum derişimini artırır. Solunan havada alınan miktar 0,1-0,5 µg Cd/m<sup>3</sup> düzeyinde bulunması durumunda akciğerler için önemli tehlike arz eder. Günde 20 adet sigara içen bir insan 2-4 µg Cd almaktadır. Sigara içen bireyler nikotin, kadmiyum, kurşun ve civa gibi bir çok kimyasal bileşiğe maruz kalmaktadırlar (139).

Kadmiyum otomotiv ve metal endüstrisinde kullanılmaktadır. Kadmiyum özellikle deniz ve alkali ortam korozyonuna karşı mukavemeti nedeniyle demir, çelik, pirinç ve aliminyum kaplamasında kullanılmaktadır. Plastiklerde kadmiyum kullanımı, çevresel nedenlerden dolayı İsveç’de yasaklanmış, İsviçre’de ve Avrupa Birliğinde sınırlandırılmıştır. Kadmiyumlu toza maruz kalma, aerosol üretilen yerde çalışanlarda, maden cevheri rafinesinde, elektrot kaplama, kaynak ve pigment üretimi, plastic stabilizatör ve batarya yapımında çalışanlarda kadmiyuma bağlı akciğer hastalıkları görüldüğü saptanmıştır (139).

Kadmiyumun ana kaynağı yiyeceklerdir. Buna ek olarak diğer en önemli vücuda alınma kaynaklarından biri de sigaradır. Cd vücuda gastrointestinal, respiratuar ve dermal yol ile alınır (138). Kadmiyum, proteinlerde tercihen sülfidril gruplarına ve DNA fosfatlarından çok DNA bazlarına bağlanır. Cd-DNA bağlanma aracılığı ile sülfidril ihtiva eden antiosidan enzimlerin inhibisyonuna ve reaktif oksijen çeşitlerinin indüklenmesine neden olur. Ayrıca cd indirekt olarak da antioksidan düzeyini azaltmakta ve intrasellüler H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> artışı gösterilmiştir. Serbest radikaller DNA çapraz bağı yapmakta ve lipid peroksidasyonunu tetiklemektedir. Kadmiyum aynı zamanda transkripsiyon faktörlerinden Zn parmak motifi içinde Zn’nin yerini alır. Çünkü kadmiyum fizyolojik koşullar altında redoks aktif değildir. (139).



Kadmiyumun etkilerini sıralayacak olursak; membran yapı/fonksiyon değişimi, antioksidan enzimlere karışma, tiol proteinlerde değişim, enerji metabolizmasında inhibisyon, DNA yapısında değişim, stress genlerinin ekspresyonunun indüklenmesi ve bazı enzimatik aktivite etkilerinde önemli rol oynar (139).

Çalışmamızda kadmiyumun DNA'da fragmantasyon oluşturup oluşturmadığını inceledik. DNA ladder Kit kullanarak yaptığımız testler neticesinde kadmiyum grubunda DNA fragmantasyonu meydana getirdiğini gördük. Daha önce yapılan çalışmalarda kadmiyumun DNA yapısında değişim meydana getirdiğini göstermişlerdir (139). Biz de kadmiyumun DNA kırıklarına sebep olduğunu buna bağlı olarak da apoptozu artırdığını düşünmekteyiz.

Kadmiyum'un insanda karsinojen etki yaptığı 1976 yılında gösterilmiş ve 1993 yılında, IARC (International Agency for Cancer Research) tarafından Tip 1 karsinojen olarak sınıflandırılmıştır(140). Kadmiyumun böbrek, prostat, karaciğer ve pankreası içeren birçok organda kanserojenik etki gösterdiği bildirilmektedir. Ayrıca yapılan bir çalışmada kadmiyumun teratojenik olduğu ve doza bağlı barsak anomalisi ve oküler anomali gibi malformasyonlar oluşturduğu gözlenmiştir (139).

Endüstri alanında çalışan ve sigaranın bileşenlerinden olan kadmiyuma maruz kalan kadınlarda meme kanseri insidansının yüksek olduğu araştırılmıştır (141).

Kadmiyum insan vücudunda oldukça uzun süren bir yarılanma ömrüne sahiptir. Başta karaciğer ve böbrek olmak üzere bütün vücutta birikme eğilimi göstermektedir. Kadmiyumun hızlı komponenti vücutta 75-128 günlük yarılanma ömrüne sahipken, yavaş komponenti 7,4-26 yıl gibi uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir (137).

Yapılan bir çalışmada memeli testis ve ovaryumunda kadmiyum birikimi olduğu görülmüştür (139).Bizde deneyimizde kadmiyum verdiğimiz gruplarda ovaryum, tuba uterina ve uterus dokularımızda kadmiyum birikimi olduğunu gördük.

Vücudumuzun antioksidan savunma sistemi serbest radikallere ve ilgili ürünlerine dolaylı yoldan etki eden antioksidan enzimler ve doğrudan etki eden melatonin gibi düşük ağırlıklı moleküllerden destek almaktadır (31). Vücutta, serbest radikaller (oksidan maddeler) ile antioksidan savunma sistemi arasında bir

dengevardır ve bu dengenin oksidanların lehine bozulması durumuna, ‘oksidatif stres’ denir (30).

Selenyum (Se), bir çok enzimin yapısında bulunması nedeniyle canlı organizmalar için gerekli bir iz elementtir (22). Selenyum canlılarda düşük derişimlerde antioksidan role sahipken, yüksek derişimlerde ise toksik olduğu belirtilmiştir. Selenyum antioksidan savunmayla ilgili enzimlerde gerekli bir kofaktördür (141). Selenyum bağımlı enzimlerin reaktif oksijen radikallerini yıkarak oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır. İnsanlarda birçok biyolojik fonksiyona sahip olan selenyumun en önemli ve bilinen fonksiyonu antioksidan etkisidir (27).

Sıkı bağlantılar, yapıştırıcı bağlantılar, desmosomlar ve gap junctionlar insanlar ve ratlarda peridermden gelişirler ve bu bağlantı komplekslerinin hepsi kadmiyum için hedef olmaktadır. Kadmiyumun oksidatif stresi indüklediği, buna bağılı olarak GSPx ve CAT aktivitesini eş zamanlı düşürdüğü, metalloiyoninler ve MDA’yı ise arttırdığı tespit edilmiştir. Kadmiyumdan sonra mutasyonel değişiklikler artar ve buna bağılı olarak antioksidan enzimler olan GSPx ve CAT sentezi azalır (145).

Yaptığımız biyokimyasal analizler ve ortaya çıkan bulgular neticesinde kadmiyum verdiğimiz hayvanlarda oksidatif stress faktörlerinin artmasına bağılı olarak antioksidan enzimler olan GSPx ve CAT’ın sentezinin arttığını gördük. Bu artışın oluşan lipid peroksidatif hasarı kompanse edebilmek için antioksidan enzimlerin sentezinin atmasına bağılı olduğunu düşünmekteyiz. Kadmiyumun oluşturduğu bu toksik etkiden dokularımızı korumak için melatonin ve selenyum verdik. Melatoninin kadmiyumun oluşturduğu toksik etkileri korumada yeterli etkiyi göstermezken selenyum verdiğimiz ratlarda GSPx ve CAT enzim seviyelerinin düştüğünü biyokimyasal analizler sonucu tespit ettik. Buradan yola çıkarak kadmiyuma bağılı dişi genital sistem hasarında selenyumun koruyucu etkisinin daha fazla olduğunu düşünmekteyiz.

Çolakoğlu ve ark.’ının yaptığı bir çalışmada, normal şartlarda organizmada sentezlenen ve ağır metalleri bağlayıp detoksifikasyonunda önemli bir göreve sahip olan metalloiyoneyinin ekzojen olarak uygulanmasının herhangi bir koruyucu ya

datedavi edici etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır. Bunun sebebinin ise dışarıdan verilen MT'nin dozunun yetersiz olduğunu veya in vivo olarak organizmanın sentezlediği MT'nin sentetik olarak uygulanandan daha güçlü bir terapötik etkiye sahip olduğu fikrini ortaya koymuşlardır (137).

İmmünohistokimyasal boyamalar neticesinde kadmiyum verilen ratların ovaryum, tuba uterina ve uterus dokularında MT-3 birikiminin yoğun olduğunu gördük. Koruma amaçlı verdiğimiz antioksidan ajanlarımızdan melatoninin herhangi bir etkisini görmezken, selenyum verdiğimiz gruplarda MT-3 birikiminin anlamlı bir şekilde azaldığını gözlemledik. Kadmiyum+melatonin+selenyum verdiğimiz grupta dokularda MT-3 birikiminin azaldığını saptadık. Ancak bu azalma cd+selenyum verilen gruplarda daha fazlaydı.

Jia ve arkadaşları, ovaryum foliküllerinin granuloza hücrelerinde kadmiyumun hücre içi hasarı indüklediğini ve buna bağlı olarak DNA fragmentasyonuna neden olduğunu ve bu olayın hücreyi ölüme götürdüğünü bulmuşlardır (142).

Bizde kadmiyum verdiğimiz sıçanlarda yaptığımız histopatolojik incelemeler sonucunda ovaryum dokusundaki foliküllerde dejenerasyon ve immünohistokimyasal incelemelerde de granuloza hücrelerinde hasar oluştuğunu gözlemledik.

Massanyı ve arkadaşları, uzun süreli kadmiyuma maruz kalan over granuloza hücrelerinde morfolojik değişiklikler, sitoplazmalarında vakuoller, nadir olarak bozulmadan kalan golgi kompleksi ve sayısı artmış lizozomlar tespit etmişler. Bu veriler ışığında da granuloza hücrelerinin steroid sentezini etkilediğini saptamışlardır. Kadmiyumdan en fazla etkilenen dişi genital organın ovaryum daha sonrada uterus olduğu bildirilmiştir. Kadmiyumun uterustaki mikrosirküler kan akımını bozduğu tespit edilmiştir. Kadmiyuma maruziyetinde ovaryumun granuloza hücrelerinin ve uterusun endometriyum tabakasının dişi genital sistem organlarında en fazla etkilenen bölgeler olduğunu belirtmişlerdir (143).

Rehm ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, tek doz subkutan kadmiyum uygulanması sonrasında ratların ovaryumunda hemorajik alanlar ve foliküllerde nekrozlar görülmüştür. Gelişmekte olan foliküllerin etrafını çevreleyen damarlarının ve insitisyel stromasının hasara karşı duyarlı olduğu saptanmıştır (145).

Genç hamsterlara yüksek doz kadmiyum uygulamasından sonra uterusu kanamalara neden olduğu gösterilmiştir. Ratlarda da doza ve yaşa bağlı olarak kadmiyumun toksitesinin ovaryum, uterus ve cervikste benzer toksik etkiler gösterdiği bulunmuştur (145).

Sigara içen dişi bireylerin in vitro fertilizasyonunda foliküler sıvılarında kadmiyum oranının sigara içmeyenlere oranla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Tekrarlayan düşük ve miyomlarda dişilerdeki idrar analizleri sonucu kadmiyum miktarının artmış olduğunu bulmuşlardır (145).

Çalışmamızda histokimyasal incelemeler neticesinde kadmiyum grubundaki ratların ovaryum dokularında hemorajik alanlar, bağ dokusu artışı, foliküler dejenerasyon ve mononükleer hücre infiltrasyonları gibi yapısal değişiklikler olduğunu gördük. Uterus dokusunda ise epitelde dejenerasyon, endometriyum tabakasında dilate alanlar ve endometriyal bezlerde dejenerasyon bulguları elde edildi. Yine kadmiyum verdđimiz ratların tuba uterina epitelinde dejenerasyon ve genel olarak bir hasar meydana getirdiğini gözlemledik. Histokimyasal ve immünohistokimyasal bulgularımız da biyokimyasal ve DNA fragmantasyon bulgularımızı destekler nitelikteydi.

Ovaryumda yaşla birlikte kadmiyum birikimi artar ve bu durum ovulasyonun ilerlemesinde hataya neden olmaktadır. Başka bir etkisinde ovulasyonun hiç olmaması, tuba uterininin silyalarının oositi tutamasına veya iletememesine, oosit-kumulus ooforius kompleksinde ve bu kompleksten adezyon moleküllerinin ekspresyonunda defektlere neden olmaktadır. Oksidatif stress ve hücreler arası mekanizmada sorunlar ortaya çıkarmıştır. Foliküler arterlerin endoteline ve overin interstisyel stromasına hasar verir (145).

Kumulus hücrelerinin genişlemesinin baskılanması, oositlerin metafaz II'ye ulaşmasında azalma, oositlerin fertilizasyonunda azalma ve oosit dejenerasyonunda artış olmuştur (145).

Yapılan son çalışmalarda kadmiyum ve diğer toksik metallerin, kaderinlerin  $Ca^{+2}$  tutunma bandlarında defektler meydana getirdiği bulunmuştur. Kadmiyum için hedef bölge kaderinlerin sinyal yollarından bir veya birden fazlasını bozarak etki ettiği düşünölmektedir. Kadmiyum ATP ve glutasyon seviyelerini değiştirerek E-

kaderinlerin fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır. Bu durum özellikle kaderin/ $\beta$  katenin ( $Ca^{+2}$  bandları) bozulmasına neden olarak gelişmektedir. Kadmiyumun kaderin/ $\beta$  katenin bağlantısını bozmasıyla kanser oluşumları meydana gelmektedir (4).

Selenyumun ise hücre ve dokuları kadmiyumun zararlı etkisinden kurtardığı ya da koruduğu sanılmaktadır (145).

Kadmiyumun NCAM'ın hücre dışı domainleriyle etkileşime geçerek fonksiyonunu bozduğu ve hücre dışı bağlantılarına hasar verdiğini göstermişlerdir (4).

Yaptığımız immünohistokimyasal boyamalar neticesinde kadmiyum verdiğimiz ratların granuloza hücrelerinde, tuba uterinaepitelinde ve uterus epitelinde E-kaderin sentezinin arttığını gördük. Bu durum kadmiyumun  $Ca^{+2}$  bağımlı adezyon molekülü E-kaderinin fonksiyonunu bozduğunu göstermektedir. Aynı şekilde diğer bir adezyon molekulumuz NCAM'ın sentezinin özellikle uterusunda oldukça arttığını tespit ettik. Kadmiyum adezyon molekülleri üstündeki bu zararlı etkisinden korumak için verdiğimiz antioksidan ajanlardan melatonin herhangi bir koruyucu etki göstermedi. Ancak cd+selenyum, cd+selenyum+melatonin beraber verdiğimiz gruplarda E-kaderin ve NCAM sentez düzeylerinin azaldığını tespit ettik. Bu azalma cd+selenyum grubunda daha fazla idi.

Kadmiyumun zararlı etkilerinden koruma amaçlı verdiğimiz antioksidan ajanımız melatoninden istediğimiz sonucu alamamızın dışı ratlardaki hormonal değişimlerin değişkenliğine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Hormonal etkileşimler oldukça hassas dengeler içinde devam eder. Bu nedenle çalışmamızda uzun süreli koruma amaçlı melatonin kullanımı dokularımızı korumaktan ziyade hasar oluşturmaya başladığını gözlemledik. Buradan yola çıkarak kullanılan antioksidanların koruyucu etki göstermesinin doza, kullanılan süreye ve hormonal etkileşime (özellikler dışılerde) bağlı olarak değiştiğini söyleyebiliriz.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

İnsanların bilerek veya bilmeyerek maruz kaldığı kadmiyum ağır metalinin ovaryum, tuba uterina ve uterus dokularında ciddi hasarlar oluşturabildiğini histokimyasal, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve DNA Ladder Kit yöntemi kullanarak elde ettiğimiz parametrelerle destekleyerek ortaya koyduk.

Koruma amaçlı verdiğimiz antioksidan ajanlarımızdan melatoninin yetersiz olduğunu ve uzun süreli kullanımında ise kendisinde dokularda hasar oluşturabileceğini tespit ettik. Bunun sebeplerinden birsininde dişi ratlardaki hormonal denge olma olasılığının yüksek olduğunu düşünüyoruz.

Diğer antioksidan ajanımız selenyumun ise beklediğimiz şekilde kadmiyumun dokularda oluşturduğu toksik etkiden koruduğunu histolojik, biyokimyasal ve DNA Ladder Kit yöntemleriyle destekleyerek ortaya koyduk.

Cd+selenyum+melatoninini beraber verdiğimiz grubumuzda kadmiyumun toksik etkilerinin azaldığını elde ettiğimiz bulgular neticesinde gözlemledik.

Sonuç olarak kadmiyumun dişi genital sistem organlarında hasar meydana getirdiğini, selenyumun dokuları bu hasardan korurken melatoninin herhangi bir koruyucu ya da tedavi edici etkisi olmadığını gördük.

## ÖZET

### **Kadmiyum (Cd) Verilen Dişi Sıçanlar'da Üreme Sistemi Üzerine Melatonin ve Selenyumun (Se) Etkisi**

Endüstride yaygın kullanılan kontamine içme suları, yiyecekler ve sigara tüketimiyle vücuda alınan kadmiyumun (Cd) dokularda birikerek oluşturduğu toksisite üzerine Selenyum (Se) ve Melatoninin antioksidan etkisini ve Metalloitiyoninin (MT) dokulardaki kadmiyuma bağlı artışını dişi üreme sisteminde göstermeyi amaçladık.

Deneyimizi 64 dişi sıçanın bulunduğu 8 gruptan oluşturduk. Grupları Grup I (kontrol) serum fizyolojik, Grup II kadmiyum, Grup III melatonin, Grup IV selenyum, Grup V kadmiyum+melatonin, Grup VI kadmiyum+selenyum, Grup VII melatonin+selenyum ve Grup VIII kadmiyum+melatonin+selenyum şeklinde düzenledik. Serum fizyolojik ve kadmiyum gavajla, melatonin ve selenyum intraperitoneal (i.p) olarak 30 gün uygulandı. Deney sonunda sıçanlara i.p. anestezi uygulanarak over, tuba uterina ve uterus dokuları alındı. Alınan dokuların bir kısmı histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehite, kalanlarda biyokimyasal analiz için fosfat tamponuna ve kanlar da apoptotik hücre ve DNA fragmentasyonu tayini için EDTA'lı tüplere alındı.

Deneyimizin sonunda MDA, CAT ve GSPx düzeylerinde en fazla artış Grup II'nin dokularında olurken, Grup III, Grup VII ve Grup VIII'in dokularında bu parametrelerin kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi. Grup V ve Grup VI'da ise bu parametre düzeylerinin Grup II'ye göre düştüğü tespit edildi. DNA ladder Kit ile yapılan analizler sonucunda Grup II de DNA fragmentasyonu ve apoptotik hücre artışı gözlemlendi. Histopatolojik bulgularımızla biyokimyasal analizler ve DNA Ladder Kit sonuçları birbirine benzerdi. Kadmiyum grubunun bütün dokularında E-kaderin ve NCAM sentezinde artış ve dokularda yüksek MT-3 birikimi gözlemlendi. Grup VI ve Grup VIII de anlamlı düzelmeler gözlemlenirken, melatoninin herhangi bir koruyucu etkisi saptanmadı.

Sonuç olarak kadmiyumun over, tuba ve uterusta hasar oluşturduğunu, selenyumun dokuları bu hasardan korurken melatoninin koruyucu bir etkisi olmadığını gördük. Çalışmamızın kadmiyum tedavisine ya da korunmasına katkı sağlamasını ve yeni tedavi yollarına basamak teşkil edeceğini umuyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Kadmiyum, Metalloitiyoneyin, Sigara, Melatonin, Selenyum

## ABSTRACT

### **Effect of Melatonin and Selenium on Reproductive System of Cadmium Given Female Rats**

Widely used in the industry, taken to the body with contaminated drinking water, food and cigarette consumption; we aimed to show antioxidant effects of selenium on cadmium toxicity by accumulating in the tissues and cadmium-dependent increase of metallothionein in female reproductive system.

We formed the experiment groups as of 8 groups consisted of 64 female rats. Groups are formed as Group I control (saline), Group II cadmium (Cd), Group III melatonin, Group IV selenium, group V cadmium+melatonin, group VI cadmium+selenium, group VII melatonin+selenium and group VIII cadmium+melatonin+selenium. With saline solution and cadmium gavaj, melatonin and selenium intraperitoneal (i.p) was administered for 30 days. At the end of the experiment, tuba uterina, uterus, and the ovarium were extracted under anesthesia. Tissues for histochemical and immunohistochemical evaluation were taken to 10% formaldehyde, rest of the tissues were taken to phosphate buffer, bloods were taken to EDTA tubes for apoptotic cells and DNA fragmentation study.

At the end of our study, most increase in MDA, CAT and GSPx levels were seen in Group I (Control) and these parameters were increased in Group III, VII and VIII compared to control group. In group V and VI, these parameters decreased compared to Group II. After DNA Ladder Kit analyses, DNA fragmentation and apoptotic cell increased were observed in Group II. Histopathologic and biochemical findings were similar with DNA Ladder Kit findings. E-cadherin and N-CAM synthesis increase and high MT-3 accumulation were seen in all cadmium group tissues. No protective effect of melatonin were seen.

As a result, cadmium damage in ovarium, tuba uterina and uterus were seen. Selenium protected tissues against these damage but melatonin had no protective effects. We hope that our study will contribute to cadmium protection and therapy and be step to new therapeutic approaches.

**Keywords:** Cadmium, Metallothionein, Cigarette, Melatonin, Selenium



## KAYNAKLAR

1. Ceylan S, Sanlı Y, 1980. Çevre ve Besin Kirlenmesi. Gıda Bil. Teknol. Derg, 3 (1-2), 76-92.
2. El-Sokkary, G.H Abdel-Rahman, G.H., Kamel, E.S., 2005. Melatonin Protects Against Lead-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Male Rats. Toxicology, 213 (1-2), 25-33.
3. Goyer, R.A, Clarkson, W.T., 2001. Toxic Effects of Metals. Edited by: Klaassen, C.D. Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 6th ed, McGraw-Hill, USA, 811-827.
4. Prozialeck W.C, Edwards, J.R., Woods, J.M., 2006. The Vascular Endothelium as a Target of Cadmium Toxicity. Life Sci 79 (16), 1493-1506.
5. Baş L, Demet Ö. (1992). Çevresel Toksikoloji Yönünden Bazı Ağır Metaller. Ekoloji, 5; 42-46.
6. Koçak M. (2004). Kronik Kadmiyum Toksikitesinin Hemostatik Sisteme Etkileri, Doktora Tezi, Türkiye Cumhuriyeti Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Fizyopatoloji Bilim Dalı, Ankara.
7. Gunawardana CG, Martinez RE, Xiao W. (2006). Templeton DM. Cadmium inhibits both intrinsic and extrinsic apoptotic pathways in renal mesangial cells. Am J Physiol Renal Physiol. 290(5): 1074-1082.
8. Merian M. (1991). Cadmium and Their Compounds in the Environment. 803-851.
9. Friberg L, Elinder CG, Kjellstrom T. (1986). Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal. 247-255.
10. Ohta H, Yamauchi Y, Nakakita M, Tanaka H, Asami S, Seki Y, Yoshikawa H. (2000). Relationship between Renal Dysfunction and Bone Metabolism Disorder in Male Rats after Long-term Oral Quantitative Cadmium Administration. Industrial Health. 38: 339-355.
11. Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D. (2003). Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. Toxicology. 192(2-3): 95-117.
12. Giuseppe C, Elisa F, Rinaldi AM. (2009). Cadmium and mitochondria. Mitochondrion. 9(6):377-384.
13. Satoh, M., Koyama, H., Kaji, T., Kito, H., Tohyama, C., 2002. Perspectives on Cadmium Toxicity Research. Tohoku. J. Exp. Med. 196, 23-32.
14. Aydoğdu, N., Kanter, M., Erbas, H., Kaymak, K., 2007. Kadmiyuma Bağlı Karaciger Hasarında Taurin, Melatonin ve Asetilsisteinin Nitrik Oksit, Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidanlar Üzerindeki Etkileri. Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal), 29 (2), 089-096.
- 15.

16. Kolluru GK, Tamilarasan KP, Priya SG, Durgha NP, Chatterjee S. (2006). Cadmium induced endothelial dysfunction: Consequence of defective migratory pattern of endothelial cells in association with poor nitric oxide availability under cadmium challenge. *Cell Biol Int.*30(5):427-438.
17. Filipi M, Hei TK. (2004). Mutagenicity of cadmium in mammalian cells: implication of oxidative DNA damage. *Mutat Res.*546 (1-2): 81-91.
18. Joseph P. (2009). Mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 238: 272–279.
19. Siu ER, Mruk DD, Porto CS, Cheng CY. (2009). Cadmium-induced testicular injury. *Toxicol Appl Pharmacol.* 238: 240–249.
20. Kara H, Karataş F, Canatan H (2005) 'Effect of Single Dose Cadmium Chloride Administration on Oxidative Stress in Male and Female Rats' *Turk J Vet Anim Sci* 29 37-42, TÜBİTAK
21. Thijssen S, Cuypers A, Maringwa J, Smeets K, Horemans N, Lambrechts I, Kerkhove E.M, (2007) 'Low cadmium exposure triggers a biphasic oxidative stress response in mice kidneys' *Toxicology* 236: 29-41
22. Aydoğdu N, Erbaş H, Kaymak K (2007) ' Taurin, Melatonin ve NAsetilisteinin Kadmiyuma Bağlı Akciğer Hasarındaki Antioksidan Etkileri. ' *Trakya Univ Tıp Fak Derg*; 24(1): 43-48
23. Su, L, Wang, M, Yin, S, Wang, H, Chen, L, Sun, L, Ruan, D. 2008. " The Interaction of Selenium and Mercury in the Accumulation and Oxidative Stress of Rat Tissues", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70, 483-489.
24. Miller L.L, Wang F, Palace V.P, and Hontela A. 2007. "Effects of Acute and Subchronic Exposure to Waterborne Selenite on the Physiological Stress Response and Oxidative Stress Indicators in Juvenile Rainbow trout", *Aquatic Toxicology*, 83, 263-271.
25. Fox, M. J., 1992.Selenium: Nutritional Implications and Prospects for Therapeutic Medicine. *Meth Find Exp Clin Pharmacol*, 14 (4), 275- 287.
26. Gebre-Medhin, M. Ewald, U, Platin, L., 1984.Elevated Serum Selenium in Diabetic Children. *Acta Pediatr Scand*, 73, 109-114.
27. Simonoff, M., Sergeant, C., Garnier, N., Moretto, P., Llabador, Y., Smonoff, G., Conri, C., 1992.Antioxidant Status (Selenium, Vitamins A and E) and Aging. *Exs*, 62, 368-97.
28. Tapiero, H., Townsend, D.M, Tew, K.D., 2003. The Antioxidant Role of Selenium and Seleno-Compound. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57, 134-144.
29. Parlakpınar, H, Koç, M, Acet, A. 2004. "The Effects of Apoptosis and Melatonin Levels On Aging" *T Klin Tıp Bilimleri*, 24:62-67.
30. Uzbay, T.İ. 2012. "Agomelatin: Genel Bilgiler, Farmakolojisi ve Kullanım Güvenliği", *Klinik Psikiyatri*,15(Ek 1), 9-19.18.Çetin, E. 2005. "Melatonin ve Bağışıklık Sistemi", *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 2(2), 119-123.

31. Çetin, E. 2005. "Melatonin ve Bağışıklık Sistemi", *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 2(2), 119-123.
32. Kaplan, M, Atakan H, İ, Aydoğdu, N, Aktoz, T, Öz Puyan, F, Şeren, G, Tokuç, B, İnci, O. 2009. "The effect of melatonin on cadmium-induced renal injury in chronically exposed rats", *Türk Üroloji Dergisi - Turkish ÖzkJournal of Urology*, 35(2),139-147.
33. Uysal, A, Burma, O, Akar, İ, Özsin K, K, Rahman, A, Üstündağ, B, Özercan İ, H. 2006. "Protective effect of melatonin on lung injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities", *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 14(4), 308-314.
34. Erdem, M, Bostan, B, Güneş, T, Özkan, F, Şen, C, Özyurt, H, Köseoğlu, D.R, Erdoğan, H. 2010. "Protective effects of melatonin on ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle", *Eklemler Hastalıkları ve Cerrahisi*, 21(3), 166-171.
35. Wätjen W, Cox M, Biagioli M, Beyersmann D. (2002). Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: Mediation by caspase 9 activation. *Biometals*. 15:15–25.
36. Oh SH, Lee BH, Lim SC. (2004). Cadmium induces apoptotic cell death in WI 38 cells via caspase-dependent Bid cleavage and calpain-mediated mitochondrial Bax cleavage by Bcl-2-independent pathway. *Biochem Pharmacol*. 68(9):1845–1855.
37. Xiao W, Liu Y, Templeton DM. (2009). Pleiotropic effects of cadmium in mesangial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 238(3):315–326.
38. Woodsa JM, Leoneb M, Klosowskaa K, Lamarc PC, Shaknovskya TC, Prozialeckc WC. (2008). Direct antiangiogenic actions of cadmium on human vascular endothelial cells. *Toxicol in vitro*. 22(3): 643-651.
39. Yang-Sook Chun, Eunjoo Choi, Gi-Tae Kim, Hong Choi, Chan-Hyung Kim, Min-Jae Lee, Myung-Suk Kim, Jong-Wan Park. (2000). Cadmium blocks hypoxia-inducible factor (HIF)-1-mediated response to hypoxia by stimulating the proteasome-dependent degradation of HIF1a. *Eur J Biochem*. 267(13):4198-4204.
40. Wenchang Z, Fen P, Yaqing H, Ping Y, Wei L. (2008). Cadmium exerts toxic effects on ovarian steroid hormone release in rats. *Toxicology*. 182: 18-23.
41. Massanyi P, Toman R, Najmík F. (1995). Concentrations of Cadmium in Ovary, Oviductus, Uterus, Testis and Tunica Albuginea of Testis in Cattle. *J Environ Sci Health*. 30: 1685-1692.
42. Massanyi P, Uhrin V, Toman R., Pivko J, Luka N, Forgacs ZS, Somosy Z, Fabi M, Danko J. (1995). Ultrastructural Changes of Ovaries in Rabbits Following Cadmium Administration. *Acta Vet. Brno*. 74: 29–35.
43. Paksy K, Rajczy K, Forgács Z, Lázár P, Bernard A, Gáti I, Kaáli GS. (1997). Effect of cadmium on morphology and steroidogenesis of cultured human ovarian granulosa cells. *J Appl Toxicol*. 17(5):321-327.

44. Sadler T W. (2005). Medikal Embriyoloji. Başaklar C (Çev), 9. baskıdan çeviri. Ankara: Palme Yayıncılık.
45. Massimo de F. (2010). Germ stem cells in the mammalian adult ovary: considerations by a fan of the primordial germ cells. Mol. Hum. Reprod. 1-13.
46. Moore KL, Persaud TVN. (2002). Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. M. Yıldırım, I. Okar, H.Dalçık (Çev). 6. baskıdan çeviri. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
47. Gövsa F. (2003). Sistemik Anatomi. İzmir: Güven Kitapevi.
48. Ross HM, Pawlina W. (2011). Histology A Text And Atlas. 6.baskı.
49. Tekelioğlu M. (2002). Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. Ankara: Antıp AŞ yayınları.
50. Aytekin Y, Solakoglu S, editörler. (2006). Temel Histoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 449-458.
51. Plendl J. (2000). Angiogenesis and vascular regression in the ovary. Anat Histol Embryol. 29(5):257-266.
52. Junqueira LC, Carneiro J. (2003). Temel Histoloji. (Türkçe Çeviri) 10. baskı. Nobel Tıp Kitap Evleri.
53. Knight PG, Glister C. (2006). TGF-b superfamily members and ovarian follicle development.132: 191-206.
54. Moore L. K., Agur M. R. A. Temel Klinik Anatomi. Elhan A, Barut Ç, Ersoy M (Çev), 2006. 2. Baskı, Güneş Kitabevi. s. 246-247.
55. Cumhuriyet M, Yener N, Tuncel M. Temel Anatomi. Odtü Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş. 2001. s. 281- 283.
56. Dere F. Anatomi. Cilt 1-2. Adana: Okullar Pazarı Kırtasiye ve Tic. Ltd.Şti. 1996.
57. Snell S. R. Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Anatomi. Yıldırım M. (Çev), 1998. 5. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.
58. YOUNG B, HEATH JW. Wheater's Functional Histology a Text and Colour Atlas. Copyright Licensing Agency Ltd., London, s. 341-348, 2000.
59. Junqueira C. L, Carneiro J. Temel Histoloji. Aytekin Y., Solakoğlu S. (Çev), 10. Baskı, Brezilya, Noel Tıp Kitapevleri, 2003. s.449-459.
60. TANYOLAÇ A. Özel Histoloji, Yorum Basımevi, Ankara, sayfalar 144-152, 1999.
61. Junqueira C. L, Carneiro J. Temel Histoloji Text and Atlas. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Çev). Noel Tıp Kitapevleri, 2006. s. 449- 459.
62. Fawcett D.W., Jensch R.P Bloom & Fawcett's Concise Histology. A member of Hodder Headline Group. Landon. 2002. s. 282- 299.
63. Henrikson R. C., Kaye I. G., Mazurkiewicz J. E. National Medical Series for Independent Study. Lippincott Williams & Wilkins. 1997. s. 373- 381.

64. Erdoğan D, Hatipoğlu M. T, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji. 2. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 2007.
65. Demir R. Histolojik Boyama Teknikleri. Palme Yayınları. Ankara. 2001.
66. Ross HM, Kaye GI, Pawlina W. Histology: A Text and Atlas. 4. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2003; 726-757.
67. Kierszenbaum A.L. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Demir R. (Çev). Palme Yayınları. 2006. s. 565- 585
68. Kidder G. M., Mhawi A. A., Gap junctions and ovarian folliculogenesis. *Reproduction and Fertility*, (2002) 123, 613–620.
69. Grazul-Bilska A. T., Reynolds L. P., Redmer D.A., Gap Junctions in the Ovaries. *Biology Of Reproduction* (1997) 57, 947-957
70. Moore K.L., Persaud T.V.N. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M., Dalçık H. (Çev). 8. baskıdan çeviri. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009. s. 262- 284.
71. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H, editörler. İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. pp. 323-324.
72. Guyton C. A, Hall E. J. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H, Yeğen Ç. B. (Çev), 11. Baskı, İstanbul: Yüce Yayınları A.Ş.-Nobel Tıp Kitap Evleri; 2007, s.1011-1025.
73. Ganong W.F. Tıbbi Fizyoloji. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği. (Çev), 20. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitap Evleri Ltd. Şti; 2002, s. 419- 433.
74. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 17. Baskı. Ankara: Meteksan Anonim Şirketi; 2008. s. 1117- 1127.
75. Taşkinalp O. Kadın Genital Sistemi. İçinde: Gökmen Gövsa F, editör. Sistematik Anatomi. İzmir: İzmir Güven Kitapevi; 2003.
76. Snell RS. Klinik Anatomi. Yıldırım M (Çev), 6.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004.
77. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2001.
78. Moore LK, Dalley FA. Kliniğe Yönelik Anatomi. Şahinoğlu K (Çeviri Editörleri), 4.Baskı. İstanbul: Nobel Kitabevleri; 2007.
79. Ozan H. Anatomi. Ankara: Nobel Tıp Kitap evleri; 2004.
80. Gökmen GF. Sistematik anatomi. İzmir: İzmir Güven Kitabevi, 2003.
81. Sancak B, Cumhuriyet M. Fonksiyonel Anatomi Baş, Boyun ve İç Organlar. 2. Baskı. Ankara: Odtü Geliştirme Vakfı Yayıncılık; 1999.
82. Ovale WK, Nahirney PC. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çev). Güneş Tıp Kitabevi; 2004.
83. Erkoçak A. Özel Histoloji Dolaşım Lenfatik-iç Salgı-Üriner-Genital ve Sinir Sistemleri. Ankara: Ankara Üniversitesi; 1984.

84. Junqueira C. L, Carneiro J. Temel Histoloji Text and Atlas. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Çev). Noel Tıp Kitapevleri, 2006.
85. Kierszenbaum A.L. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Demir R. (Çev). Palme Yayınları. 2006.
86. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. Third Edition. Philadelphia; 2007.
87. Ross MH, Pawlina W. Histology- A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology. Fifth Edition. United States Of America; 2005.
88. Turhan F. Menstrüal Döngüde Sıçan Uterus Yapısındaki Elektron Mikroskopik Değişlikler. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
89. Akbay C. , Sabuncuoğlu B:T. Özel histoloji ince yapı ve geliştirme, Antıp A.Ş. Tıp Kitapları Bilimsel Yayınları. Ankara: 2002.
90. Stenberg S. S. Histology for pathology. 12 th Edition, 879-929. Lippincott-Raven, Philadelphia, New York: 1997.
91. Guyton AC, Hall JE. TıbbiFizyoloji. Solakoğlu Z (ÇeviriEditörü). 10.Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2003.
92. Attar E, Ata B. Gomel' in Jinekolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007.
93. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA Editörler. Fizyoloji.Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çev). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.
94. Yakar K. Fizyoloji. 5. Baskı. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; 2003.
95. Şensoy E, Öznurlu Y. 'Hücre Adezyon Molekülleri'. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. Yıl: 2009 Cilt:4 Sayı: 1 Sayfa: 57-68
96. <http://yunus.hacettepe.edu.tr>, Erişim tarihi: 24 Nisan 2007
97. <http://histemb.medicine.ankara.edu.tr>, Erişim tarihi: 16 Şubat 2007
98. Abraham LKierszenbaum, MD, PhD, Adhesion molecules. Histology and cell biology, 9-13,2006 Behrens J. Cadherins as Determinants of tissue morphology and supressors of invasion. Acta Anat (Basel)1994;149:165-9.
99. Kayaalp SO, Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji Ankara: Feryal matbaası 1998 Kemler R. Classical cadherins. Stem Cell Biol1992; 3: 149-55.
100. <http://firstsearch.oclc.org> Erişim tarihi: 8 Mayıs 2007
101. Kansas GS, Selectins and their ligands: Current concepts and controversies. Blood 1996; 88: 3259-87.
102. Jung U, Ley K, Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. J Immunol1999; 162: 6755-62.
103. <http://bioweb.wku.edu> (Erişim tarihi: 10 Mayıs 2007
104. Malik AB, Lo SK, Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation Pharmacol Rev1996; 48: 213-29.
- 105.

106. Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneeman M. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin super family that distributes at intercellular junction and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol*1998; 142: 117-23.
107. <http://employees.csbsju.edu> (Erişim tarihi: 12 Mayıs 2007)
108. Etzioni A, Adhesion molecules their role in health and disease. *Ped Res*1996; 39: 191-8.
109. Lusinskas FW, Lawler J, Integrins as dynamic regulators of vascular function. *FASEB J*1994; 8: 929-38.
110. Hikim A, Swerdloff R. Hormonal And Genetic Control Of Germ Cell Apoptosis in The Testis. *Reviews Of Reproduction*.1999; 4,38-40.
111. Arslanbaş Ü. Sisplatine bağlı karaciğer hasarında üzüm çekirdeği özütü ve esansiyel kekik yağının etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi; 2010.
112. Cabadak H. Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fak Der* 2008; 9 (3): 51-61.
113. Kopuz M. Tekrarlayan Düşük (Recurrent Abortion) Olgularında Oksidan-Antioksidan Dengenin L- Karnitin ile İlişkisi. Yüksek Lisans Tezi. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2008.
114. Brezezinski A. Melatonin inhumans. *N Engl J Med* 1997; 336:186-195.
115. Arendt J.Melatonin and the pineal gland:influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Rev Reprod* 1998;3(1):13-22.
116. Boutin, J.A., Delagrange, P., Rettori, M.C., Melatonin: molecular pharmacology and therapeutic applications, *Medicographia*, 22, 72-80, 2000.
117. Cagnacci, A., Melatonin in relation to physiologoy in adut humans, *J Pineal Res*, 21, 200-213, 1996.
118. Palaoğlu, Ö.S., Beşkonaklı, E., Pineal Bez ve Yaşlanma, *Turkish Journal of Geriatrics Geriatri*, 1:1, 13-18, 1998.
119. Srinivasan, V., Spence, D.W., Pandi-Perumal, S.R., Trakht, I., Esquifino, A.I., Cardinali, D.P., Maestroni, G.J., Melatonin, environmental light and breast cancer, *Breast Cancer Res Treat*, 108:3, 339-350, 2008.
120. Altun, A., Vardar, A., Altun, B.U. Melatonin ve Kardiyovasküler Sistem. (2001). *Ana Kar Der*, 1, 283-8.
121. Yazıcı, C., Köse, K. (2004). Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 56-65.
122. Karbownik M, Reiter RJ. Antioksidatif effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiotion. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;225(1):9-22.
123. De Salvia R, Fiore M, Aglitti T, et al. Inhibitory action of melatonin on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and cyclophosphamide- induced DNA damage. *Mutagenesis* 1999;14(1):107-102.

124. Beyer CE, Stekette JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998;56(10):1265-72.
125. Reiter R, Tang L, Garcia J, et al. Pharmacological actions of melatonin on oxygen radical pathophysiology. *Life Sci* 1997; 60(25):225-227.
126. Reiter RJ, Tan DX, Qi W, et al. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept* 2000;9:160-171.
127. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003;17(2):273-285.
128. Selenium-wikipedia the free encyclopedia [web page on the internet]: <http://en.wikipedia.org/wiki/Selenium>.
129. Douillet C, Bost M, Accominotti M, Borson-Chazot F, Ciavatti M. Effects of selenium and vitamin E supplements on tissue lipids, peroxides, and fatty acid distribution in experimental diabetes. *Lipids* 1998; 33(4): 393-399.
130. Erbayraktar, Z. Deneysel Diyabetes Mellitus'ta Selenyum Katkılı Beslenmenin Oksidan Hasarı Önleyici Ve Glukoz Homeostazını Düzenleyici Etkisi
131. Foster LH, Sumar S. Selenium in health and disease: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997; 37(3): 211-228.
132. Baçaraner, H. Streptozotosin İle Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanların Çeğitli Doku Antioksidan Sistemlerine Vitamin E, Vitamin C ve Selenyumun Etkileri (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üni. Sağı. Bil. Ens.; 1999 (pp 1; 22-25).
133. Beckett GJ, Arthur JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol* 2005; 184(3): 455-465.
134. Cinel Ğ. Deneysel Diyabetin Yol Açtığı Vasküler Değışimler Üzerinde Selenium Tedavisinin Etkisi (Doktora Tezi). Ankara Üni. Sağı. Bil. Ens.; 1999 (pp 3-5; 10-12).
135. Gonca S, Ceylan S, Yardimoglu M, Dalcik H, Yumbul Z, Kokturk S, Filiz S. Protective Effect of Vitamin E and Selenium on the Renal Morphology in Rats Fed High-Cholesterol Diets. *Pathobiology* 2000; 68: 258-263.
136. Oldfield JE. The two faces of selenium. *J Nutr* 1987; 117(12): 2002-2008.
137. Abay N, F. Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Farelerde Selenyum ve Taurinin Pankreas Üzerine Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskop Düzeyde İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi: 2008
138. Şimşek N, Alabay B. 'Meyallotiyoninlerin Histofizyolojik Önemi' Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. '007, 2 (2) 75-81.
139. Çolakoğılu N, Kükner A, Ozan E, Kara H, Koyutürk L, Kuloğılu T. Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum Klorür'ün Oluşturduğu Yapısal Değışiklikler ve Bu Değışiklikler Üzerine Metallothionein'in Etkileri: Elektron Mikroskopik Çalışma. F.Ü. Sağı. Bil. Tıp Derg. 2011;25(1): 05-09.



140. Olszowski T, Barana-Bosiacka I, Gutowska I, Chlubek D. Pro-inflammatory properties of cadmium. *Acta ABP Biochimica Polonica* Vol. 59, No 4/2012 475-482.
141. Boğa A. Ağır Metallerin Özellikleri ve Etki Yolları. 16:218, 2007
142. Siu R, Erica, Mruk D, Dolores, Porto S, Catarina, Cheng C, Yan. Cadmium-induced testicular injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 238 (2009): 240-249.
143. Tran D, Moody A.J, Fisher A.S., Foulkes M.E., and Jhs, A.N.,. Protective Effects of Selenium on Mercury-Induced DNA Damage in Mussel Haemocytes. *Aquatic Toxicology*, 2007; 84: 11-18.
144. Ekinçioğlu Z, Demir G, Güneş Dağ D, Pekmez H, Acer N, Özercan M. Reşat. Sigara Dumanının Uterusa Etkileri: Histopatolojik Bir Çalışma. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 17 (2) 69-76, 2008.
145. Jia Y, Lin J, Mi y, Zhang C. Quercetin attenuates cadmium-induced oxidative damage and apoptosis in granulosa cells from chicken ovarian follicles. *Reproductive Toxicology*, 31 477-485, 2011.
146. Massanyi P, Lukac N, Uhrin V, Toman R, Pivko J, Rafay J, Forgacs ZS, Somosy Z. Female Reproductive Toxicology of Cadmium. *Acta Biologica Hungarica* 58 (3), pp. 287-299, 2007.31
147. Thompson J, Bannigan J. Cadmium: Toxic effects on the reproductive system and embryo. *Reproductive Toxicology* 25, 304-315 2008.
148. Refaiy A, Muhammad E, ElGanainy E. Semiquantitative Smoothelin Expression in Detection of Muscle Invasion in Transurethral Resection and Cystectomy Specimen in Cases of Urinary Bladder Carcinoma. *African Journal of Urology*, Vol. 17, No. 1, 6-10, 2011

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



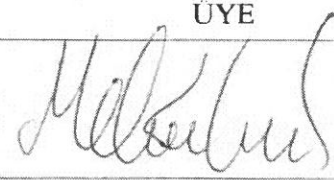

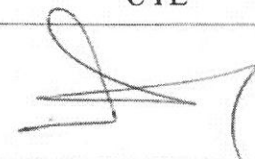


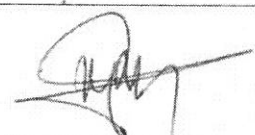
| TOPLANTI TARİHİ | TOPLANTI SAYISI | KARAR SAYISI |
|-----------------|-----------------|--------------|
| 04.12.2014      | 29              | 01           |

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 04 ARALIK 2014 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji – Embriyoloji A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM'ın yürütücüsü olduğu Doç. Dr. Nilüfer CALAPOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ, Arş. Gör. İbrahim Aydın CANDAN'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Kadmiyum (Cd) Verilen Dişi Sıçanlar'da Üreme Sistemi Üzerine Melatonin ve Selenyumun (Se) Etkisi" başlıklı çalışma;

| Deney Hayvanının | Türü                   | Cinsiyeti | Sayısı | Yaşı                  |
|------------------|------------------------|-----------|--------|-----------------------|
|                  | Wistar Albino (Mature) | Dişi      | 64     | 3-8 aylık / 180 - 220 |

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

|   |   |   |
|---|---|---|
| Doç. Dr. Efkan UZ<br>BAŞKAN   | Prof. Dr. Münire ÇAKIR<br>BAŞKAN YARDIMCISI   | Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ<br>ÜYE  |
|  |  |  |
| Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR<br>ÜYE  | Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER<br>ÜYE   | Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY<br>ÜYE  |
|  |  |  |
| Oğr. Gör. İbrahim ONARAN<br>ÜYE   | Vet. Hekim İsmail UZ<br>ÜYE   | Ecz. Mustafa Serhan DERYAL<br>ÜYE   |
|  |  | KATILMADI   |

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                   |                     |                     |   |
|-------------------|---------------------|---------------------|---|
| <b>Adı</b>        | İbrahim Aydın       | <b>Soyadı</b>       | CANDAN  |
| <b>Doğum Yeri</b> | Isparta             | <b>Doğum Tarihi</b> | 01.01.1982  |
| <b>Uyruğu</b>     | T.C.                | <b>Tel:</b>         | 0555 556 43 68  |
| <b>Email:</b>     | iacbs32@outlook.com | <b>Adres</b>        | Çünür Mah. 249.<br>Cad. İtina Sitesi B<br>Blok Kat:4<br>Daire:10<br>ISPARTA |

### Eğitim Düzeyi

|                      | <b>Mezun Olduğu Kurum</b>               | <b>Mezuniyet Yılı</b> |
|----------------------|---|-----------------------|
| <b>Doktora</b>       | SDÜ- Histoloji-Embriyoloji              | 2016                  |
| <b>Yüksek Lisans</b> | SDÜ- Histoloji-Embriyoloji              | 2009                  |
| <b>Lisans</b>        | SDÜ- Fen-Edebiyat<br>Fakültesi/Biyoloji | 2004                  |
| <b>Lise</b>          | Isparta Gazi Lisesi                     | 2000                  |

### İş Deneyimi

| <b>Görevi</b>       | <b>Kurum</b>               | <b>Süre (Yıl-Yıl)</b> |
|---------------------|----------------------------|-----------------------|
| Araştırma Görevlisi | SDÜ- Histoloji-Embriyoloji | 2006-2016             |

| <b>Yabancı Dil</b> | <b>ÜDS Puanı</b> | <b>Diğer Puanı</b> |
|--------------------|------------------|--------------------|
| İngilizce          | 70               | Yok                |

## **YAYINLAR**

**Hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale;**

1-Asci H, Ozer MK, Calapoglu M, Savran M, Oncu M, Yesilot S, Candan IA, Kulac E, Cicek E. Effects of Misoprostol on Methotrexate-Induced Hepatic and Renal Damages. J Bio Life Sci 2011 2(1):32-37

**SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale;**

1-Saygin M, Asci H, Cankara FN, Bayram D, Yesilot S, Candan IA, Alp HH. The impact of high fructose on cardiovascular system; role of alpha lipoic acid. Human & Experimental Toxicology. 2015

2- Armagan I, Bayram D, Candan IA, Yigit A, Celik E, Armagan HH, Uğuz AC. "Effects of pentoxifylline and alpha lipoic acid on methotrexate-induced damage in liver and kidney of rats." Environ Toxicol Pharmacol. 2015 May;39(3):1122-31

3- Asci H, Saygin M, Cankara FN, Bayram D, Yesilot S, Candan IA, Ilhan I. The impact of alpha-lipoic acid on amikacin-induced nephrotoxicity. Ren Fail. 2015 Feb;37(1):117-21. doi: 10.3109/0886022X.2014.967645. Epub 2014 Oct 8

4- Albay S, Sakalli B, Kastamoni Y, Candan IA, Kocabiyik N. Formation of the sural nerve in foetal cadavers. Folia Morphol (Warsz). 2012 Nov;71(4):221-7

5- Ozer MK, Asci H, Oncu M, Calapoglu M, Savran M, Yesilot S, Candan IA, Cicek E. Effects of misoprostol on cisplatin-induced renal damage in rats. Food Chem Toxicol. 2011 Mar 31

**SCI, SSCI ve AHCI dışındaki indeks ve özler tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayın;**

1- Cetin SE, Bayram D, Kara M, Ozgocmen M, Candan IA, Conformation of apoptotic effect of the Viscum Album L. extract on human breast cancer MCF-7 cells with Tunel assay, 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, 9-12 September 2014, Isparta/ Turkey.p:155

2- Cetin SE, Bayram D, Kara M, Candan İA, Ozgocmen M, The Viscum Album L. Extracts induce Apoptosis of human breast cancer MDA- MB-231 Cells, 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, 9-12 September 2014, Isparta/ Turkey.p:129

3- Cetin SE, Bayram D, Kara M, Candan IA, To examine the effects of the tymoquinone on human breast cancer MDA-MB-231 Cells, 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, 9-12 September 2014, Isparta/ Turkey.p:153

4- Bayram D, Cetin SE, Kara M, Ozgocmen M, Candan IA, To examine the effects of the silibinin on human breast cancer MDA- MB-231 Cells, 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels. 9-12 September 2014, Isparta/ Turkey.p:154

5- Armağan İ, Bayram D, Candan İA, Yiğit A, Çelik E, Armağan HH. "Effect of pentoxifyline on rat liver and kidney oxidative damage induced by methotrexate" 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels 9-12 September 2014, Isparta

6- Saygın M, Aşçı H, Cankara FN, Yeşilot Ş, Candan İA, Bayram D, Alp HH. "The impact of high fructose on cardiovascular system; role of alpha lipoic acid" 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels 9-12 September 2014, Isparta

7- Aşçı M, Saygın M, Cankara FN, Bayram D, Yeşilot Ş, Candan İA, İlhan İ. "The impact of alpha-lipoic acid on amikacin induced nephrotoxicity" 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels 9-12 September 2014, Isparta

8- Buldac M, Cicek E, Kumbul Doguc D, Asci H, Yesilot S, Candan IA, Dagdeviren B, Cankara N, Oncu M, Ozer MK. Investigation of the protective effect of vitamin c on methotrexate induced liver injury in rats. Cell Membranes and Free Radical Research. 2012;4(1):33

#### **Ulusal toplantıda sunulacak özet metin olarak yayımlanan bildiri;**

1- Armagan I, Bayram D, Candan IA, Armagan HH, Ozgocmen M, Metotreksat ile oluşturulan testis hasarı üzerine pentoksifilinin etkisinin incelenmesi, 12. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 27-30 Mayıs 2014, Ankara, p: 096

2- Bayram D, Cetin SE, Kara M, Ozgocmen M, Candan IA, , MCF-7 İnsan meme kanseri hücre hattı üzerine Silibinin etkisinin in vitro ortamda incelenmesi, 12. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 27-30 Mayıs 2014, Ankara, p: 074

3- Darici H. Candan İA. Özgöçmen M. Oncu M. “Erken Embriyonal Dönem Gelişim Aşamaları ve Etkili Sinyal Yolakları” 11th National Histology and Embryology Congress May 2012. Published as abstract in Cell and Tissue Biology Research Volume 3Supplement. p 115. 2012

4- Candan İ.A. Oncu M. Özgöçmen M. Darici H.“Effects of Non-Steroid Antiinflammatory Drugs on Adhesion Molecules of Smooth Muscle Cells (Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçların Çizgili Kas Dokusundaki Adhezyon molekülleri Üzerine Etkisi)” 11th National Histology and Embryology Congress May 2012. Published as abstract in Cell and Tissue Biology Research Volume 3Supplement. p 115. 2012

#### **Ulusal toplantıda poster, sözlü sunum ve gösterim;**

1- İlkey Armağan, Dilek Bayram, İbrahim Aydın Candan, Ayşe Yiğit, Erdal Çelik, Hamit Hakan Armağan "Alfa Lipoik Asitin Metotreksat Aracılı Karaciğer ve Böbrek Hasarları Üzerine Etkilerinin Araştırılması" XII. National Histology And Embryology Congress 27-30 May 2014, Ankara University / Ankara -Türkiye

2- D. Bayram, A.Gökçimen, M. Öncü, İ.A. Candan, M. Özgöçmen "Slybum marianum bitkisinin in vitro ortamda karaciğer kanseri hücre hatları üzerine etkisi" 21. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi (Uluslararası Katılımlı). Mersin; 28-31 Mayıs 2013.

3- İ. Aydın CANDAN, Meltem ÖZGÖÇMEN , Ayça AKSOY ,Orhan ÖZATİK , Meral ÖNCÜ , Erdal KARAÖZ , “Valproik Asitin Rat Mezenkimal Kök Hücrelerde Hücre Morfolojisi ve MMP-9 Ekspresyonu Üzerine Etkisi” ,28 Eylül- 2 Ekim 2011, KOCAELİ

4- Fedakar Ö, Karatopuk DU, Candan İA, Tola HT “Effect Of l-Carnitine on the damage of rats treated with doxorubicin” 9th National Histology and Embryology p:62 20 to 23 May 2008, Adana, Türkiye

5- Karatopuk DU, Candan İA, Tola HT, Gökçimen A, Ayata A “The effect of doxorubicin and N-Acetyl cysteine on the small intestine tissue” 9th National Histology and Embryology p:51 20 to 23 May 2008, Adana, Türkiye

#### **Uluslararası toplantıda sunularak özet metin olarak yayımlanan bildiri;**

1- Armagan I,Bayram D, Candan I.A, Armagan H.H, Ozgocmen M, Effect of Alpha Lipoic Acid on Methotrexate- Induced Testicular Damage,2. International medical student congress, Isparta, 9-11 may 2014,pp:5

2- M. Ozgocmen<sup>1</sup>, A. Gokcimen<sup>2</sup>, H. Darici<sup>1</sup>, I.A. Candan<sup>1</sup>, M. ONCU<sup>1</sup>, “Effect of High Fructose Diet on Visfatin and IL-6 Levels in Liver and Fat Tissues”, 4th International Congress on Cell membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signalling and TRP Channels. 26-29 June 2012. Published as abstract in Cell Membranes and Free Radical Research Volume 4, No:1, p 66-67. 2012

### **Uluslararası toplantıda poster, sözlü sunum ile gösterimleri;**

1- Esin SAKALLI ÇETİN, Dilek BAYRAM, İbrahim Aydın CANDAN. The Apoptotic Effects Of The Mistletoe Extracts Helixor A, Helixor P and Helixor M on Human Breast Cancer Cell Line. The International Symposium On Cancer Nanomedicine. 7-9 November 2013, İzmir/TURKEY. - 2013

2- Bayram D, Karatopuk D, Kocak A, Candan A, Gokcimen A, Ozgocmen M, "Determination of Lethal Dose of Tenoxicam: A Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug" 2nd International Liver Symposium p.44 20-22 May 2009, ISPARTA

3- Bayram D, Candan A, Karatopuk D, Gokcimen A, Kocak A, Fedakar O, Birden B, "Effect of Silybium marianum Plant Extract on Liver Damage Induced by Different Doses of Acetaminophen". 2nd International Liver Symposium, p:44 20-22 May 2009, ISPARTA

4- Fedakar Ö, Candan A, Gokçimen A, Kocak A “Comparison of the Effects of Milk Thistle and Silybin in an Experimental Rat Liver Cirrhosis Model” 2nd International Liver Symposium p.43 20-22 May 2009, ISPARTA

5- Altinisik U, Kirdemir P, Altinisik H, Candan A, Gokcimen A “Effect of Levobupivacaine on Rat Liver Tissue” 2nd International Liver Symposium p.42 20-22 May 2009, ISPARTA

6- Yesilot S, Ozer M, Candan A, Asci H, Oncu M, Calapoğlu M, Savran M, Cicek E “Can Artichoke (Cynarin) Prevent Methotrexate-Induced Liver Damage Rat” 2nd International Liver Symposium p.37 20-22 May 2009, ISPARTA

7- Ozer M, Asci H, Calapoğlu M, Oncu M, Savran M, Yesilot S, Candan A, Kulac E, Cicek E “The Effect of Misoprostol on methotrexate-Induced Liver Injury in Rats” 2nd International Liver Symposium p.32 20-22 May 2009, ISPARTA

### **Yüksek Lisans Tezi**

"NONSTERÖİD ANTİİNFLAMATUVAR İLAÇLARIN ÇİZGİLİ KAS DOKUSUNDAKİ ADEZYON MOLEKÜLLERİ ÜZERİNE ETKİSİ"