

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**DENEYSEL DİYABETTE *Nigella sativa* L. (ÇÖREK OTU) YAĞININ
OVARYUM MORFOLOJİSİ VE OKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
ETKİLERİ**

HATİCE NUR ŞEFLEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. S. SERPİL KALKAN

KONYA-2015

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**DENEYSEL DİYABETTE *Nigella sativa* L. (ÇÖREK OTU) YAĞININ
OVARYUM MORFOLOJİSİ VE OKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
ETKİLERİ**

HATİCE NUR ŞEFLEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. S. SERPİL KALKAN

Bu proje Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 141318002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2015


TEZ ONAY SAYFASI

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Hatice Nur Şeflek**'ın “**Deneyssel diyabette *Nigella sativa* L. (çörrek otu) yağının ovaryum morfolojisi ve oksidan sistem üzerine etkileri**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Histoloji Ve Embriyoloji A.B.D.

16/01/2015


Tez Danışmanı
Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

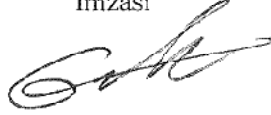
Histoloji ve Embriyoloji A.B.D.

İmzası

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Gökhan CÜCE
Histoloji Embriyoloji A.B.D

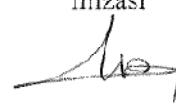
İmzası



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. H. Hasan ESEN
Patoloji A.B.D

İmzası

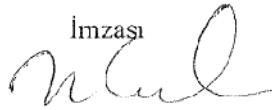


Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 16.01.2015... tarih ve 08/02 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası



APPROVAL

APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "*The effects of Nigella sativa L. oil on ovarium morphology and oxidant system in experimental diabetes*" by "*Hatice Nur Şeflek*" that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of *Master of Science* in the Department of "Department of Histology Embryology", Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

16/01/2015

Principal Advisor

Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

Department of Histology Embryology

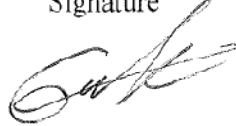
Signature

Examination Committee Member

Yrd.Doç.Dr. Gökhan CÜCE

Department of Histology Embryology

Signature



Examination Committee Member

Yrd.Doç.Dr. H.Hasan ESEN

Department of Pathology

Signature



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

Date and Signature

BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihmal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

16. 01. 2015

Hatice Nur ŞEFLEK

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim boyunca hayatıma çok büyük katkıları olan, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. S. Serpil Kalkan'a,

Tezimin planlanması ve sürdürülmesinde deneyim ve bilgilerinden yararlandığım, benden her türlü ilgisini, yardımını esirgemeyen, sabır ve titizlikle yanımda olan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Gökhan Cüce'ye,

Yüksek lisans eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Hasan Cüce'ye, öğretim üyesi hocalarım, Prof. Dr. Aydan Canbilen, Prof. Dr. Selçuk Duman, Prof. Dr. T. Murad Aktan ve Öğr. Gör. Burcu Gültekin'e

Biyokimya çalışmalarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. İbrahim Kılınc'a,

Çalışmanın başından sonuna kadar, her aşamada yanımda olan sevgili dostlarım Araş. Gör. Dr. Enes Sözen, Araş. Gör. Dr. Tuba Canbaz, Araş. Gör. Dr. Gülsemin Çiçek, Biyolog Seda Çetinkaya, Biyolog Tuba Koç ve Biyolog Nurettin Atasoy'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme,

Çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i>	i
<i>Tez Onay Sayfası</i>	ii
<i>Approval</i>	iii
<i>Tez Beyan Sayfası</i>	iv
<i>Önsöz</i>	v
<i>İçindekiler</i>	vi
<i>Simgeler ve Kısaltmalar Listesi</i>	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Dişi Üreme (Genital) Sistemi</i>	3
2.2. <i>Dış Genital Organlar</i>	3
2.3. <i>İç Genital Organlar</i>	4
2.3.1. <i>Vajina</i>	4
2.3.2. <i>Uterus</i>	5
2.3.4. <i>Fallop Tüpleri</i>	8
2.3.5. <i>Ovaryumlar</i>	9
2.3.5.1. <i>Ovaryum Embriyolojisi</i>	9
2.3.5.1.1. <i>Oogenezis</i>	11
2.3.5.1.2. <i>Ovaryum Histolojisi</i>	12
2.3.5.2.1. <i>Ovaryum Folikülleri</i>	14
2.3.5.2.1.1. <i>Primordial Folikül</i>	15
2.3.5.2.1.2. <i>Primer Folikül</i>	15
2.3.5.2.1.3. <i>Sekonder (Veziküler) Folikül</i>	17
2.3.5.2.1.4. <i>Tersiyer (Graaf) Folikül</i>	17
2.3.5.2.1.5. <i>Atretik Folikül</i>	18
2.3.5.2.2. <i>Ovulasyon</i>	18
2.3.5.2.2.1. <i>Korpus Luteum</i>	19
2.3.5.3. <i>Ovaryum Anatomisi</i>	19
2.3.5.3.1. <i>Ovaryum'un Damarları</i>	20
2.3.5.3.2. <i>Ovaryum'un Sinirleri</i>	21
2.3.5.4. <i>Ovaryum Fizyolojisi</i>	21
2.3.5.4.1. <i>Ovaryum Hormonlarının Fonksiyonları</i>	22
2.4. <i>Diabetes Mellitus</i>	24

2.4.1. Diyabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırması.....	26
2.4.2. Tip 1 Diabetes Mellitus (IDDM)	27
2.4.3. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM)	29
2.4.4. Diğer Spesifik Tipler	29
2.4.5. Gestasyonel Diyabet.....	29
2.4.6. Diyabet Ve Gebelik.....	30
2.4.7. Deneysel Diyabet.....	30
2.5. <i>Nigella sativa</i> L. (Çörek Otu)	31
2.5.1. <i>Nigella sativa</i> L. 'nin Kimyasal Özellikleri	33
2.5.2. <i>Nigella sativa</i> L. 'nin Etki Mekanizması	33
2.5.2.1. Antidiyabetik Etkisi.....	33
2.5.2.2. Antioksidan Etkisi.....	34
2.6. Oksidan-Antioksidan Sistem.....	34
2.6.1. Serbest Radikaller	34
2.6.2. Vücutun Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	35
2.6.3. Oksidatif Stres	36
2.7. Apoptozis	36
2.7.1. Apoptozis Ve Nekroz Arasındaki Farklar.....	38
2.7.2. Apoptozis Morfolojisi	39
2.7.2.1. Apoptozis Mekanizması	40
2.7.3. Ovaryumda Apoptozis	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1. Biyokimyasal Çalışma	44
3.2. İmmünohistokimyasal Çalışma	45
3.2.1. İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi	46
3.3. Stereolojik Çalışma	47
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	58
6. ÖZET.....	61
7. SUMMARY.....	62
8. KAYNAKLAR.....	63
9. EKLER.....	75
10. ÖZGEÇMİŞ.....	76

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA: Amerikan Diyabet Cemiyeti

CAT: Katalaz

CL: Corpus Luteum

CSF: Koloni Uyarıcı Faktör

ÇO: Çörek Otu

DM: Diabetes Mellitus

DNA: Deoksiribonükleik asit

FSH: Folikül Stimulan Hormon

GnRH: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon

GPx: Glutasyon Peroksidaz

GST: Glutasyon-S-Transferaz

HCG: Human Koryonik Gonadotropin

HE: Hematoksilen-Eozin

IAP: Inhibitors of Apoptosis Protein

IDDM: Tip 1 Diabetes Mellitus

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktör

IL-2: İnterlökin-2

LH: Luteinleştirici Hormon

MDA: Malondialdehit

NF-κB: Nuclear Factor Kappa-B

NGF: Nöron Büyüme Faktörü

NIDDM: Tip 2 Diabetes Mellitus

NO: *Nigella sativa* L. oil

NS: *Nigella sativa* L.

OMI: Oosit Maturasyon İnhibitörü

PBS: Phosphate Buffered Saline

PGH: Primordial Germ Hücre

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SOD: Süperoksid dismutaz

SRY: Sex-Determining Region Y

STZ: Streptozotosin

TAS: Total Antioxidant Status

TBF: Testis Belirleyici Faktör

TGF-B: Transforming Growth Factor

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

TOS: Total Oxidant Status

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

XIAP: X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein

µm: Mikrometre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus günümüzde hala giderek artan bir şekilde sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Hastalığın insidansı ve prevalansı hızlı bir şekilde artmakta ve insan sağlığını tehdit etmektedir. Bu tehdit diabetin çok çeşitli ciddi komplikasyonlarının ortaya çıkması ile karakterizedir (Cuce ve ark. 2011).

Hiperglisemi glukozun oto-oksidasyonuna, protein glikasyonuna ve poliol metabolizmasının aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu değişiklikler, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini hızlandırmakta ve çeşitli dokularda lipid, DNA ve proteinlerin oksidatif kimyasal modifikasyonunu sağlamaktadır (Osawa ve Kato 2005). Diabette dokularda ortaya çıkan oksidatif stres ve oksidatif hasarın diabetin komplikasyonlarının oluşmasında etkili bir rolü olduğu belirtilmektedir (Baynes ve Thorpe 1999). Kronik hiperglisemi bu yolla vücuttaki her bir sistemi etkileyebilmektedir (Amaral ve ark. 2008), bu sistemlerden birisi dişi üreme sistemidir. Oksidatif stres kadınların yaşam ve tüm üreme süresini etkilemektedir. ROS'un oositlere hasar verebileceği (Agarwal ve ark. 2005), hipergliseminin tetiklediği hiperkolesteroleminin (Young ve ark. 1988) steroid metabolizmasında değişikliklere yol açabileceği belirtilmektedir (McLean ve ark. 1996). Oksidatif stresin in vitro olarak östrojenin α ve β reseptörlerinin modülasyonunu etkilediği bildirilmiştir (Agarwal ve ark. 2005). Deneysel bir çalışmada diabetik sıçanlarda, kan şekeri, over hacmi, atretik foliküller yüzdesinde artış, hiperemi ve germinal epitelde kalınlaşma olduğunu rapor etmişler (Farhad ve ark. 2013), diabetli hayvanların granuloza hücrelerinde apoptozisin arttığını belirtmişlerdir (Chang ve ark. 2005). Diabetik hastalarda, oksidatif stres artışının hücrel antioksidan savunma düşüşü ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Rochette ve ark. 2014). Antioksidan takviyesi ile diabetli hastalarda oksidatif strese bağımlı hücrel değişikliklerin azaldığını belirten çalışmalar yapılmıştır (Abdelmeguid ve ark. 2010; Alimohammadi ve ark. 2013).

Nigella sativa L. 'nin anti-tümör ve anti-kanser (Salomi ve ark. 1989; Salomi ve ark. 1992), anti fungal (Islam ve ark. 1989), anti microbial (Hanafy ve Hatem 1991) ve anti diabetik (Abdelmeguid ve ark. 2010; Sultan ve ark. 2014) etkilerinden bahseden çalışmalar mevcuttur. *Nigella sativa* L. tohumlarının biyolojik aktivitesinin, esansiyel yağının ana komponenti olan thymoquinone sayesinde gerçekleştiği belirtilmiştir (Ali ve Blunden 2003).

Apoptoz preoteinlerinin inhibitörü olan IAP (Apoptozis Protein İnhibitörleri)'ler, hücre içi protein ailesinin bir üyesidir (Li ve ark. 1998). Apoptoz inhibitörü (IAP) gen ürünleri böceklerle insanlar arasında çeşitli türlerde, programlanmış hücre ölümü düzenlenmesinde rolü bulunmaktadır (Deveraux ve ark. 1998). IAP ailesine üye olan anti apoptotik genlerden olan XIAP (X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein) sağlıklı ovaryumlarda stromal dokuda, ovaryum yüzey epiteli, granuloza hücreleri, oositler, luteal hücreler ve teka hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinde belirlenmiştir. Ratlarda XIAP, granuloza hücrelerinde, teka hücrelerinde ve oositlerde preantral foliküllerin gelişiminden itibaren foliküllerde rastlanmıştır (Phillipps ve Hurst 2012).

Bir transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör kappa B'nin (NF- κ B), Ranjan Sen ve David Baltimore tarafından 1986'da B lenfositlerin nükleuslarında immünglobulin kappa hafif zinciri geninde enhancer bölgesine bağlanan bir faktör olarak tanımlanmıştır (Sen ve Baltimore 1986). NF- κ B, tüm hücrelerde sitoplazmada sessiz halde bulunup nükleusa sadece aktive olduğunda geçmekte ve burada immün sistem, büyüme ve inflamasyonu denetleyen 200'ün üzerinde geni düzenlemektedir (Shishodia ve Aggarwal 2004). NF- κ B (Nuclear Factor kappa-B), Rel ailesine ait bir dimerik protein ailesidir. NF- κ B immün ve inflamatuvar erken yanıtta rol oynayan genlerin hızlı ekspresyonunu uyarmaktadır. NF- κ B duyarlı genler pro-enflamatuvar sitokinler, koloni stimulating factor, uyarılabilir enzimler, kemokinler, adhesion molekülleri ve reseptör genlerini içerir (Barnes 1997). NF- κ B'nin mitokondriyal Bax ilişkili apoptozis ve terminal deoksinukleotidil transferaz (TdT) ilişkili apoptoziste rolü olduğu bildirilmiştir (Pavlova ve ark. 2011). XIAP sentezinin NF- κ B yoluyla arttığını ve folikülleri atreziden koruduğu belirtilmiştir (Zık ve ark. 2010).

Diabetli ovaryumlarda XIAP ve NF- κ B ekspresyonu ve ovaryum hacmi ile ilgili zayıf literatürden yola çıkarak, çalışmamızda diabetli ovaryumlarda çörek otu yağının etkisinin bu parametrelere olan etkisinin araştırılması amaçlandı. Ayrıca serum antioksidan-oksidan değerler de karşılaştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dişi Üreme (Genital) Sistemi

Dişi üreme sistemi, erkek üreme sistemine nazaran oldukça komplekstir. Sistem; dişi üreme hücresi olan yumurta üretimi, dölleme, döllemeden sonra zigotun beslenmesi, taşınması ve gelişen embriyoyu koruma görevini yerine getirir. Ayrıca meme bezlerinin salgısı ile doğum sonrasında yavrunun beslenmesini sağlar. Bütün bunların yanı sıra anne şefkati ile yeni doğanın ruhsal gelişimine yardımcı olur (Aktümsek 2001).

Sistem, menarş ile menapoz arasında, yapı ve fonksiyon aktivitesi bakımından döngüsel değişikliklere uğrar. Bu değişiklikler nörohümorale mekanizmalar ile kontrol edilir. Menarş, dışide ilk kanamanın (adet) görüldüğü zamana denir. Menapoz, döngüsel değişikliklerin düzensizleştiği ve sonunda tümüyle ortadan kalktığı bir süreçtir. Menapozdan sonraki zaman içinde, üreme sisteminde yavaş bir gerileme görülür (Junqueira ve ark. 1992).

Dişi üreme sistemi, iç ve dış genital organlardan oluşur. İç genital organlar: Ovaryumlar, fallop tüpleri, uterus, vajinadır. Dış genital organlar: Mons pubis, labia majör, labia minör, klitoris, vestibülden oluşur (Eşrefoğlu 2004). Meme bezleri ve plasenta genital organ olmamakla birlikte fonksiyonel olarak genital sistemle ilişkilidir (Ovalle ve Nahırney 2009).

2.2. Dış Genital Organlar

Mons pubis: Keratinize çok katlı yassı epitelli deri ile döşelidir, kıl folikülleri bulunan deri altındaki subkutan yağla birlikte symphysis pubicayı örter (Kierszenbaum 2006).

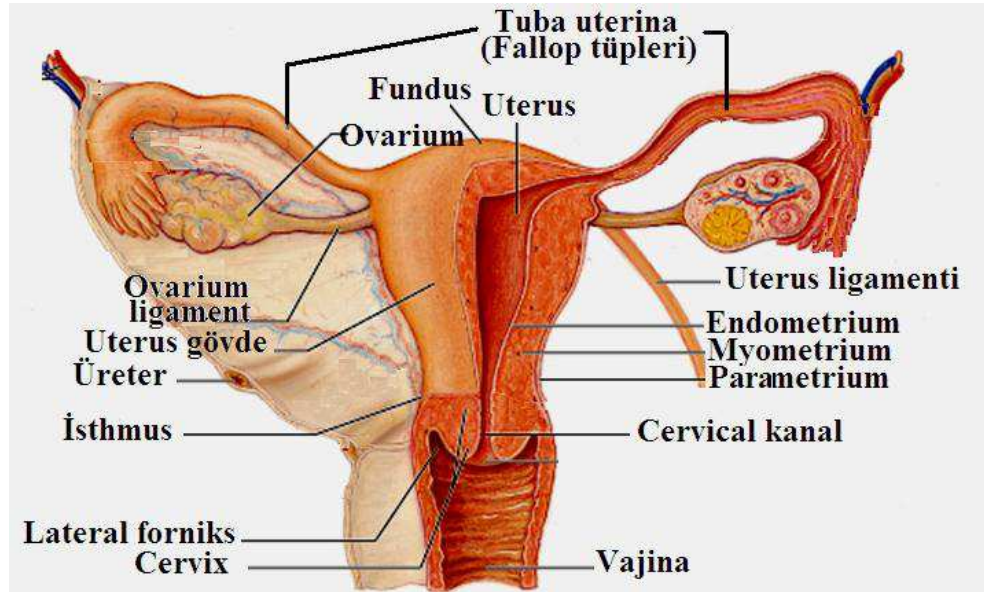
Labia majör: Erkeklerdeki skrotumun homologudur, yoğun pigmentli bir epitelyum ile örtülü, kıl folikülleri, yağ ve ter bezlerinin de bulunduğu deri katlantıdır.

Labia minör: Derin tabakalarında pigment bulunan çok katlı yassı epitel ve altında uzanan vasküler gevşek bağ dokudan oluşan deri kıvrımlarıdır. Yüzeysel epitelyum hücrelerinde yoğun keratinizasyon vardır. Yağ bezleri yüzeye açılır ve kıl folikülleri yoktur.

Klitoris: Penise embriyonik köken ve histolojik yapı bakımından benzerdir. Klitoris, yaklaşık 2 cm'dir, uçları rudimenter glans klitoris ile sonlanan iki erektil doku uzantısından oluşur. Klitorisin erektil dokusu, cinsel uyarımla birlikte genişleyen ince duvarlı venöz kanallardan yapılmış pleksustan oluşur. Pleksusu oluşturan kanalların çevresinde gevşek bağ dokusu ve izole düz kas hücreleri bulunur. Bağ doku içerisinde çok sayıda sinir fasikulusları vardır ve klitorisi dıştan kuşatan müköz membran yapısında da çok miktarda duyuşal sinir sonlanmaları bulunur (Ovalle ve Nahirney 2009).

Vestibulum: Vajina ile üretranın açıldığı bölüm olan vestibulumun her iki yanında birer adet majör vestibüler bezler (Bartholin bezleri) bulunur. Vestibüler bezler erkekteki bulboüretral bezlerle benzerdir. Daha fazla sayıda olan minör vestibüler bezler dağınık olarak bulunur ve üretra ve klitoris çevresinde daha sıktır. Tüm vestibüler bezler mukus salgılar (Junqueira ve ark. 1992).

2.3. İç Genital Organlar



Şekil 2.1. Kadın iç üreme organları (<http://megep.meb.gov.tr> 2014).

2.3.1. Vajina

Vajina, uterusun serviks bölümünü vücut dışına bağlayan, genişleyebilme özelliğine sahip fibromüsküler bir kanaldır. Kadın kopulasyon organı olarak fonksiyon yapar ve gebeliğin bitiminde doğum kanalı olarak fonksiyon görür (Ovalle ve Nahirney 2009).

Vajina duvarı üç tabakadan oluşur. Bunlar; tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika adventisya'dır (Junqueira ve ark. 1992). Tunika mukoza, 150-200 µm kalınlıktaki çok katlı non-keratinize yassı epitelden ve bunun altında uzanan lamina propriya'dan oluşur (Ovalle ve Nahirney 2009). Vajina da bez bulunmaz ve mukoza yüzeyi; uterus ve endoservikal bezlerin mukus salgısı ile vestibüldeki Bartholin bezleri' nin salgısı ile nemli tutulur (Kierszenbaum 2006). Kasılı olmayan relaks durumundaki vajinada "rugae" adı verilen transvers mukozal kıvrımlar belirgin haldedir. Normal koşullarda yüzey epitelyum hücreleri çekirdeklidir ve sitoplazmaları depo edilen glikojen miktarındaki değişikliklere bağlı olarak farklı görünümde olabilir. Ovulasyona yakın östrojen uyarımıyla, hücrelerde glikojen içeriğinde artış olur. Hücreler döküldüğünde içerdikleri glikojen vajinal lümene boşalır. Hücreden zengin olan lamina propriada, seksüel stimülasyonlara bağlı olarak kanla dolan yaygın bir venöz pleksus bulunur. Tunika muskularis, sınırları tam belli olmayan iki düz kas tabakasından oluşur ve myometriyum ile devamlılık gösterir. İç tabakası sirküler seyirlidir, dış tabaka genellikle daha kalındır ve longitudinal seyirli kaslardan yapılmıştır. Vajinal girişi iskelet kası yapısında bir sfinkter çevreler. En dışta bulunan tunika adventisya ise damar ve sinirden zengin, elastik liflerin çok olduğu düzensiz kompakt bağ dokudur (Ovalle ve Nahirney 2009).

2.3.2. Uterus

Uterus, pelviste mesanenin arkasında, rektumun önünde, vaginanın üstünde yer alan 7-9 cm boyunda, 3-4 cm genişliğinde, armut şekilli bir organdır (Junqueira ve ark. 1992; Başaran 1999). Uterus, döllenmiş ovumu barındıran, koruyan, beslenmesini sağlayan, gelişim sırasında embriyonun ve fetüsün gereksinimlerini karşılayan ve kas kasılmalarıyla doğumu gerçekleştiren organdır. (Bağırzade 2012).

Uterus; korpus, fundus ve serviks olmak üzere üç bölgeden oluşur. Organın üst genişlemiş kısmı, korpus bölümüdür. Tepedeki kubbe biçimli bölümü fundus olarak adlandırılır ve bu bölümün duvarından fallop tüpleri organ içine girer. Organın en dar ve en alt bölümü olan serviks, vajinaya açılır. Korpus ve fundus histolojik olarak hemen hemen aynıdır, ancak serviks bazı önemli yapısal farklılıklar gösterir (Ovalle ve Nahirney 2009).

Gebe olmayan bir kadının uterus duvarı yaklaşık 2,5 cm kalınlıkta ve dıştan içe doğru üç tabakadan oluşur; perimetrium, myometrium ve endometrium (Ovalle ve Nahirney 2009).

Perimetrium (Tunika seroza): Uterusun en dış tabakası olup gevşek bağ dokusu ve mezotelden meydana gelen adventisya'dır (Öber ve İzzetoğlu 2006).

Myometrium (Tunika muskularis): Bağ dokusu ile ayrılmış düz kas demetlerinden oluşan uterusun en kalın tabakasıdır (Junqueira ve ark. 1992). Bu tabakada düz kas demetleri, sınırları tam ayırt edilemeyen üç tabaka şeklinde düzenlenmiştir. İç ve dış tabakadaki hücreler genellikle longitudinal seyirli, orta tabakadaki hücreler ise oblik ve sirküler seyirlidir (Ovalle ve Nahirney 2009). Gebelik sırasında, myometriyal düz kaslar büyür (hipertrofi) ve lif sayısı artar (hiperplazi). Gebelikte myometriyal kontraksiyonların baskılanması, ovaryum ve plasentadan salgılanan relaksin hormonunun kontrolü altındadır. Doğum sırasındaki myometriyal kasılmalar ise nörohipofizden salgılanan oksitosin hormonu kontrolü altındadır (Kierszenbaum 2006).

Endometrium (Tunika mukoza): Epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propriadan meydana gelir (Junqueira ve ark. 1992; Eşrefoğlu 2004; Ovalle ve Nahirney 2009). Uterusu döşeyen epitel, silyalı hücreler ve sekreatuar hücrelerden oluşan tek katlı prizmatik epiteldir (Eşrefoğlu 2004). Endometrium, işlevsel olarak iki tabakadan oluşur. Daha kalın olan yüzeyel "fonksiyonel tabaka (stratum fonksiyonalis)" menstruasyondan en fazla etkilenen tabakadır, periyodik olarak dökülür ve tekrar rejenerer olur. Daha derindeki "bazal tabaka (stratum bazale)" hormonal değişikliklerden etkilenmez, menstruasyonda dökülmeden kalarak fonksiyonel tabakaya kaynak oluşturur ve rejenerasyonuna yardım eder (Kierszenbaum 2006; Ovalle ve Nahirney 2009). Bu iki tabakanın kanlanması iki yarı kaynaktan olur. Uterus arteri, serozanın hemen altında uterusu çepeçevre saran 6-10 arkuat artere dallanarak kan verir. Arkuat arterlerden ayrılan radyal arterler, myometriumun iç kas tabakasının içine penetre olarak bazal arterler ve spiral arterler olarak bilinen iki ayrı arter grubunu oluşturur. Kısa ve düz olan bazal arterler, bazal tabakayı kanlandırır ve dolaşımın kesintisiz olmasını sağlarlar. Spiral arterler, bazal tabakayı kalınlığına geçerek uterus bezlerine paralel olacak şekilde uzanarak

endometriyal yüzeye ulaşırlar. Spiral arterlerin dışta segmentleri her menstrual siklusta dejenere ve rejenere olur.

Menstrual siklus, kadın yaşamının reprodüktif döneminde gebeliğin gerçekleşmediği durumda her 28 günde bir tekrarlayan biri dizi morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerdir. Endometrium ve ovaryumlar; hipofiz, ovaryum folikülleri ve korpus luteum tarafından yapılan hormonların karşılıklı etkileşimleri sonucu döngüsel değişiklikler geçirir (Ovalle ve Nahirney 2009).

Menstrual siklus; menstrual dönem (1-4. günler arası), proliferatif (foliküler) dönem (4-15. günler arası), sekretuar (progestasyonel luteal) dönem (15-27. günler arası), iskemik (premenstrual) dönem (28. gün), olmak üzere dört evrede incelenir (Eşrefoğlu 2004; Ovalle ve Nahirney 2009).

Menstrual evre: Siklusun başlangıç evresidir (Kierszenbaum 2006). Endometrium fonksiyonel tabakası nekroza olarak dökülür. Kıvrımlı arterler genişler, damarların yüzeye bakan duvarlarında parçalanma sonucunda açığa çıkan kana, nekrotik endometrium dokusu ve bezlerin sekresyonu eklenir. Doku parçalanarak yüzeyden dökülür. Bu şekilde menstruasyonda, nekroza olan endometrium dokusu ile beraber bez epitelinin ve stromanın hücreleri ve arteriyel venöz kan dışarı atılır (Eşrefoğlu 2004).

Proliferatif evre: Menstruasyondan hemen sonra başlayan bu faz, ovulasyondan 1-2 gün sonra biter ve yaklaşık dokuz gün sürer (Kierszenbaum 2006; Ovalle ve Nahirney 2009). Siklusun 1-5. günler arasında maksimal düzeydedir. FSH ovaryumlarda foliküler büyümeyi uyarır. Olgunlaşan ovaryum foliküllerinde üretilen östrojenin uyarıcı etkisiyle endometrium rejenere olur, kalınlığı artar ve ovulasyona kadar ovaryum folikülü matürasyonu gerçekleşir (Ovalle ve Nahirney 2009). Epitelde ve hem de lamina propriyadaki hücrelerde mitoz görülür. Tübüler bezlerin epitel hücreleri yukarıya doğru göç eder, bez giderek daralır ve kıvrımlı bir şekil alır (Kierszenbaum 2006).

Sekretuar evre: Bu evrede, korpus luteum ovulasyondan sonra oluşan LH (luteinize edici hormon) tarafından uyarılır. Korpus luteum tarafından üretilen progesteron uterus bezlerinin gelişimini uyarır, endometriyal bezler glikojenden

zengin, mukoid bir madde salgılamaya başlar ve spiral arterlerin uzamasını stimüle eder (Eşrefoğlu 2004; Ovalle ve Nahirney 2009).

İskemik evre: Menstrual siklusun sonunda, korpus luteumun gerilemesine bağlı olarak kandaki steroid hormonlarının azalması, iskemik evreyi başlatır. Normal kanlanmanın azalması aralıklı iskemiye başlatır ve bunu izleyen hipoksi, endometriumun fonksiyonel tabakasında nekroza neden olur. Nekroza doku, menstrual dönemde dökülür (Kierszenbaum 2006).

2.3.4. Fallop Tüpleri

Bir çift olan fallop tüpleri; yaklaşık 10-15 cm uzunlukta, 0,7-5 cm çapında, ovaryumlardan uterusu uzanan, büyük hareketliliğe sahip müsküler bir kanaldır (Junqueira ve ark. 1992; Ovalle ve Nahirney 2009; Eroschenko 2013).

Fallop tüplerinin dört bölümü vardır. Periton boşluğuna açılan huni biçimli başlangıç segmenti (1) infundibulum'dur. Bu bölümün ucunda fimbrialar bulunur. Fallop tüplerinin en geniş bölgesi (2) ampulla bölgesidir. Ampulla ince bir duvar ve çok fazla mukoza kıvrımlarına sahiptir. Döllenme genellikle burada gerçekleşir. Ampullanın devamında (3) istmus olarak adlandırılan kısa ve kalın duvarlı segment uterusu bağlanır. Uterus kas tabakası içine giren son parça ise (4) intramural parçadır (Ovalle ve Nahirney 2009).

Fallop tüp duvarı histolojik olarak üç katmandan oluşur; en içte mukoza, ortada muskularis ve dıştaki seroza katmanları. Tunika mukozada yüzey alanını artıran çok sayıda longitudinal kıvrımlar bulunmaktadır. Bu kıvrımların yüksekliği ve sayısı uterusu doğru yavaş yavaş azalır (Ovalle ve Nahirney 2009). Mukozayı tek katlı (basit) silindirik epitel ve gevşek bağ dokusundan oluşan lamina propria oluşturur. Epitel iki tip hücre içerir; silli ve silsiz (peg) hücreler (Junqueira ve ark. 1992). Silli hücreler oositin fallop tüpünün üst bölümünden alt ucuna doğru iletilmesini sağlar, silsiz (peg) hücrelerin fonksiyonu ise glikoprotein sentezleyip oositin beslenmesini sağlamaktır. Tunika muskularis, dışta longitudinal içte sirküler seyirli iki düz kas tabakasından oluşur ve peristaltik kasılmalar yapar. Tunika seroza, dıştan mezotel hücreleriyle örtülü gevşek bağ dokusudur.

Fallop tüplerinin kanlanması ve lenfatik drenajı iyi gelişmiştir; düz kaslar ve damarlar, sempatik ve parasempatik sinirlerle innervedir (Ovalle ve Nahirney 2009).

Fallop tüpleri ovulasyon sonrası oositi alır ve fertilizasyon için uygun bir ortam oluşturur. Erken embriyo dönemi ya da zigotun uterusu ulaşmadan önceki yaklaşık üç günlük gelişimi, normalde fallop tüpleri içerisinde olur.

Yaygın olarak dış (ektopik) gebelikler fallop tüplerinde görülmektedir. Bu olguların çoğu döllenmiş ovumun fallop tüpünden uterusu geçişinin engellenmesi veya yavaşlatılması sonucu meydana gelmektedir. Bu durum ise daha önce geçirilmiş tubal enfeksiyonlar veya ameliyat sonrası tüplerde oluşan skarlaşmalar nedeniyle olur. Dış gebeliği olan kadınların yaklaşık % 50'sinde salfinjit veya pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü vardır (Ovalle ve Nahirney 2009). Fallop tüplerin çapının küçük olması nedeniyle, büyüyen embriyo tutunamaz ve patlar. Sonuçta dış gebelik acil müdahale gerektiren, embriyo ölümüyle gerçekleşen şiddetli iç kanama ile sonlanır (Junqueira ve ark. 1992). Klinikte ender olarak görülen bir genetik bozukluk olan "Kartagener sendromu" siliyer hücrelerdeki motilite eksikliği ile karakterizedir. Hastalar genellikle infertildir. Kadınlarda bu infertilite olasılıkla fallop tüplerindeki siliyer anomaliyle bağlantılıdır. Bu bireylerde sillerin sayılarında belirgin bir azalma, santral mikrotübül çiftinin bulunmayışı ve siliyer vurum frekansında da değişiklik söz konusudur (Ovalle ve Nahirney 2009).

2.3.5. Ovaryumlar

2.3.5.1. Ovaryum Embriyolojisi

İnsan gelişimi fertilizasyon ile başlar. Fertilizasyon, özelleşmiş iki hücre olan, olgun erkek cins hücresi sperm ile dişi cins hücresi sekonder oositin birleşerek tek hücreli bir organizma olan zigotu oluşturmasıdır (Şeftalioğlu 1998). Zigot defalarca bölünür; hücre bölünmesi, göçü, büyümesi ve farklılaşması yoluyla çok hücreli insana dönüşür (Moore ve Persaud 2002).

Embriyonun kromozomal ve genetik cinsiyet farklılaşması sekonder oositi döleyen sperm türüne bağlı olarak fertilizasyonda belirlenir (Şeftalioğlu, 1998). Cinsiyet farklılaşması, çok sayıda genin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. SRY (sex-determining region Y) geni, Y kromozomunun kısa kolunda (Yp11) bulunur ve

cinsiyet belirleyicidir. Bu genin protein ürünü olan transkripsiyon faktörü, gelişmemiş durumdaki üreme organlarının cinsiyetini belirleyen genleri harekete geçirir. SRY geni Testis Belirleyici Faktör (TBF)'dür. Bu faktörün var olması durumunda fetüsün cinsiyeti erkek, yokluğunda ise kızdır (Sadler 2005).

Gonadlar (testisler ve overler), gelişiminde 3 kaynaktan köken alırlar.

- 1) Posterior abdominal duvarın mezoteli (mezodermal epitel)
- 2) Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- 3) Primordial germ hücreleri (PGH)

Gonadlar (overler), ilk kez gelişimin 5. haftasında mezotelyumun proliferasyonu ve altındaki embriyonik bağ dokusunun (mezenşim) kalınlaşmasıyla oluşmuş genital veya gonadal kabarıklık halinde belirir (Şeftalioğlu 1998).

Primordial germ hücreleri (PGH) ilk olarak insanda 3-4. gebelik haftalarında (postkonsepsiyonel) yolk kesesinin dorsal duvarının endoderminde 100 kadar hücre olarak kendilerini belli ederler. Endodermal hücrelerden daha büyük olmaları ve daha az organel içeren şeffaf sitoplazmaları ile ayırt edilirler. PGH, ameboid hareketlerle son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek 6. haftada genital kabarıklıklara göç ederler. Kabarıklara ulaşamadıkları takdirde, gonadlar gelişmez. Gonadların over veya testise farklanmasında primordial germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır. Gonada ulaşan PGH'leri daha hızlı mitoz göstererek sayıları kısa sürede 6. haftada 10 bin, 8. haftada 600 bin, 20. haftada ise 6 milyona ulaşır. Bu dönemden sonra mitoz azalır ve 28. haftada sona erer ve eş zamanlı başlayan atrezi 20 haftada pik yapar. Bu sebeple 20. haftadan sonra germ hücre sayısı düşmeye başlar, yenidoğanda 1 milyon, pubertede 300 - 400 bin kadarı kalır. Sadece %1' i ovulatuvar aşamaya kadar ulaşan bu hücrelerin çoğu atreziye gider ve menopoza sonrası bin kadarı overde kalır (Öktem ve Urman 2011).

PGH' lerin primitif gonadlara ulaşmasıyla, gonadal kabarıklığın kölomik epiteli proliferasyon olur ve epitel hücreleri altındaki mezenşim içine girer. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Erkek ve dişi embriyolarda bu kordonlar, yüzey epiteline bağlıdır ve bu evrede erkek ya da dişi gonadların birbirinden ayırt edilmesi olanaksızdır. Gonadların erkek ve dişiğe

farklanmaları, yani gonadal cinsiyet embriyonik gelişimin 7. haftasında gözlenir. 7. haftadan önce gonadların görünümü her iki cinste de birbirine benzerdir (Moore ve Persaud 2002). Bu nedenle, bu evreye "farklanmamış evre", bu gonada ise "farklanmamış gonad" denir. XX kromozomları, ovaryumun gelişimi için genler içerir. 10. haftaya kadar ovaryumlar histolojik olarak ayırt edilmezler. XX kromozom komplemanına sahip dişi embriyolarda, ilkel cinsiyet kordonları düzensiz hücre kümelerine ayrılır. PGH grupları içeren bu kümeler, daha çok ovaryumun medullar bölgesinde yerleşmişlerdir. Bu hücre kümeleri bir süre sonra kaybolarak yerlerini damarlı stromaya (medulla) bırakırlar. Dişi gonadın yüzey epiteli, erkek gonadın aksine çoğalmaya devam eder. 7. haftada dişi gonadın yüzey epitelinden kortikal kordonlar adı verilen ikinci nesil kordonlar gelişir. 4. ayda bu kordonlar, bir ya da daha çok sayıda primordial germ hücresini çevreleyen izole hücre toplulukları haline gelirler. Bu üreme hücreleri zamanla oogonyumlara dönüşürken, yüzey epitelinden aşağıya göç eden ve üreme hücrelerini çevreleyen epitel hücrelerinden de foliküler hücreler meydana gelir (Sadler 2005).

2.3.5.1.1. Oogenezis

Pirimitif germ hücreleri overe ulaşınca ismi oogonia olur (Öktem ve Urman 2011). Oogenezis; oogonia hücrelerinin, olgun oositlere dönüşmesiyle gerçekleşen olaylar dizisidir. Hücrelerdeki bu olgunlaşma süreci, prenatal dönemde başlar, cinsel olgunluğa erişildiğinde tamamlanır (Moore ve Persaud 2002).

Oositlerin Doğum Öncesi (Prenatal) Olgunlaşması: Erken fetal yaşamda, oogonia'lar hızlı mitotik aktivite ile sayılarını artırır (Moore ve Persaud 2002; Öktem ve Urman 2011). Aslında oogoniyaların mitotik aktivitesi over rezervinin ne kadar olacağını belirler. Oogoniyalar, mayoz öncesi son mitoz turunda tam tamamlanmamış hücre bölünmesi (inkomplet sitokinez) ile birbirlerine sitoplazmik köprüler ile bağlı kalarak sinsisyum oluştururlar. Bu sayede mayoz başlama sinyalinin diğer oogoniyalara da bu yolla iletildiği düşünülmektedir. Pre-mayotik DNA sentezinin başlaması ile oogoniyal dönem biter, oosit dönemi başlar. Oluşan oositlere primer oositler denir (Öktem ve Urman 2011).

Primer oosit ilk mayoz girişi 8 ile 13 haftalar arasında olup profaz puberteye kadar tamamlanamaz (Moore ve Persaud 2002; Öktem ve Urman 2011). Primer oosit, puberte boyunca cinsel olgunluğa ve üreme siklusları başlayıncaya

kadar profaz evresinde bekler. Primer oositi çevreleyen foliküler hücrelerin oosit maturasyon inhibitörü (OMI) adındaki bir maddeyi salgılayarak, oositin mayotik bölünme sürecini durdurduğu düşünülmektedir (Moore ve Persaud 2002).

Primer oosit, oluştuğunda ovaryuma ait stroma hücreleri ile çevrelenir. Bu yapı tek tabakalı düzleşmiş foliküler epitel hücrelerini oluşturur. Bu hücre tabakası ile çevrelenmiş primer oosit, primordial folikülleri meydana getirir (Moore ve Persaud 2002).

Oositlerin Doğum Sonrası Olgunlaşması: Puberte ile başlar, her ay genellikle bir folikül olgunlaşır ve ovulasyon olur. Doğumdan sonra kızlarda primer oosit oluşmaz, primer oositler puberteye kadar ovaryum foliküllerinde bekler. Folikül olgunlaştıkça primer oositin boyutları artar, ovulasyondan hemen önce birinci mayoz bölünmeyi tamamlar. Spermatogenezdeki benzer aşamalardan farklı olarak, sitoplazma eşit olarak bölünmez.

Sekonder oosit hemen hemen tüm sitoplazmayı alır, birinci polar cisimciğe çok azı kalır. İlk polar cisimcik; küçük, işlevsel olmayan ve kısa süre içinde dejenere olacak bir hücredir. Ovulasyondan sonra sekonder oositin çekirdeği ikinci mayoz bölünmeye başlar, ama bölünme durduğunda sadece metafazı ilerlemiştir. Eğer bir sperm sekonder oositin içine girerse, ikinci mayotik bölünme tamamlanır ve yine sitoplazmanın çoğu bir hücreye, fertilize olmuş bir oosite veya olgun ovuma geçer. Diğer hücre kısa sürede dejenere olan, küçük ve işlevsiz bir hücredir. İkinci polar cisimcik atıldığında oositin olgunlaşması tamamlanır.

Yeni doğan bir dişinin ovaryumlarında yaklaşık 2 milyon primer oosit vardır ancak bunların çoğu çocuklukta dejenere olur, adölesan dönemde 40 binden fazla değildir. Bunlardan sadece 400 kadarı sekonder oosit olur ve üreme döneminde ovulasyon sırasında atılır (Moore ve Persaud 2002).

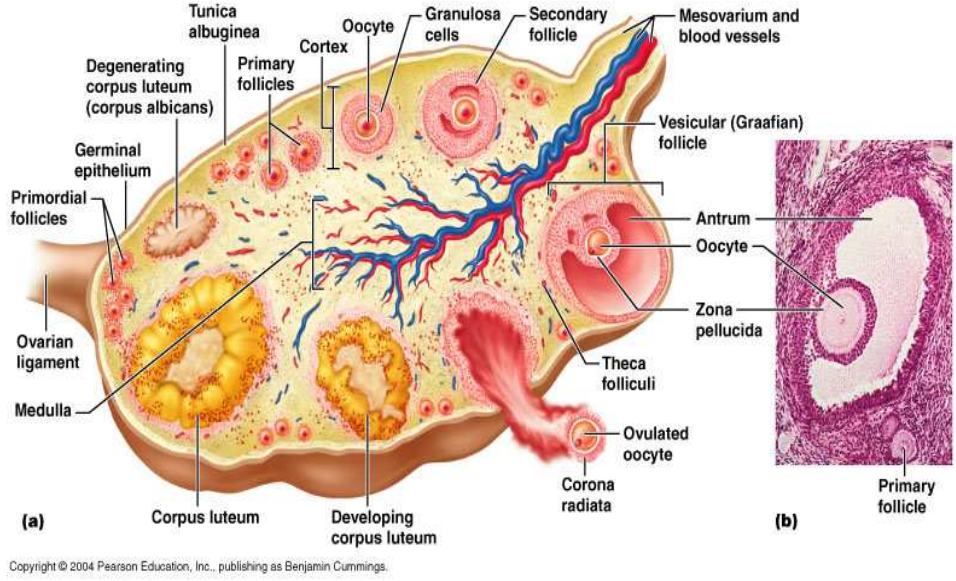
2.3.5.2. Ovaryum Histolojisi

Ovaryumlar; eşey hücreleri olan oositlerin meydana getirildiği, salgıladığı hormonlarla genital siklusu düzenleyen ve dişi üreme sisteminin diğer organları üzerinde de etkili bir organdır (Hayiroğlu 2013).

Ovaryum yüzeyi, visseral peritondan farklı olan, basit yassı veya kübik epitel hücrelerinin oluşturduğu "ovaryum yüzey epiteli (germinal epitel)" ile örtülüdür. Yüzey epitelinin altında ovaryuma beyazımsı rengini veren, fibröz bağ dokusu yapısındaki "tunika albuginea" tüm ovaryumu kapsül gibi sarar (Junqueira ve ark. 1992; Ovalle ve Nahirney 2009).

Ovaryum, aralarında kesin bir sınır olmayan korteks ve medulla bölgelerini içerir (Öber ve İzzetoğlu 2006). Tunika albuginea'nın altında, oositleri içeren ovaryum foliküllerinin bol miktarda bulunduğu dış kısım "kortikal bölge (korteks)" dir. Ovaryum folikülleri bu kortikal bölgenin bağ dokusu (stroma) içinde gömülüdür. (Junqueira ve ark. 1992). Stroma, kollajen ve elastik lifler ile retiküler lif ağları ve iç biçimli bağ dokusu hücrelerinden yapılmıştır. Korteksin bu intersitisyel bağ dokusu, germinal epitel altında sıklaşarak tunika albuginea'yı oluşturur (Günyüz 2013). Ovaryum "medüller bölgesi (medulla)", kan ve lenf damarları ile sınırlardan zengin açık renkli iç bölgedir. Elastik liflerce zengin, düz kas hücreleri içeren fibroelastik gevşek bağ dokusu yapısındadır. İnsan ovaryum medullasında menstrüasyon öncesi östrojen salgılayan küçük gruplar halinde epiteloit interstitial hücreler vardır. Yaşamın ilk yıllarından başlayarak ve ergenlik çağının erken evreleri süresince foliküler atreziye koşut olarak interstitial hücrelerin sayısı artar ve interstitial bezler oluşur. Ovaryum medullasındaki diğer epiteloit hücre grubu ise, küçük adacıklar halinde hilusta gözlenen, hilus hücreleridir. Bu hücreler, testisin Leydig hücrelerine (endocrinocytus interstitialis) benzerler ve sitoplazmalarında yağ damlacıkları, lipofüskin pigmenti, Reinke kristallerini içerirler ve androjen üretirler (Küçüköğlu 2011).

Ovaryumda foliküllerin gelişimi oldukça karmaşık ve uzun sürelidir. İntrauterin yaşamda ovaryumlarda başlangıçta birkaç milyon adet (7 milyon kadar) olan oosit sayısı, doğuma kadar apoptozis mekanizması ile 2 milyona kadar düşmektedir. Doğumdan sonra puberteye kadar bu hücrelerde bir gelişme ve sayısal artış görülmemekle beraber, atreziye uğrayarak puberte de bu sayı 400.000'e kadar düşmektedir. Kortekste inaktif bekleyen primordiyal foliküller aktif hale geçtikten sonra primer, sekonder ve tersiyer folikül olmak üzere gelişim evrelerine göre farklı foliküllere farklılıklar (Hayiroğlu 2013).



Şekil 2.2. Ovarial siklus (<http://apbrwww5.apsu.edu> 2014).

2.3.5.2.1. Ovaryum Folikülleri

Bir ovaryum folikülü, bir oosit ve bunu çevreleyen epitel tabakası şeklindeki folikülü hücre katmanından oluşur (Ovalle ve Nahirney 2009).

Foliküller, tam olarak işlev kazandığı zaman içlerinde bulunan oositi besler, olgunlaştırır ve doğru zamanda serbest bırakır, vagina ve fallop tüplerini döllenmeye yardım etmeleri için hazırlar, uterusu zigotu kabul etme ve yerleştirmeye hazırlar, plasenta bu görevi yükleninceye kadar fetusun hormonal desteğini sağlar (Berne ve ark. 2008).

Ovaryumda histolojik olarak üç ana tip folikül bulunur (Küçüköğlü 2011).

- 1) Primordiyal Folikül
- 2) Büyüyen Folikül
 - a) Primer Folikül
 - b) Sekonder Folikül
- 3) Olgun Folikül

Bir ovaryumda tüm bu folikül tipleri aynı anda görülmektedir ancak primordial foliküller en yaygın olan tiptir (Ovalle ve Nahirney 2009).

2.3.5.2.1.1. Primordial Folikül

İnsanda primordial folikül gelişimi en erken 16 haftada başlar ve en geç postnatal 6. ayda biter. Over rezervini temsil eden primordial foliküller tek katlı yassı pre-granülosa hücreleri ile çevrili diploten oositten oluşur (Öktem ve Urman 2011). Granülosa hücreleri çocukluk çağı boyunca, ovumun beslenmesini üstlenir (Güvenman 2007).

Primordial foliküller tunika albuginea' nın altında, kortikal bölgenin üst katmanında yer alır (Junqueira ve ark. 1992). Primordial foliküldeki oosit yaklaşık 25 µm çapında, küre biçiminde bir hücredir. Hafifçe eksentrik yerleşmiş büyük bir nükleus ve nükleolusu bulunur. Sitoplazmada çok sayıda mitokondrium, birkaç Golgi kompleksi ve sisternalı endoplazmik retikulum bulunur. Sitoplazmadaki organeller nükleusa yakın bir küme oluşturma eğilimi gösterir. Yassı folikül hücreleri ise endoplazmik retikulum, mitokondriyumlar ve lipid damlaları içerir (Junqueira ve ark. 1992). Bu folikülü hücrelerin dış yüzeyi üzerinde uzanan ince bir bazal lamina, folikülü hücreleri çevredeki bağ dokusu stromasından ayırır (Junqueira ve ark. 1992). Puberteden sonra menstrual sikluslar sırasında her ay yaklaşık 20 primordial folikül aktive olur. Bunlardan genellikle bir tanesi dominant duruma gelir ve primer folikül olmak üzere bir sonraki gelişimsel evreye geçer (Ovalle ve Nahrney 2009).

2.3.5.2.1.2. Primer Folikül

Ergenlik çağından başlayarak, küçük bir primordial folikül grubunda, foliküler büyüme olarak adlandırılan bir süreç başlar. (Junqueira ve ark. 1992). Primordial foliküller dormant fazdan büyümenin başlaması ile primer aşamaya geçer. Primordial folikülden primer folikül gelişimini neyin tetiklediği son yıllarda yapılan çalışmalarda, tek bir hormon veya sinyal yolağından ziyade over içinde farklı kompartmanlardan kaynaklanan (oosit, granuloza ve teka hücreleri, stroma) sinyallerin otokrin-parakrin etkileşimleri ile primordial foliküllerin primer basamağa ulaştıkları bilinmektedir. Üstelik primordial foliküllerin aktivasyonu için FSH'ye gerek yoktur zira primordial foliküller FSH reseptörü barındırmazlar. Primordial foliküllerin primer foliküllere aktive olmaları döngüsel sürekli bir hadisedir, fetal hayatta başlayıp menopoza kadar devam eder (Öktem ve Urman 2011).

Oosit büyümesinin en hızlı olduğu dönem foliküler büyümenin birinci evresidir; bu sırada oositin çapı maksimuma (125-150 µm) ulaşır. Nükleus büyür, mitokondrilerin sayısı artar ve sitoplazmada eşit olarak dağılırlar; endoplazmik retikulumu genişleme (hipertrofi) gösterir ve Golgi aygıtları da hücre yüzeyinin hemen altına göç eder (Junqueira ve ark. 1992). Folikülü hücreler de mitoz bölünmeler geçirerek, tek katlı kübik hücre katmanını oluşturur. Bu evredeki folikül, "tek katmanlı (ünilaminer) primer folikül" olarak adlandırılır. Folikülü hücreleri mitozla bölünmeyi sürdürür ve çok katlı granüloza tabakasını oluşturur (kübik biçimli folikülü hücrelerin sitoplazmaları granüler bir görünüm aldığından, granüloza katmanı olarak isimlendirilir). Granüloza tabakasına sahip bu folikül ise "çok katmanlı (mültilaminer) primer folikül" olarak adlandırılır (Junqueira ve ark. 1992). Çok katmanlı primer folikül, 150 µm 'lik bir çapa ulaşır. Bu noktada oosit, ortalama 80 µm'lik bir çapa olan azami boyuna erişmiştir (Berne ve ark. 2008).

Oositte ve granüloza tabakasında bu değişiklikler oluşurken, bağ dokusunda da bazı değişimler meydana gelir. Stroma, folikül çevresinde "teka folikülü" olarak adlandırılan sıkı dokuyu oluşturur (Eşrefoğlu 2004; Junqueira ve ark. 1992). Teka folikülü daha sonra kan damarlarından zengin "teka interna" denen iç tabakayı ve kollejen liflerden ve düz kas hücrelerinden zengin "teka eksterna" denen dış tabakayı meydana getirir. Teka interna: steroid salgılayan hücreleri, fibroblastları, kollajen lifleri ve küçük kan damarları içerir. Teka internadan östrojenlerin prekürsörleri olan androjenler sentezlenerek salgılanır. Steroid yapısında bir hormon olan androstenedione teka interna hücrelerinden salgılandıktan sonra granüloza hücrelerinden FSH etkisi ile üretilen aromaz ile östrojene dönüştürülür. Folikülü çevreleyen stromaya dönen östrojen damar yolu ile bütün vücuda dağılır (Eşrefoğlu 2004). Teka eksterna: Bağ doku hücrelerinden yapılmış dış kısımdır. Esas olarak düz kas hücreleri ve kollajen lif demetlerinden oluşur. Teka tabakaları arasında ve teka eksterna ile çevre stroma arasındaki sınır belirgin değildir. Bununla birlikte granüloza hücreleri ile teka tabakası arasında bulunan bazal lamina bu iki tabakayı kesin şekilde ayırır. Böylece bazal lamina, foliküler büyüme sırasında damarsız olan granüloza hücre tabakasını, teka interna tabakasından ayırmış olur (Küçüköğlu 2011).

Oosit, follikül gelişimi sırasında kendi çevresinde, glikozaminoglikan ve glikoproteinlerden zengin bir katman olan zona pellusida (Zp) oluşmaya başlar. Zp,

homojen, asidofilik, PAS (+) ve oldukça iyi boyanan jel kıvamında bir yapıdır. Zona pellusida Zp1, Zp2 ve Zp3 denilen üç farklı glikoproteinden oluşur (Ross ve ark. 2006).

2.3.5.2.1.3. Sekonder (Veziküler) Folikül

Stratum granülozum 8-12 hücre katına sahip çok katlı epitele dönüşünce bu hücreler arasında şeffaf bir sıvı ile dolu düzensiz boşluklar ortaya çıkmaya başlar. Bu boşluklar birbirleri ile birleşerek "antrum" adı verilen boşluğu oluştururlar ve bu foliküle artık sekonder folikül veya veziküler folikül denir (Eşrefoğlu 2004; Berne ve ark. 2008).

Antrum sıvısı (likör folikülü); hiyaluronat, steroidler, büyüme faktörleri ve gonadotropinlerden zengindir (Kierszenbaum 2006).

2.3.5.2.1.4. Tersiyer (Graaf) Folikül

Sekonder folikülün gelişimi devam ederken, folikül içinde biriken sıvı artıp antrum genişledikçe bir grup granüloza hücreleri tarafından çevrelenmiş olan oosit folikülün bir kenarına itilir. Oosit ve çevresindeki granüloza hücreleri folikül lümenine doğru uzanan bir tümsek oluştururlar. Bu tümseğe "kumulus ooforus" denir (Eşrefoğlu 2004). Bu granüloza hücre katmanı steroid hormon üretimi ile yükümlü değildir (Berne ve ark. 2008). Ovumu çevreleyen granüloza hücrelerine de "korona radiata" adı verilir. Foliküllerdeki büyüme devam ettikçe ovum da gelişerek ovulasyondan hemen önce birinci olgunluk bölünmesini bitirir (Eşrefoğlu 2004). Folikül 15-20 mm çapındaki Tersiyer (Graaf) folikül olarak isimlendirilir (Eşrefoğlu 2004, Kierszenbaum 2006). Sonuç olarak Graaf (olgun) bir folikülü; foliküler sıvı içeren bir büyük antruma sahiptir. Korona radiatayı yapan tek sıralı foliküler hücrelerin çevrelediği zona pellusida bulunur. Oosit ve ona bağlı olan korona radiata, kumulus ooforustan ayrılır. Oosit-zona pellusida-korona radiata kompleksi folikül sıvısı içinde serbest olarak yüzer. Ovulasyondan birkaç saat önce I. mayoz tamamlanır. Bunun sonucunda, sekonder oosit ve birinci kutup cismi gelişir. Birinci kutup cismi, perivitellin aralık denilen zona pellusida ile oosit arasındaki aralığa atılır. Foliküler hücreler, sahip oldukları FSH reseptörlerinin yanı sıra, LH reseptörleri de kazanır. Bu olay korpus luteumun luteinizasyonu ya da gelişmesi için kriterdir (Kierszenbaum 2006).

2.3.5.2.1.5. Atretik Folikül

Yenidoğan döneminde sayıları 400 bin kadar olan primordiyal foliküllerden olgunlaşmayan büyük bir bölümü, erken postnatal dönemde ve puberteden sonra atreziye uğrarlar. Folikül atreziye uğrarken önce oosit, daha sonra foliküler hücreler dejenere olur. Atreziye uğrayan primordiyal foliküllerin yerini, stromal bağ dokusu alır. Ancak, gelişen foliküllerin atrezisi daha kompleks bir olaydır. Primordiyal foliküllerde olduğu gibi, burada da ilk dejeneratif değişiklikler, oosit ve bunu takiben folikül hücrelerinde izlenir. Giderek belirginleşen zona pellusida, oositin ve folikül hücrelerinin dejenere olmasından sonra bile, belirgin olarak izlenebilir. Makrofajlar, dejenere olmuş granüloza hücrelerini sarar. Foliküler hücre ile teka interna arasındaki bazal membran kalınlaşarak hiyalinize kalın bir bant oluşturur. Oluşan skar dokusu, korpus albikansa benzer ancak daha küçüktür. Atrezi böyle gerçekleşir; mitoz durur, granüloza hücreleri arasında endonükleazlar ve hidrolitik enzimler yayılır, granüloza tabakasında çok miktarda nötrofil ve makrofaj izlenir, daha sonra granüloza hücreleri antruma dökülür, teka interna hipertrofiye uğrar, folikül büzülür ve bağ dokusu folikül antrumuna doğru ilerler. Otolitik değişikliklere dayanıklı olan zona pellusida, makrofajlar tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılır. Camsı membran olarak da bilinen kalın bir bazal membranın varlığı geç dönem atrezinin bir özelliğidir (Eşrefoğlu 2004).

2.3.5.2.2. Ovulasyon

Ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce, adenohipofizden LH salınımı tetiklenir. Kandaki LH hormonu düzeyinde oluşan aşırı yükselme sonucu granüloza hücrelerindeki LH reseptörleri duyarlılığını yitirir ve LH'a yanıt olarak daha fazla östrojen üretmezler. Oositin I. Mayoz bölünmesi bu tetiklenme ile durakladığı yerden devam etmeye başlar. LH yükselmesinden 12-24 saat kadar sonra gerçekleşen bu olay, oositin mayoz I'i tamamlayarak ilk kutup cisimciğini oluşturmasını ve aynı zamanda II. Mayoz bölünmenin başlamasını sağlar. Ancak oosit ovulasyondan yaklaşık 3 saat öncesine değin metafaz evresinde duraklar. Bu sırada ovaryum'un yüzeyinde bir kabarıklık oluşur. Bu kabarıklığın tam tepesinde stigma adı verilen damarsız bir nokta belirir. Yüksek LH düzeyi kollajenaz aktivitesini artırır ve folikülün çevresindeki kollajen lifleri sindirir. LH düzeyindeki ani artışın diğer bir etkisi de prostaglandin miktarını arttırmasıdır. Prostaglandin ovaryum duvarında

yerel kas kasılmalarına neden olur. Bu kasılmalarla olgun folikül yırtılarak içerdiği oositi tuba uterinanın fimbriyaları yakınında periton boşluğuna atar. Fimbriyaların hareketi ile oosit tuba uterina içine alınır. Ovulasyon puberteden menapoza değin 28 günde bir olaylanır. Ovulasyon iki menstrual kanama arasındaki döngünün tam ortasında olur. Ovulasyon döngünün ortalama 14. gününde gerçekleşir. Ovulasyonda genelde bir oosit atılır. Bazen aynı anda birkaç oosit atılabilir. Bu da ikiz ya da çoklu gebeliklere neden olur (Demir 2011).

2.3.5.2.2.1. Korpus Luteum

Ovulasyondan sonra granüloza ve teka interna hücreleri bölünmeden büyüyerek hormon salgılayan lutein hücrelerine dönüşürler. Böylece geçici bir endokrin bez olan korpus luteum (sarı cisim) oluşur. Korpus luteum, progesteron ve östrojen hormonları salgılar. Graaf folikülünde, ovulasyon sonrası iç basınç düşer ve teka katmanındaki kan damarlarından kan sızması ile kısa bir süre için folikül içine kan toplanır. Buna kırmızı cisim (korpus rubrum, korpus hemorajikum) denir. Döllenme olmadığında, ovulasyonu izleyen 9. günde korpus luteum en fazla erişebileceği boyuta ulaşır ve ovaryumun yüzeyinde sarımtırak bir çıkıntı halinde izlenir. Daha sonra luteal hücrelerin dejenerasyonu giderek küçülür ve korpus albicans olarak bilinen fibrotik skar dokusu haline gelir. Bu sırada progesteron üretimi de azaldığından menstrual kanama başlar. Oositin döllenmesi durumunda, korpus luteumun dejenere olması, gelişmekte olan embriyonun sinsityotrofoblastları tarafından salgılanan koriyonik gonodotropin (HCG) hormonu tarafından engellenir. Böylece korpus luteum büyümesini sürdürür ve gebelik korpus luteumuna dönüşür. Bu yapı 3. ayın sonunda ovaryumun 1/3 ile 1/2'si kadar bir büyüklüğe ulaşır. Sarımtırak renkteki luteal hücreler dördüncü ayın sonuna değin progesteron salgılamayı sürdürür. Bundan sonra, plasentanın trofoblastik bileşeni tarafından salgılanan progesteron hormonunun miktarı, gebeliğin sürdürülmesine yetecek düzeye geldiğinden yavaş yavaş dejenere olur. 4. aydan önce gebelik korpus luteumun dejenerasyonu genelde düşükle sonuçlanır (Sadler 2005).

2.3.5.3. Ovaryum Anatomisi

Ovaryumlar kadında esas üreme organı olan, oval biçimli, badem şekilli bir çift organdır. Her bir ovaryum pembemsi-beyaz renkte, solid nodüler yüzeyli, 3-3,5

cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde 1- 1,5 cm kalınlığında ve 15 gr ağırlığındadır (Berne ve ark. 2008; Uzun 2010).

Boyutları ve histolojik görünimleri menstual döngü, gebelik ve postmenopozal dönemlerde değişiklik gösterir (Junqueira ve ark. 1992). Puberteden önce ovaryum düzgün yüzeylidir. Üreme hayatı boyunca tekrar eden ovulasyonlardan dolayı düzensiz bir hal alır. Menapoz sonrası kadınlarda ovaryum, üreme periyodundaki büyüklüğünün ¼ ' lik halini alır (Yıldız 2009).

Ovaryumlar pelvis boşluğunda fossa ovarica denilen çukurlarda yerleşmişlerdir. Fossa ovarica, arteria iliaca externa, arteria iliaca interna ve ligamentum latum uteri arasında bulunur. Bu alanı aşağıda önden ligamentum latum uteri, yukarıda önden vasa iliaca externa; arkadan vasa iliaca interna ve ureter; önde ise oblitere umbilikal arter sınırlar. Facies lateralis ve facies medialis olarak iki yüzü; ön (margo mesovaricus) ve arka (margo liber) olarak iki kenarı; üst (extremitas tubaria) ve alt (extremitas uterina) olarak iki ucu bulunur. Ovaryumun üst ucu lig. suspensorium ovarii ile pelvis'in lateral duvarına; alt ucu olan lig. proprium ile de uterus'a tutunur. Ovaryum'un ön kenarı ise, kısa bir peritoneal plika olan mesovarium ile lig. latum uteri'ye bağlanır. Ovaryum'u tutan bir diğer yapı ise fimbria ovarica'dır. Bu yapı, tuba uterina'nın infundibulum tubae uterinae parçasında bulunan saçaklardan birinin ovaryum'un üst ucuna yapışan kısmıdır. Bu bağın içerisinde düz kas lifleri bulunur.

2.3.5.3.1. Ovaryum'un Damarları

Ovaryum'un arterleri, abdominal aortadan çıkan a. ovaricalar'dır. Bu arterler, lig. suspensorium ovarii içinde pelvise iner. Hilum ovarii'den ovaryuma girer ve foliküller çevresinde kılcal ağlar oluşturur. Arteria uterina'nın bir yan dalı olan ramus ovaricus'tan da ovaryuma dallar gelir. Bunun sonucu olarak mesovarium içinde arteria ovarica ile arteria uterina arasında bir anostomoz oluşur.

Ovaryumu direne eden venler ovaryum ve tuba uterina yakınlarında venöz bir ağ olan plexus pampiniformis'i oluşturur. Bu pleksustaki venler birbirleri ile birleşerek tek bir ven olan vena ovarica'yı oluşturur. V. ovarica, a. ovarica ile birlikte seyrederek ve hilum ovarii'den çıkar. Sağ taraftaki yükselerek vena cava inferior'a, sol taraftaki ise vena renalis sinistra'ya açılır. Lenf damarları kan damarları ile birlikte

uzanır. Yukarı çıkarak nodi lumbales'e açılan bu damarlara tuba uterina'lardan ve fundus uteri'den gelen lenf damarları da katılır.

2.3.5.3.2. Ovaryum'un Sinirleri

Ovarium'un sinirleri, plexus hypogastricus inferior ve a. ovarica çevresindeki plexus ovaricus'dan gelir. Parasempatikleri n. vagus'tan, sempatikleri ise n. splanchnicus minor ve bir kısmı torakal medulla spinalis segmentlerinden gelir. Bunların ovaryum içindeki dağılımı ve görevleri tam olarak bilinmemektedir (Uzun 2010).

2.3.5.4. Ovaryum Fizyolojisi

Kadında üreme fonksiyonları iki büyük evreye ayrılabilir. Bunlardan ilki, kadın vücudunun gebeliğe hazırlanması ve gebelik, ikicisi ise bizzat gebelik periyodudur. Kadında üreme işlevi hipotalamus, ön hipofiz ve ovaryum hormonlarının karşılıklı etkileşimi ile düzenlenir.

Kadın genital hormonal sistemi hiyerarşik üç ayrı hormon grubundan oluşur.

1. Gonadotropin Serbestleştirici Hormon (GnRH). Hipotalamusta sentezlenir.

2. FSH ve LH. Bu hormonların her ikisi de GnRH'a yanıt olarak ön hipofiz bezinden salgılanır.

3. Ovaryum hormonları, östrojen ve progesteron. Bu hormonlar FSH ve LH'a yanıt olarak, overler tarafından salgılanır.

Kadında aylık menstrual döngü sürecinde, bu hormonların salgı miktarları değişkenlik gösterir. Siklusun farklı bölümlerinde son derece farklı hızlarda salgılanırlar. Siklus süresi yaklaşık 28 gündür. Bu süre bazen 20 gün gibi kısa veya 45 gün gibi uzun dönemler içinde değişebilir. Ancak fertilité yetmezlikleri sıklıkla siklus anomalileriyle ilişkili olarak bulunur.

Kadın cinsel siklusunda iki önemli sonuç ortaya çıkar. İlk olarak, normalde her ay overlerden yalnız tek bir ovum serbestler ve her defasında tek bir fetüs büyümeye başlar. İkinci olarak, uterus endometriumunu, ayın belirli günlerinde,

dölllenmiş ovumun implantasyonu için hazırlar. Cinsel siklus sürecinde ovaryumlardaki değışikliklerin tümü hipofiz ön lobundan salgılanan gonadotropik hormonlar, FSH ve LH'a bağılıdır. Gonadotropik hormonlarla uyarılmayan ovaryumlar inaktif durumdadır. Bunu gonadotropik hormonların hemen hiç salgılanmadığı adölesan döneminde görebiliriz. 9-12 yaşlarında hipofiz giderek daha fazla FSH ve LH salgılamaya başlar, 11-15 yaşlar arasında aylık cinsel siklusun başlamasıyla en yüksek düzeye ulaşır. FSH ve LH 'lar mol ağırlıkları yaklaşık 30.000 olan küçük glikoprotein yapıda hormonlardır. Kadında aylık cinsel siklus sürecinde, FSH ve LH devingen olarak artar ve azalır. Bu dönemsel değışme, siklik over değışimlerine neden olur. FSH ve LH, ovaryumlardaki hedef hücrelerini, hücre membranında bulunan son derece özgül reseptörlere bağlanarak uyarırlar. Aktive olan reseptörler bu hücrelerin salgılama, büyüme ve çoğalma hızını artırır (Guyton 2001).

2.3.5.4.1. Ovaryum Hormonlarının Fonksiyonları

Ovaryumun seks hormonları, östrojenler ve progestinlerdir. Östrojenlerin en önemlisi östradiyol hormonu, progestinlerin en önemlisi de progesteron hormonudur. Östrojenler başlıca vücutta sekonder kadın seks özelliklerini veren özgül hücrelerin proliferasyonu ve büyümesini sağlarlar. Progestinler, uterusun gebeliğe hazırlığını ve meme bezlerinin de laktasyona son hazırlıklarını yürütür.

Östrojenler: Gebe olmayan normal bir kadında östrojenler büyük miktarlarda ovaryumlardan, az miktarlarda da adrenal korteksten salgıanırlar. Gebelikte ise çok fazla miktarlarda plasentadan salınırlar. Ovum'un teka internası ve granuloza hücreleri östrojenlerin yapıldığı yerdir (Noyan 1989). Kadının plazmasında üç tip östrojen görülür. Bunlar, β -östradiyol, östron ve östriyol. Ovaryumlardan serbestleyen en önemli östrojen β -östradiyol'dür. Östron ise çoğunlukla, adrenal korteks ve ovaryum teka hücrelerinden salgılanan androjenlerin periferik dokulardaki dönüşümlerinden kaynaklanır. Östriyol zayıf bir östrojendir ve özellikle karaciğerde, östradiyol ve östronun oksidasyon ürünü olarak ortaya çıkar. β -östradiyol'ün östrojenik kuvveti östrona karşın 12 kat, östriyole göre 80 kat daha fazladır. Bu nedenle β -östradiyolün en önemli östoron olduğu söylenebilir.

Östrojenlerin Fonksiyonları: Östrojenlerin başta gelen fonksiyonları, cinsel organlarda ve üremeye ilgili diğer dokularda hücrel proliferasyonu ve büyüme

sağlamaktır. Östrojenler çocukluk döneminde çok az miktarda salgılanırlar; pubertede ise salgılanan miktar hipofiz gonadotropik hormonların etkisi altında 20 kat ya da daha yüksek oranda artış gösterir. Östrojenler, vajina epitelini kübik şekilden, çok katlı epitele dönüştürerek, puberte öncesinde travma ve enfeksiyonlara karşı daha dirençli hale getirir. Puberte sonrası birkaç yıl içinde uterus'un boyutları iki veya üç kat artış gösterir. Östrojenlerin etkisi altında endometriumda değişimler meydana gelir. Endometriyal stromada belirgin proliferasyona ve implante olacak blastosistin beslenmesine yardımcı olacak olan endometriyal bezlerde büyük gelişmeye yol açarlar. Fallop tüplerindeki mukoza tabakalarına da uterus endometriumuna benzer etkiler yaparlar. Bez dokularının proliferasyonunda ve fallop tüplerinin iç yüzeyini örtmekte olan silyar epitel hücrelerinin sayısında artış sağlarlar. Meme dokusunda stromayı geliştirir, kanal sistemlerinin gelişmesini ve memede yağ birikmesini sağlarlar. Osteoblastik aktivitenin artmasına neden olurlar. Pubertede kadınların üreme çağına girmesiyle birlikte birkaç yıl büyüme çok hızlıdır. Bunun yanında, östrojenlerin iskelet büyümesi üzerinde bir diğer etkisi, uzun kemiklerin cismi ile epifizlerin erken birleşmesine yol açmasıdır. Sonuçta kadında büyüme olayı genellikle erkeğin büyümesinden yıllar önce kesilir. İleri yaşlarda östrojen eksikliğine bağlı kemik osteoporozu görülür. Bu olay kemikleri zayıflatarak kırıklara yol açar. Bu nedenle, postmenopozal dönemde kadınların çoğunluğu östrojenle desteklenerek tedavi edilmektedir. Vücut metabolizma hızını hafif de olsa artırır. Ancak bu artış erkek seks hormonu testosteronun etkisine karşın 1/3 oranda daha düşüktür. Bunun yanında hormonun deri altı yağ oranını artırıcı etkisi de vardır. Östrojenler yağın göğüs ve deri altından başka kalçalarda birikmesine yol açar ki, bu da kadının vücuduna özgü görünümünü kazandırır.

Progestinler: Progestinler içinde en önemli hormon progesterondur. Küçük miktarlarda bulunan bir diğer progestin 17- α -hidroksiprogestindir. Bu hormon progesteronla birlikte salgılanır ve progesteronla aynı etkiye sahiptir. Bu nedenle pratik olarak, progesteron tek önemli progestin olarak kabul edilmemektedir. Normal gebe olmayan bir kadında, progesteron ovaryum siklusunun yalnız ikinci yarısında, korpus luteum'dan salgılanır. Ancak gebe bir kadında, özellikle gebeliğin 4. ayından sonra plasentadan büyük miktarlarda progesteron salgılanır.

Progesteronların Fonksiyonları: Progesteronun en önemli fonksiyonu, kadın menstrual döngüsünün ikinci yarısında uterus endometriumunda salgılama ile ilgili

değişimleri başlatarak, uterusu döllenmiş yumurtanın implantasyonuna hazırlamaktır. Progesteron, uterus kasılmalarının şiddetini ve frekansını azaltarak implante döllenmiş yumurtanın atılmasını engeller. Fallop tüplerini döşeyen mukozoda, sekresyonla ilgili değişimleri başlatır. Sekresyon sıvısı, döllenmeden sonra bölünmeler geçirerek fallop borusunda ilerleyen ovumun implantasyondan önce beslenmesi için gereklidir. Progesteron alveol hücrelerinin proliferasyonu ile memelerdeki lobül ve alveollerin gelişimini hızlandırır. Böylece memeler büyüyerek salgılayıcı bir yapı kazanırlar. aynı zamanda gebelikte süt gelmesini de önler. Süt memeler hazırlandıktan sonra ileri dönemlerde hipofiz bezi ön lobundan salgılanan prolaktin hormonunun uyarısıyla salgılanabilir (Guyton 2001).

2.4. Diabetes Mellitus

Diabet ya da şeker hastalığı olarak bilinen “diabetes mellitus”, adını Yunanca, diabetes= akıp giden (idrara) ve Latince, mellitus= tatlı olarak telaffuz edilen şeker (glukoz) kelimelerinin birleşiminden alan metabolik bir hastalıktır (Besler 2006; Kara 2010).

Diabetes mellitus hastalığının keşfinde iki önemli buluş vardır. Bunlardan ilki; Strasbourg Tıp Fakültesi asistanı Oscar Minkowski ve Joseph von Mering, 1889 yılında lipaz enzimleri içeren pankreas dokusunun köpeklerde yağ sindirimi için önemli olup olmadığını araştırdığı esnada, köpeklerin pankreasını çıkarıp bunun sonucunda köpeğin normalden fazla idrara çıktığını ve çıkardığı idrarın şekerli olduğunu fark etmiştir ve hastalığın pankreasla olan ilişkisi anlaşılmıştır (Silink 1997; Yüztaş 2011; Kara 2010). Bu pankreas ve diabet arasındaki ilişkinin ilk kanıtıydı (Silink 1997). Böylece pankreasın kan şeker seviyesini düzenleyen bazı maddeler içerdiğini ve yokluğunda da şekerli diabetin geliştiği düşünülmüştür (Türkoğlu ve ark. 2003). İkinci çalışma ise; 1921 yılında Frederick Banting ve arkadaşlarının, domuz pankreasından insülin hormonunu ayırıp saflaştırmaya başlamasıdır (Silink 1997; Türkoğlu ve ark. 2003). Bu uğraşları sonucunda diabetin etkin bir şekilde tedavi edilmesinin yani insülin enjeksiyonunun yolu açılmış oldu ve ilk hasta olan Leonard Thompson 1922 yılında tedavi edildi. Bu buluşları için Banting ve laboratuvarın yöneticisi olan John James Richard Macleod’a 1923 yılında Nobel Tıp Ödülü verildi. Banting ve arkadaşları üretim yöntemi ile ilgili olarak aldıkları patent için para talep etmediler ve insülinin ticari olarak üretilmesini kontrol

etmeye çalışmadılar. Bu kararlarının sonucunda insülin üretimi ve tedavisi hızla tüm dünyaya yayıldı. Banting daha sonra doğum günü olan 14 Kasım tarihinin “Dünya Diabet Günü” olarak belirlenmesi ile onurlandırıldı. Banting ve arkadaşları, pankreas dokusundan insülin adında aktif bir madde keşfetmiştir. Bu iki buluşun doğrultusunda, şeker hastalığı glukoz metabolizleme bozukluğu olarak kabul edilmiştir (<http://tr.wikipedia.org> 29 Nisan 2014).

Diabetes mellitus (DM), pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormon sekresyonunun yetersizliği ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan, karbonhidrat-lipid-protein metabolizmasını etkileyen, hiperglisemi ile karakterize, ömür boyu süren metabolik hastalıklar grubudur. (Larsen ve ark. 2007; Öntürk ve Özbek 2007; Doğru 2011; Yüztaş 2011). DM, klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji ve kilo kaybı gibi klinik belirtiler ile kimi zaman da retinopati, nöropati, nefropati gibi komplikasyonları ile ortaya çıkar (Demirel 2007).

Amerikan Diabet Cemiyeti (ADA) tarafından 2003 yılında yeniden belirlenen tanı kriterlerine göre, herhangi bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL bulunması veya 10-12 saat açlık sonu sabah kan glukozunun ≥ 126 mg/dL bulunması DM olarak tanımlanmaktadır (Newgard ve McGarry 1995; Kara 2010; Alyürük 2011). 75 gr glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testinde 2. saatteki glukozun ≥ 200 mg/dL olması ile DM tanısı konmaktadır (Kara 2010).

Yaşam boyu süren, sürekli izlem ve tedavi gerektiren, hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan diabetes mellitus; morbiditesi, mortalitesi ve topluma ekonomik yükü yüksek kronik bir hastalıktır (Çiftçi ve Mert 2013). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, 2000 yılı verilerinde toplam dünya nüfusunun % 2.8 (171 milyon)' inin diabet hastası olduğu ve diabetin görülme sıklığının hızla artarak 2030 yılında yaklaşık 330 milyon kişinin diabet hastası olacağı beklenmektedir (Wild ve ark. 2004). Benzer şekilde bu tarihte Türkiye' de diabetli hasta sayısının 6,5 milyon kişiye ulaşacağı tahmin edilmektedir (Demir ve Yılmaz 2013).

Diabet, akut ve kronik komplikasyonlarla seyrederek ve kronik dejeneratif komplikasyonlar, en ciddi sağlık sorunlarından birini oluşturur. Uzun süre diabeti olan olgularda tüm damarlarda bozukluklar gelişir. Değişiklikler hem kapiller ve arteriollerini yapan vasküler hücreleri, hem de bunların bazal membranlarını tutar. Bütün mikrovasküler yapılar tutulmuş olmasına karşın, klinik olarak ancak retina,

renal glomerüller ve büyük sinirlerde patoloji ortaya çıkar (Çambay 2011). Diabet tüm organları etkilediği gibi cinsel organları da etkilemektedir. Cinsel problemlerin oluşmasına neden olan başlıca etkenler diabet süresi, kronik komplikasyon (özellikle nöropati ve anjiyopati) varlığı, hastanın yaşı, diabet süresi, alkol alımı, ilaç ve sigara kullanımınıdır. Bu fizyolojik faktörlerin yanı sıra psikolojik etkileri de hastanın cinsel yaşamını ve üreme sistemini etkileyebilmektedir (Alyürük 2011).

DM'nin farmakolojik yönden tedavisi hipoglisemik ilaçlar ve insülin üzerine kurulmuştur. Bu terapötik ajanların yan etkilerinden dolayı günümüzde bitkisel ve sentetik tedavi yöntemlerine büyük bir ilgi başlamıştır (Öntürk ve Özbek 2007). Ülkemizin çeşitli bölgelerinde diabet tedavisi için geleneksel bitki tedavilerine başvurulduğu bilinmekte olup tıbbi bitkilerin hipoglisemik etkileri üzerinde de bilimsel çalışmalar yapılmaktadır. Bitkiler, antidiabetik özelliği olan ilaçların keşfinde önemli bir kaynak durumundadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünya genelinde tıbbi amaçlar için kullanılan 21.000 bitkiyi tanımlamıştır ve tanımlanan bitkilerin bir kısmı diabet hastaları tarafından kullanılmaktadır (Demir ve Yılmaz 2013). Batı toplumunda "tamamlayıcı ve alternatif tıp" kullanılması giderek artmaktadır. Doğu ve Batı kültürlerinde alternatif tedavi olarak yüksek doz vitamin/mineral desteği, herbal ilaçlar, akupunktur, masaj tedavisi, popüler egzersiz ve diyet programları gibi farklı birçok uygulamalar bulunurken, bizim kültürümüzde alternatif tedavi olarak bitkisel kökenli tedaviler gelmektedir. Biguanid olan metformin de bitkisel kaynaklıdır ve Orta Çağ'dan beri Avrupa'da kullanılmakta olan, Fransız leylağı olarak bilinen "*Galega officinalis*" bitkisinden elde edilmektedir. Türkiye de bitkisel kökenli ilaç kullanımını çok eskilere dayanmakla birlikte son 10 yıldır yeni bir uyanış göstermiştir (Kale ve ark. 2006).

2.4.1. Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması

I. Tip-1 diabet

a) Immünolojik

b) Idiopatik

II. Tip-2 diabet

III. Diğer spesifik tipler

IV. Gestasyonel diabet (Türk 2010; Yüztaş 2011).

Tüm dünyada tanı konulan diabet vakalarının % 90-95'ini tip 2 diabet, %5-10'unu tip 1 diabet ve %2-3'ünü ise diğer diabet formları oluşturmaktadır (Satman 2007).

2.4.2. Tip 1 Diabetes Mellitus (IDDM)

Tip 1 diabet, pankreas beta adacık hücrelerinin otoimmün veya otoimmün dışı nedenlerle haraplanmasına bağlı olarak ortaya çıkan insülinopeni ve hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır (Büyükgebiz ve Böber 2007). İnsülin sekresyon yokluğu mevcuttur, mutlak insülin gereklidir ve insüline bağımlı diabet (IDDM) adını alır (Guyton 2001; Alyürük 2011).

Tip 1 diabet her yaşta görülebilse de genellikle 30 yaşından önce başlar (Özel 2006). Okul öncesi, puberte ve geç adölesan dönemde olmak üzere üç pik görülür (Tanyeli 2013). En sık görülme yaşı 5-7 yaş ve pubertenin başladığı adölesan yaş grubudur. İlk zirve, okula başlanması ile enfeksiyonlara daha fazla maruz kalınmasına bağlanırken, pubertedeki artış pubertenin etkisi ile artan cins steroidlere, büyüme hormonunun artışına ve ruhsal streslere bağlanmaktadır (Aygün 2009).

Tip 1 diabet çocukluk çağında görülen kronik hastalıklar içinde ilk sırada yer almaktadır (İmamoğlu ve Ersoy 2009). Hastalığın epidemiyolojisi ile ilgili araştırmalar hızla artmakta ve son 20 yıldaki epidemiyolojik çalışmalar, tip 1 diabet görülme insidansında ve prevalansında belirgin dramatik değişikliklerin ve dünya ülkeleri arasında belirgin farklılıkların olduğunu göstermiştir (Abacı ve ark. 2007; İmamoğlu ve Ersoy 2009). Dünya nüfusunun sadece % 5'ine ait veriler mevcuttur. Çalışmaların büyük çoğunluğu özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika'da yapılmıştır. Hastalık hemen hemen tüm toplumlarda görülmektedir (İmamoğlu ve Ersoy 2009). Beş yaş civarındaki genel prevalansın 1/1430, on altı yaş civarındaki prevalansın 1/360 olduğu saptanmıştır. Tip 1 DM insidansı gerek topluluklar arasında, gerekse aynı topluluk içinde genetik ve çevresel faktörlerin etkisi nedeniyle bölgesel farklılıklar göstermektedir. Göçmen popülasyonlar, tip 1 DM gelişiminde çevresel faktörlerin ne kadar önemli olduğunu gösteren iyi bir örnektir. Hawaii'de yaşayan Japon ırkında tip 1 DM görülme sıklığı Japonya'da yaşayanlara göre 5 kat daha yüksek saptanmıştır. Kanada'da yaşayan İsrail kökenli çocuklarda tip 1 DM

insidansinin İsrail’de yaşayan çocuklara göre 4 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır. Artan tip 1 diabet insidansının ülkeler arasında ve ülke içinde bölgesel farklılıklar göstermesinin sadece sosyoekonomik faktörlerle açıklanamayacağı, genetik ve çevresel faktörlerin de tip 1 DM gelişiminde önemli rolü olduğu bildirilmektedir (Abacı ve ark. 2007).

Tip 1 DM etiyolojik olarak immün aracılı ve idiopatik olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır. Bazı yazarlarca tip 1A ve tip 1B olarak da adlandırılır (Peynirci 2010). Genellikle Tip 1 DM adı, immün aracılı (tip 1A) için kullanılır ve tip 1 diabetli olguların %90’nını oluşturur. Tip 1A diabette pankreas beta hücrelerinin bileşenlerine karşı otoantikörler bulunmaktadır. İdiopatik tip (Tip 1B) ise diabetli olguların %10’luk kısmını oluşturmaktadır ve bu tipte beta hücre otoimmünesini gösteren immunolojik bulgu yoktur. Bu hastaların kan insülin düzeyleri düşüktür ve bu hastalarda insülin direnci bulunmaz (Abacı ve ark. 2007; Peynirci 2010).

Genetik olarak yatkın bireylerde, çevresel faktörlerin beta hücrelerine karşı otoimmün aktivasyonu tetiklemesinden, klinik semptomlar ortaya çıkıncaya kadar geçen süre prelinik dönem olarak ele alınır. Bu dönem asemptomatiktir (İmamoğlu ve Ersoy 2009). Prelinik dönemden klinik döneme geçiş süresince insülin gereksinimini arttıran çeşitli faktörler mevcuttur. Tip 1 diabet genetik faktör konkordansı % 50 civarındadır. Tip 1 diabet insidansı, hem iç hem de dış faktörlerin rol oynadığını göstermektedir. Bu tip intrinsik etmenlerden biri immünite ile ilgilidir. Ekstrinsik etmenler genellikle viral enfeksiyonlarla ilgilidir. Notkins ve arkadaşları diabetin başlamasından hemen sonra ölen bir çocuğun pankreasından koksaki virus B4 'ü izole etmeyi başarmışlardır. Bu virus, kültürde korunmuş ve fareye enjekte edildiği zaman beta hücresi nekrozu oluşturduğu gözlenmiştir. (Sodeman ve Sodeman 1985). Tip 1 diabetin oluşmasındaki bu faktörler (viral, bakteriyel enfeksiyonlar), Tip 2 diabetin patogenezinde etkili görülmemiştir (Sodemans ve Sodemans 1985).

Tip 1 DM'da hiperglisemiye ilişkin; ağız kuruluğu, polidipsi, açlık hissi, poliüri, kilo kaybı ve yorgunluk gibi semptom ve bulgular aniden ortaya çıkar. Hastalar sıklıkla zayıf ya da normal kilodadır. Diabetik ketoasidoza yatkınlık vardır (Tanyeli 2013).

2.4.3. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM)

DM başlığı altındaki hastaların % 90'ı bu gruptadır (Azezli ve Orhan 2008). Genellikle yetişkinlerde görüldüğü için “yetişkin diabeti” adını alır (Yüztaş 2011). Azalmış insülin sekresyonu ve insüline dirençten veya her ikisinin de bir arada olmasından dolayı ortaya çıkan diabetes mellitus tipidir (Ize ve Sperling 2005; Hayıroğlu 2013). Tip 2 diabet, hedef dokuların insülini metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişir ve insüline bağımlı olmayan diabet (NIDDM) adını alır. Bu azalmış duyarlılığa insülin rezistansı denir (Guyton 2001).

Tip 2 diabette genetik faktörler önemlidir. Çok sayıda monozigot ikizde tip 2 diabet için % 90'lık bir uyumluluk bulunmuştur (Sodeman ve Sodeman 1985). Obeziteyle yakından ilişkilidir. Her obezde tip 2 diabet gelişmemesine rağmen genetik duyarlılık ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkabilir. Yağ dokusu tarafından salınan birçok hormon ve yangı faktörü, diabet gibi birçok bulaşıcı olmayan hastalıkla ve obezite arasında bir ilişkinin olduğunu göstermektedir. Belirgin lipoliz ve sonrasında oluşan yağ asitleri insülinin sinyal yolunu bloklayabilir (Reinmann ve ark. 2009).

2.4.4. Diğer Spesifik Tipler

Pankreatit, Cushing sendromu veya akromegali seyrinde ortaya çıkan veya atrojenik sebeplere bağlı, genetik bazı sendromlarla veya insülin reseptör anomalileri ile ortaya çıkan diabet tipleridir. Bunlar arasında; β hücre fonksiyonunda genetik kusurlar, insülin etkisi ile ilgili genetik kusurlar, endokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, ilaç ve kimyasallara bağlı diabet, enfeksiyonlar, immünite aracılı diabetin nadir formları, diabetle birlikte diğer genetik sendromlar sayılabilir (Yüztaş 2011).

2.4.5. Gestasyonel Diabet

İlk kez gebelikte ortaya çıkan değişik derecelerdeki glukoz intoleransına "gestasyonel diabet" denir (Kalelioğlu ve İbrahimioğlu 2006). Hamilelik dönemi diabeti olarak da tanımlanabilir. Gerek hamilelik evresinde görülen östrojen, progesteron, kortizon, laktojen gibi hormonların artışıyla insüline karşı oluşan direnç, gerekse artan insülin ihtiyacını anne adayının karşılayamaması sonucu ortaya çıkar. Bu tip diabette, anne adayını doğumdan önce diabet hastası olmasa da hamilelik

evresinde kan şekeri yüksek olmaktadır. Bu değer gebelik sonunda genelde normale dönmektedir (Hayiroğlu 2013). Belirgin semptomlar vermediği için genellikle taramalar sonrasında ortaya çıkar. Bütün gebelerin % 7'sinde gestasyonel diabet görülür. Aslında vakaların yaklaşık % 10 kadarı tanı konulmamış Tip 2 diabetlilerden oluşmaktadır. Sonraki yıllardaki takiplerde Tip 2 diabet gelişimi % 50-80 oranında gözlenmektedir (Altun 2010).

2.4.6. Diabet ve Gebelik

Diabet, hamilelik döneminin komplike olmasına yol açan en önemli sağlık sorunlarından birisidir; gebelik, fetus ve anne için sakıncalı olabilmektedir (İmamoğlu ve Ersoy 2009; Alyürük 2011). Özellikle Tip I diabetli kadınların menstruel problemlerden dolayı gebe kalmaları zorlaşabilir. Eğer gebelik olursa glisemi kontrolleri zorlaşır ve bazı komplikasyonlar hız kazanabilir. İnsülin hassaslığı ve glukoz toleransı bozulur. Fetusta konjenital malformasyon riski, metabolik ve gelişimsel problemler maternal diabetle birlikte artış gösterir. Gebelikte, anne ve fetusun gelişimlerini sağlayabilmek için gebeliğin ilk dönemlerinde plasentadan fazla miktarda östrojen ve progesteron salgılanır. Östrojenlerin zayıf anti-insülin etkileri vardır. Ayrıca, gebe kadınlarda prolaktin ve kortizol düzeyleri de artmaktadır. Diabetik durumla beraber karbonhidrat metabolizması değiştiğinden, pankreatik β hücreleri hipertrofiye uğrar ve glukozu insülin yanıtı artar ve gebeliğin 12. haftasında glukoz en alt seviyelere iner. Tip I diabetli kadınlarda gebeliğe bağlı lipolizis sonucu ketoasidoza yatkınlık artar. Tip II diabetli kadınlarda anovulatuvar siklus, infertilite, polikistik over sendromu ve obezite insidansı daha yüksektir. Buna rağmen günümüzde diabetik kadınların çoğunda fertilityle ilgili bir problemle karşılaşılmamaktadır (Alyürük 2011).

2.4.7. Deneysel Diabet

Günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konması, patogenezinin anlaşılması, hastalıktan korunmanın ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan modelleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Deneysel hayvan modelleri, patolojiye genetik olarak uygun türlerin seçilebilmesine; istatistiksel değerlendirmeye yetecek kadar çok sayıda örnekle çalışılabilmesine ve değişkenlerin kontrol altında tutulmasına; birden fazla risk faktörleri ve patolojinin çalışılabilmesine; henüz denenmemiş tanı koydurucu, koruyucu veya terapötik yaklaşımların denenmesine

olanak vermektedir (İrer ve Alper 2004). İn vivo deneyler, insanlarda görülen hastalıkların deney hayvanlarında oluşturulması ile çalışılır. Hayvanlarda beslenme veya toksik maddelerle istenilen organlarda patolojik değişiklikler yapılabilmektedir. Pankreasta oluşturulan hasara bağlı olarak diabet modellerinin geliştirilmesi bunlardan bir tanesidir (Öntürk ve Özbek 2007). Deneysel diabet oluşturma modellerinde; fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster, maymun, domuz, köpek ve kedi gibi deney hayvanları diabet oluşturmak amacıyla kullanılabilir ve diabet oluşturulması kimyasal ajanlarla, spontan olarak yapılabilmektedir. Kimyasal ajanlarla diabette Alloksan ve Streptozotosin, bu amaçla en çok kullanılan kimyasal ajanlardır (Öntürk ve Özbek 2007; İrer ve Alper 2004).

Streptozotosin (STZ), N-(Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glucosamine yapısındadır, ışıktan korunmalıdır. Nötral pH'da hızla dekompoze olduğundan optimum stabilitesi için ortamın pH'sı 4-4.5 olmalıdır. Bu nedenle STZ çözündürülürken sitrat tamponu kullanılmalıdır (Öntürk ve Özbek 2007). Streptozotosin (STZ), pankreasta bulunan ve insülin üreten β -hücrelerinde oksidatif stres yolu ile hasar oluşturarak bu hücrelerin insülin üretme kapasitesinde azalmaya sebep olarak hiperglisemik bir durumun ortaya çıkmasına neden olan diabetojenik bir ajandır. Diabette hiperglisemi, hücrelere glukoz girişi ile dokuların glukoz kullanımının azalması ve karaciğerde glikoneogenez yolu ile glukoz üretiminin artması sonucu gelişir (Demir ve Yılmaz 2014). Yetişkin sıçanlarda tek doz (40-60 mg/kg) damar içi yolla STZ uygulamasının insüline bağımlı diabete, yeni doğmuş sıçanlara tek doz periton içi veya damar içi yolla 100 mg/kg STZ uygulamasının ise insülininden bağımsız diabete neden olduğu bildirilmiştir (Öntürk ve Özbek 2007).

2.5. *Nigella sativa* L. (Çörek Otu)

Günümüzde hayvan ve insan sağlığının korunması amacıyla kullanılan ilaçların ve kimyasal maddelerin risk oluşturması nedeniyle beşeri ve veteriner hekimlik ile gıda ve çevre alanlarında yapılan araştırmaların pek çoğu hem hastalıkların tedavisinde hem de koruyucu hekimlikte bitkisel ürünlerin kullanımını teşvik etmektedir (Bacak ve Avcı 2013). *Nigella sativa* L., *Ranunculaceae* familyasının türü olup, bir yıllık otsu bir bitkidir. (Tanbek 2011; Bacak ve Avcı 2013). Ülkemizde siyah tohum, siyah kimyon veya bereket tanesi olarak bilinmektedir (Bacak ve Avcı 2013). Türkiye'de çörek otunun 12 kadar türü

bulunmaktadır. Bunlar arasında *Nigella sativa* ve *Nigella damascena* kültürü yapılan en önemli iki çörek otu türüdür (Işık 2009). Türkiye’de tarımı yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde yapılmaktadır (Kar ve ark. 2007).

Nigella sativa L. gür, kendinden dallanan, beyaz veya açıktan koyuya doğru mavi çiçekleri olan, 30-40 cm boyunda bir bitkidir (Işık 2009; Kaya 2011). Meyve kapsülü çok sayıda beyaz, trigonal tohumlardan oluşmaktadır. Meyve kapsülü olgunlaştığı zaman açılır ve içindeki tohumlar havayla temas ederek siyahlaşır. Bu bitkinin aktif bileşenlerinin kaynağı, tohumudur (Kaya 2011). Tohumlar 2-3 mm boyunda ve siyah renklidir (Tanbek 2011).

Çörek otu ve tohumundan elde edilen preparatlar, geleneksel tıbbi tedavilerde, pek çok hastalığın tedavisi için kullanılmaktadır (Mert ve ark. 2000; Bacak ve Avcı 2013). Eski Mısır ve Yunan doktorları tarafından baş ağrısı, diş ağrısı, nazal konjesyon ve barsak kurdu tedavisinde, menstrüasyonu desteklemek amacıyla, diüretik olarak ve doğum sonrası dönemde süt yapımını artırmak amacıyla çörek otu tohumları kullanılmıştır.

Orta ve Doğu Asya’da astım, baş ağrısı, dizanteri, infeksiyonlar, obezite, sırt ağrısı, hipertansiyon ve gastrointestinal problemler gibi çok sayıdaki hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Dünya genelinde egzema gibi cilt hastalıklarında kullanımı oldukça kabul görmektedir. Toz haline getirilen tohumlar doğrudan, apse ve nazal ülserler, orşit ve romatizmal hastalıkların tedavisinde uygulanmıştır (Kaya 2011).



Şekil 2.3. *Nigella sativa* L. (https://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa 2015)

2.5.1. *Nigella sativa* L. 'nın Kimyasal Özellikleri

Bölgenin iklimine göre farklılık göstermekle birlikte *Nigella sativa* L. (NS) tohumlarının yapısında, uçucu yağlar (% 0.4-0.45), sabit yağlar (% 32-40) proteinler (% 16-19.9), lifler (5.5%), karbonhidratlar (% 33.9), mineraller (% 1.79-3.44), vitaminler, alkaloidler, tanenler, saponinler bulunmaktadır.

Sabit yağın yapısında doymamış yağ asitlerinden oleik asit, linoleik asit, eikozadienoik ve araşidonik asit bulunurken, doymuş yağ asitlerinden ise miristik asit, palmitik asit ve stearik asit bulunmaktadır. Uçucu yağın yapısında ise nigellon, karvakrol, p-cymene, d-limonen, α ve β -pinen'in yanı sıra farmakolojik olarak aktif temel bileşenlerden başlıca thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinone, thymol yer almaktadır. Bunların yanında çörek otunda enzim fonksiyonlarında kofaktör olarak rol oynayan kalsiyum, potasyum, demir, çinko, magnezyum, selenyum ve vitaminlerden A, B1, B2, B3, B6, B9 ve C vitaminleri bulunmaktadır (Işık 2009).

2.5.2. *Nigella sativa* L. 'nın Etki Mekanizması

Nigella sativa L. bitkisinin yağı ve ekstraları birçok farmakolojik etki göstermektedir (Varol 2008). Yapılan farmakolojik çalışmaların sonucunda çörek otu tohumu ve bileşenlerinin antikanserojenik, antitümöral, antidiabetik, antiülserojenik, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, analjezik, antioksidan, hipoglisemik ve immun sistem güçlendirici etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Kaya 2011; Bacak ve Avcı 2013).

2.5.2.1. Antidiabetik Etkisi

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) araştırma komitesi, 1980 yılında diabet tedavisi için tamamlayıcı tıpta kullanılan hipoglisemik ajanların araştırılmasını önermiştir. Bu amaçla, hipoglisemik, enfeksiyon önleyici ve immunmodülatör etkilerinden ötürü *Nigella sativa* L. (NS) yağı, deneysel diabetik nefropatide kullanılmıştır. Kan glukozu ve HbA1c değerlerini düşürdüğü gözlenen NS yağının hipoglisemik etkisinin mekanizması netleştirilememiştir. Karaciğerin glukoz üretimini azalttığı, intestinal glukoz absorpsiyonunu önlediği, oksidatif stresi azaltarak pankreasta beta hücre rezervini koruduğu bildirilmiştir (Peynirci 2010).

Streptozotosin ile diabet modeli oluşturulan sıçanlarda *Nigella sativa* L. tohumlarıyla tedavinin (0.20 ml/ kg, 30 gün; i.p.) yüksek serum glukozunu düşürdüğü, düşük serum insülin konsantrasyonunu artırdığı ve pankreatik β hücrelerinin parsiyel rejenerasyon/proliferasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir (Varol 2008).

2.5.2.2. Antioksidan Etkisi

Sabit ve uçucu yağların esas komponenti olan *Nigella sativa* L. (NS)'nin içindeki timokinon'un lipozomlardaki non-enzimatik lipid peroksidasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Yapılan in vitro çalışmalarda, bu bileşiklerin çeşitli antioksidan etkilerine karşın prooksidan etkilerinin olmadığı bildirilmiştir. NS yağının içindeki bu farklı bileşiklerin birbirlerini destekleyici etkilerinin olması farmakolojik çalışmalarda tohumdaki tüm yağın kullanılmasını önemli kılmaktadır. NS'nin birden çok faktörle ilgili antioksidan etkisi demir-kompleks aktivitesini kapsar gözükmemektedir. Serbest radikallerin birçok hastalık ve metabolik bozuklukların gelişimi ile ilişkili olması güçlü bir antioksidan olan NS'nin tamamlayıcı tıpta kullanılabileceğini düşündürmektedir (Salem 2005).

2.6. Oksidan-Antioksidan Sistem

Oksijen, aerobik organizmalarda, enerji üretiminde, metabolik transformasyonlarda kullanılır ve canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olmasına rağmen potansiyel olarak da toksik bir moleküldür (Keskin 2013; Mert 2013). Bu canlılarda oksijen indirgenerek, fizyolojik süreçlerde üretilen ve doku anabolizma-katabolizmasının doğal bir parçası olan reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) oluşur (Keskin 2013; Mert 2013). Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu, reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (Özalp 2013).

2.6.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, miyokardiyal enfarktüs, kanser, diabet, alerji, katarakt, infertilite, solunum, sinir ve üriner sistem hastalıkları gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynayan ve bu nedenle son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan konular arasında yer almaktadır (Aydilek ve Aksakal 2003; Kağa 2006).

Serbest radikaller; dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, yüksek enerjili, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük, çok etkin moleküller olarak tanımlanır (Mert 2004; Özalp 2013). Eşlenmemiş elektron nedeniyle kararsız yapıda bulunan serbest radikal molekülünün, kararlı hale geçebilmek için elektronunu başka bir elektron ile eşletirmesi gerekmektedir (Johansen ve ark. 2005). Bu bileşikler de etrafındaki moleküllerle etkileşime girerek, elektron alarak en kısa zamanda diğer moleküllerle kararlı bir hale geçmek isterler (Aydilek ve Aksakal 2003; Sarıbel Kanber 2012). Radikallerle reaksiyona giren moleküllerin bir elektronu azaldığı için onlar da reaktif hale gelir ve bu reaksiyon zincirleme olarak devam eder (Aydilek ve Aksakal 2003). Serbest radikaller fazla miktarda olduğu zaman proteinlerde, nükleik asitlerde hasara yol açar. Lipidlerde peroksidasyona neden olarak hücresel fonksiyonları bozarlar. Lipid peroksitleri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşür (Tola 2014).

Serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında oluşabildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir. Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen kaynaklar; mitokondriyal elektron transport zinciri, kloroplast elektron transport zinciri, oksidan enzimler, fagositik hücreler, oto-oksidasyon reaksiyonları. Ekzojen kaynaklar; İlaç oksidasyonları, iyonize radyasyon, güneş ışığı, X ışınları, UV ışınları, sigara, ozon vb (Tekkes 2006).

2.6.2. Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir (Memişoğulları 2005). Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (Özalp 2013).

Antioksidanlar dört farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler.

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki, enzimler aracılığıyla yapılır.

2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidantlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki, vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma etkisi: Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi.

4. Zincir koparma etkisi: Oksidantları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Memişoğulları 2005; Sayılan 2008).

Antioksidanlar eksojen ve endojen kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılır (Tola 2014). Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-s-transferaz (GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz. Enzim olmayan endojen antioksidanlar, melatonin, seruloplazmin, transferin, ferritin, hemoglobin, miyoglobin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, albümin'dir. Eksojen antioksidanlar; α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat) , ilaçlar ve gıda antioksidanları'dır (Çolak 2010).

2.6.3. Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum özetle, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Altan ve ark. 2006).

2.7. Apoptozis

Organizmada sürekli bir denge söz konusudur. Yeni hücreler sentez edilirken, var olan hücrelerin bir kısmı hücre ölümü ile ortadan kaldırılmakta ve böylece denge korunmaktadır. Hücre ölümünün iki tipi vardır, bunlar apoptozis ve nekrozdur. Her ikisinde de düzenli olarak birbirini izleyen biyokimyasal ve

morfolojik olaylar sonucu hücre ölümü meydana gelir. Hücre proliferasyonu nasıl ki mitoz ile belirlenmekte ise de belirli bir dokuda olması gereken hücre sayısı da apoptozis ile belirlenir (Tuncel 2013).

Apoptozis, Yunanca apo (ayrı) ve ptosis (düşen) kelimelerinden oluşan, ilk olarak 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie adlı patologlar tarafından kullanılan bir terimdir (Turgut ve ark. 2006). Literatürde "programlanmış hücre ölümü, fizyolojik hücre ölümü, hücre intiharı, hücre kaybı" apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir (Tuncel 2013).

Apoptoz, hasta ve gerekmeyen hücrelerin kontrollü ve genetik olarak kontrol edilen bir mekanizma ile çevre hücrelere zarar verilmeden yok edilme olayıdır (Turgut ve ark. 2006).

Bütün yüksek canlılarda; embriyogenez, gelişme, hemostaz, rejenerasyon ve tamir olaylarında, organların büyüklüklerinin korunması ve organların patofizyolojisinde apoptoz kritik öneme sahiptir (Turgut ve ark. 2006). Embriyonik dönemde; ekstremitelerin ve içi boş organların oluşumunda, merkezi sinir sisteminin şekillenmesi, kan damarlarının sayısının azaltılması, fötusun cinsel gelişimi sırasında duktus sisteminin gerilemesi apoptoz ile gerçekleşir (Vaux ve Korsmeyer 1999). Postnatal hayatta; kemik iliğinde kan üretiminin dengede tutulması, menstruasyon sırasında endometriumun fonksiyonel tabakasının dökülmesi, menstruel siklus sonunda korpus luteumun involusyonu apoptoz ile gerçekleşir. İnce barsaklardaki kriptaların tabanlarında yeni oluşan hücreler de, zamanla kriptaların uçlarına göç ederler ve apoptoz sonrasında barsak boşluğuna dökülürler. Deri hücreleri de derinin bazal tabakasında oluştuktan sonra derinin en üst tabakasına doğru göç ederler. Bu göç sırasında derinin her tabakasında çeşitli farklılaşma özellikleri gösterip en sonunda organizmayı dış etkenlere karşı koruyan tabakayı oluşturmak üzere ölürler. İmmün sistemin çok önemli hücreleri olan T- lenfositler timusda olgunlaşırlar. Bu hücrelerin etkisiz olanları veya organizmanın kendi dokularına karşı reaksiyon verme potansiyeli taşıyanlar da kan dolaşımına girmeden önce apoptozla ölürler. Sütten kesilen dişilerin meme bezlerinde ve kastrasyon yapılan erkeklerin prostat bezlerinde de apoptoz gözlenir (Marti ve ark. 2001; Ford 2001).

Patolojik durumlarda diabet, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, bağışıklık sistemi hastalıkları, foliküler atrezi, viral enfeksiyonlar, tümör oluşumu,

AIDS, aterosklerozis, miyokard infarktüsü, organ transplantasyonları, oksidatif stres, alkolizm, X ışınları ve radyasyon canlıda apoptoza neden olur (Hughes ve Gorospe 1991; Blanch ve ark. 1999; Kannan ve Jain 2000).

2.7.1. Apoptozis ve Nekroz Arasındaki Farklar

Apoptozis, organizmada oluşan hücre ölümlerinin en sık nedenidir (Baykal ve ark. 1998). Nekroz ve apoptoz ile ölüm; morfolojik özellikleri, oluşumlarında yer alan biyokimyasal süreçler, tetikleyen mekanizmalar ve sonuçları açısından önemli farklar gösterir.

Apoptozisin nekrozdan farkları şunlardır; Nekrozda hücre içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişerken, apoptotik hücre tam tersine küçülmeler görülür. Nekrozda kromatin yapısı hemen hemen normal hücredeki görüntüye benzerdir, ama apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve yoğunlaşma şekillenir. Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir. Oysa apoptotik hücre membranı sağlamdır ve membran üzerinde küçük cepçikler oluşur. Nekrotik hücre lizise uğrar, ama apoptotik hücre küçük cisimciklere parçalanır. Apoptotik cisimcikler membranla kaplıdır, değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içerir. Nekrozda hücre içeriği dış ortama verildiğinden yangı oluşur, ama apoptozda apoptotik hücre veya cisimcikler komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden yangı oluşmaz. Nekrozda iyon dengesi kaybolur, apoptozda ise sıkı bir şekilde kontrol edilen enzimatik olaylar mevcuttur. Nekroz enerjiye ihtiyaç duymaz, pasif bir olgudur ve +4°C'de bile gerçekleşebilir. Apoptoz ise enerji gerektiren aktif bir olgudur ve +4°C'de gerçekleşemez. Agaroz jel elektroforezi yapıldığında, nekroz sırasında DNA'nın rastgele sindirimi mevcuttur. Oysa apoptozda rastgele olmayan, mono-oligonükleozomal parçalanma mevcuttur. Bu da Agaroz jel elektroforezde apoptoz için karakteristik, "ladder pattern" adı verilen merdiven görünümlü kırılmalar meydana getirir. Nekroz sırasında DNA, hücre bütünlüğü bozulmadan önce parçalanır. Ayrıca, apoptozda mitokondri tarafından stoplazmaya birçok faktör salınımı mevcuttur (Koçyiğit ve Çevik 2011).

2.7.2. Apoptozis Morfolojisi

Apoptotik hücreler özelleşmiş yapılarını ve diğer hücrelerle olan temas yüzeylerini kaybederler. Su kaybederek küçülüp büzüşürler. Sitoplazmanın yoğunlaştığı ve organellerin birbirine yaklaştığı gözlenir. Membranlar bütünlüklerini korurlar. Organeller ise genelde sağlamdır, bazen ribozomlarda çökme izlenebilir. Sitoplazmada yüzeye paralel olarak yerleşmiş olan mikroflaman kümeleşmeleri ve endoplazmik retikulumda geçici genişlemeler görülür. Dilatasyona uğrayan sisternalar hücrenin yüzeyi ile birleşerek yüzeyde krater manzarası oluştururlar ancak mitokondriler genellikle normal yapılarını korurlar. Morfolojik olarak en önemli değişiklikler nükleusta izlenir. Kromatin çekirdek membranına yakın kısımlarda yoğunlaşarak değişik şekil ve büyüklükte çöker. Elektron mikroskopik incelemede kromatinin yoğun granüler yarımay, hilal veya yüzük şeklinde çekirdek membranının iç yüzünde yerleştiği gözlenir. Çekirdekte hücre gibi büzüşür ve bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Nükleer porlar, kromatinin membrana komşu olmadığı bölgelerde yoğunlaşır. Apoptoz hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ışık mikroskopunda da izlenebilir. Hücreler koyu eozinofilik sitoplazmalı, bir veya birkaç parçalı piknotik çekirdekli olarak görünür. Çekirdek, kromatinin çekirdek membranının iç yüzüne yerleşmesi nedeniyle hilal veya yarımay şeklinde izlenebilir. Apoptotik süreç ilerledikçe hücrelerde sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Hücre daha sonra membranla çevrili küçük parçalara ayrılır. İçlerinde sitoplazma ve sıkıca paketlenmiş organeller ve bazılarında çekirdek parçaları da mevcut olan apoptotik cisimler meydana gelir. Apoptotik cisimler çevredeki parenkim hücreleri ve fagositler tarafından fagosite edilerek dokulardan temizlenirler (Turgut ve ark. 2006).

Hücrenin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu veya çevreden gelen sinyallerle apoptozis başlamaktadır (Erdoğan 2003). Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer olarak başlatılabilir ya da bir uyarı sonucu sekonder olarak gelişir. Hücre dışı uyaranlar arasında; tümör nekroz faktörü (TNF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktörü (NGF), insülin benzeri büyüme faktör (IGF), interleukin-2 (IL-2) gibi maddelerin ortamda azalması, glukokortikoidler, radyasyon, ilaçlar, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir. Otoimmün hastalık gelişiminde rolü olduğu belirtilen Fas/FasL, sFas proteinleri, virüslerde de (HIV gp120 proteini,

influenza virüsü TNF reseptörü üzerinden; adenovirüs hücre genetik yapısını bozarak) hücreyi apoptozise götürmektedir (Akşit ve Bildik 2008).

2.7.2.1. Apoptozis Mekanizması

Programlı hücre ölümünün moleküler mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hücrelerin genetik olarak belleklerinde var olan intihar programının çeşitli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi olaylarla aktive olmasıyla başlamaktadır. Ayrıca apoptoz mekanizması, uyarana ve hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Apoptozu etkileyen hücre içi uyaranlar genel olarak, büyüme faktörleri, onkojenler, tümör baskılayıcı genler olmak üzere üç ana grupta toplanabilir. Apoptozu etkileyen uyaranların bazıları şu şekilde sıralanabilir: Büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktör (TNF), TGF-B (Transforming Growth Factor), Fas/FasL sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör baskılayıcı gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyal enfeksiyonlar ve glukokortikoidler. Bunlardan özellikle proto-onkojenlerin çoğunun apoptozun düzenlenmesinde yer aldığı kanıtlanmıştır. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler de hafif dozlarda apoptoz meydana getirir. Apoptozda, hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de, bazen apoptoz dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi nekroz apoptoz gelimesine yol açabilir. Apoptoz süreci: DNA hasarına genlerin yanıtı, hücre membranı tarafından ölüm sinyallerinin alınması (Fas ligandı), hücreye doğrudan proteolitik enzim girişi (granzim) olmak üzere üç farklı şekilde ilerebilir. Bu süreçte belli başlı üç anahtar bileşen vardır. Bunlar: Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteindir. Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin kondensasyonu ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur.

Günümüzde, apoptoz sürecinde rolü olan biyokimyasal ve genetik komponentlerin aydınlatılmasıyla birlikte apoptozun aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yönelik çalışmalar; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi olanaklarını gündeme getirmektedir (Tomatır 2003).

2.7.3. Ovaryumda Apoptozis

Ovaryumda apoptozis, ilk kez 1885 yılında Flemming tarafından tavşan ovaryumunun graaf foliküllerindeki granüloza hücrelerinde gözlenmiş ve "kromatolizis" olarak adlandırılmıştır (Tilly 1996).

Ovaryumda hücre dejenerasyonunun gözleendiği başlıca iki safha vardır. Birincisi prenatal dönemdeki germ hücre dejenerasyonu diğeri ise postnatal dönemdeki foliküler atrezidir (Yıldız 2009). Folikül atrezisi olarak bilinen bu işlem apoptozdur ve folikül hücrelerinin ölümü genetik olarak belirlenmiştir. Memeli ovaryumunda foliküllerin ortaya çıkma işlemi foliküler dalgalanma süreci içerisinde proliferasyon, farklılaşma ve atrezi arasında kompleks bir etkileşim sonucunda meydana gelir (Koçyiğit ve Çevik 2011).

Gonadotropinler (FSH, LH), ovaryum foliküllerinin büyümesi ve gelişmesi için gereklidir. Preovulatuvar safhada gonadotropin artışı bloke edilir veya hipofizektomi sonrası serum gonadotropinleri azalır, foliküller atreziye maruz kalır. Diğeri folikül yaşamsal faktörleri olarak; Epidermal Growth Factor (EGF), Transforming Growth Factor (TGF), Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF), Interleukin-1 (IL- 1), Growth Hormone (GH) ve proapoptotik faktörler olarak da Tumour Necrosis Factor-alfa (TNF- α), Fas Ligand ve GnRH sayılabilir. Bunlardan IGF-1 folikül apoptozu üzerinde etkiliyken, Aktivin granüloza hücre apoptozu üzerinde inhibe edici etki gösterir. Folikül yaşamı ve atrezisi üzerinde etkili diğeri önemli regülâtörler seks steroidleridir.

Apoptoz, ovaryumda oositler adına patolojik bir durumun oluşmasına sebep olan ve normal olmayan foliküler gelişim sürecinin çok önemli bir parçasıdır. Apoptoz, aynı zamanda korpus luteumun (CL) luteolizisini de sağlayan mekanizmadır. Granüloza hücreleri, folikülogenezde apoptozdan ilk etkilenen hücrelerdir. Antral foliküllerdeki granüloza hücrelerinde apoptozun başlaması hormonal kontrol ile birlikte parakrin ve/ testiküler germinal hücre apoptozunun hormonal kontrol altında gerçekleştiği bildirilmiştir.

Teka hücrelerinde ise apoptoz geciktirilmiş görünmekle beraber, ovaryumdaki bu hücre de apoptozu uğramaktadır. Foliküler gelişimin primordial ve preantral safhalarında ise apoptozdan ilk etkilenen hücre oositir. Parakrin

faktörlerin, oosit apoptozunu uyardığı düşünülmektedir. Bu faktörlerin varlığı, foliküler aşamada gelişim yetersizliği olan oositlerin maturasyonunu engelleyen bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. Sürecin anahtar molekülleri ise EGF/TGF- α , FGF, Inhibin/ Activin ve c-kit/KL' dir (Koçyiğit ve Çevik 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'nun 31.12.2013 tarih ve 2013/206 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak yapıldı. Çalışma bütçesi Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 141318002 proje no'lu kararı gereğince karşılandı.

Çalışmaya *Wistar albino* türü 4 aylık 250-300 gr ağırlığında erişkin dişi ratlar alındı. Deneyler süresince ratlar saatte 15 kez hava değişimi \pm (20) °C, % 30-40 nisbi nem, düzenli olarak 12 saat gece 12 saat gündüz periyodunda, su ve yemde kısıtlama olmaksızın, her bir kafeste en fazla 5 adet rat olmak koşuluyla barındırıldı. Deneysel hayvanlarına yapılmış olan tüm deneysel ve cerrahi işlemler Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'nun belirlemiş olduğu kurallara uyularak yapıldı.

Kimyasal yolla deneysel diabet oluşturabilmek amacıyla Streptozotosin (STZ) kullanıldı. Diabet ve Diabet + *Nigella sativa* L. (Origo) yağı gruplarını oluşturacak olan 14 adet rat için pH'ı 4,5 olan 0,01 M sodyum sitrat tamponunda çözülmüş Streptozotosin (STZ) 50 mg/kg tek doz intraperitoneal (i.p.) enjekte edildi. Enjeksiyonu takip eden 3. gün ratların kuyruk venasından alınan bir damla kandan kan glukoz seviyeleri, glukometre (eBsensor şeker ölçüm cihazı) kullanılarak ölçüldü ve kan glukoz seviyesi 270 mg/dl'den fazla olan 14 dişi rat diabet olarak değerlendirilip ayrıldı (Cuce ve ark. 2011).

Deneysel hayvanları birinci grupta 7, ikinci grupta 7 ve üçüncü grupta 7 adet rat olmak üzere üç gruba ayrıldı.

Grup 1 (kontrol grubu, n:7): Bu gruptaki ratlara 30 gün boyunca, haftada 6 gün 0,2 mg/kg/gün serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 2 (diabet grubu, n:7): Tip 1 diabet oluşturulan bu gruptaki ratlara 30 gün boyunca, haftada 6 gün 0,2 mg/kg/gün serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 3 (diabet + çörek otu yağı grubu, n:7): Tip 1 diabet oluşturulan bu gruptaki ratlara 30 gün boyunca, haftada 6 gün 0,2 mg/kg/gün *Nigella sativa* L. (çörek otu) yağı intraperitoneal olarak uygulandı (Abdelmequid ve ark. 2010).

Deney bitiminde Ketalar-Rompun anestezisi altında her hayvandan 4-6 ml arası kan, antikoagülanlı tüpe aktarıldı ve santrifüj sonucu elde edilecek serumda, Lipid Peroksidasyonu–Malondialdehit (MDA) seviyeleri, Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite parametreleri, Total Antioxidant Status (TAS) ve Total Oxidant Status (TOS) değer ölçümleri, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı'nda gerçekleştirildi.

Deney bitiminde Ketalar-Rompun anestezisi altında her hayvandan sağ ve sol ovaryumları alındı ve %10'luk formalin içinde tespit edildi. 2 gün sonra rutin histolojik takip yapılarak, dokular parafin bloklara alındı. Tüm ovaryum dokularından 3 µm kalınlığında parafin kesitler alındı. Kesitlere Nuclear Factor kappa-B (NF-κB) ve X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein (XIAP) antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyamaları gerçekleştirildi. Ayrıca ovaryum kesitlerinden stereolojik bir metodla her bir rat için sağ ve sol ovaryumların hacimleri ölçülerek, gruplar arasında herhangi bir fark olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirildi. Preparatların hazırlanması, histolojik değerlendirmeler ve ölçümler, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Biyokimyasal Çalışma

Deney bitiminde Ketalar-Rompun anestezisi altında her hayvandan 4-6 ml arası kan, anti koagülanlı tüpe aktarıldı ve Hettich marka santrifüj cihazında 4000 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve ayrılan serum numuneleri -80 °C'de çalışma sonunda örnekler çalışılincaya kadar saklandı, Lipid Peroksidasyonu–Malondialdehit-MDA (BioVision, Kaliforniya, ABD) seviyeleri, Süperoksit dismutaz-SOD (Cayman, Michigan, ABD) enzim aktivite parametreleri, Total Antioxidant Status-TAS (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) Test Kiti ve Total Oxidant Status -TOS (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) Test Kiti değer ölçümleri, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya ABD'nda gerçekleştirildi. Tüm kitler Bio-rad Mikroplateabsorbans okuyucu xMark

(Bio-radLaboratories, Kaliforniya, ABD) sistemi kullanılarak absorbanz konsantrasyon kalibrasyon grafiklerine göre hesaplandı.

3.2. İmmünohistokimyasal Çalışma

İmmünohistokimya için Nuclear Factor kappa-B (NF- κ B) kiti (p65 Bioss) ve X-linked Inhibitor of Apoptosis Proteinin (XIAP) kiti (BIRC4 Bioss), primer antikoru 1/200 oranında antikor diluent ile sulandırılarak kullanıldı.

1) Ovaryum kesitleri immünohistokimyasal boyama için 16 saat 60 C°'lik etüvde tutuldu.

2) 15'er dakika iki değişim ksilol ile deparafinize edildi.

3) Absolü ve %96 'lık azalan dereceli alkol serilerinden geçirildi.

4) Distile suda kesitler yıkandı.

5) Kesitler mikrodalga fırına dayanıklı plastik şale içinde, tampon solusyon %10'luk Citrat Buffer içinde (10 cc Citrate Buffer, 90 cc Distile Su) 600 watt'lık mikrodalga fırında 5'er dakikalık periyotlarla 3 kere bekletildi. Her çıkarmada 1-2 dk soğutuldu. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 30 dakika soğumaya bırakıldı.

6) 5 dakika PBS (Phosphate Buffered Saline)'de yıkandı.

7) Endojen peroksit kaynaklı non spesifik zemin boyanmasını azaltmak amacıyla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dakika muamele edildi.

8) Distile suda kesitler yıkandı.

9) 5 dakika PBS'de yıkandı.

10) Kesitlere 10 dakika Scy Tek marka Ultra V-Blok (Protein blokajı) uygulandı.

11) 1/200 oranında sulandırılmış primer antikorlar (NF- κ B, XIAP), ile bir saat inkübe edildi.

12) 5 dakika PBS'de yıkandı.

13) 20 dakika Ultra Tek Anti-Polvalent Biotinylated sekonder antikor uygulaması yapıldı.

14) 5 dakika PBS'de yıkandı.

15) 20 dakika kromojen (Scy Tek marka AEC Substrat System, 20 ml AEC kromojen + 1 ml AEC substrat) dokulara uygulandı.

16) Distile suda yıkandı.

17) 5 dakika Mayer's Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. 3 dakika çeşme suyunda yıkandı.

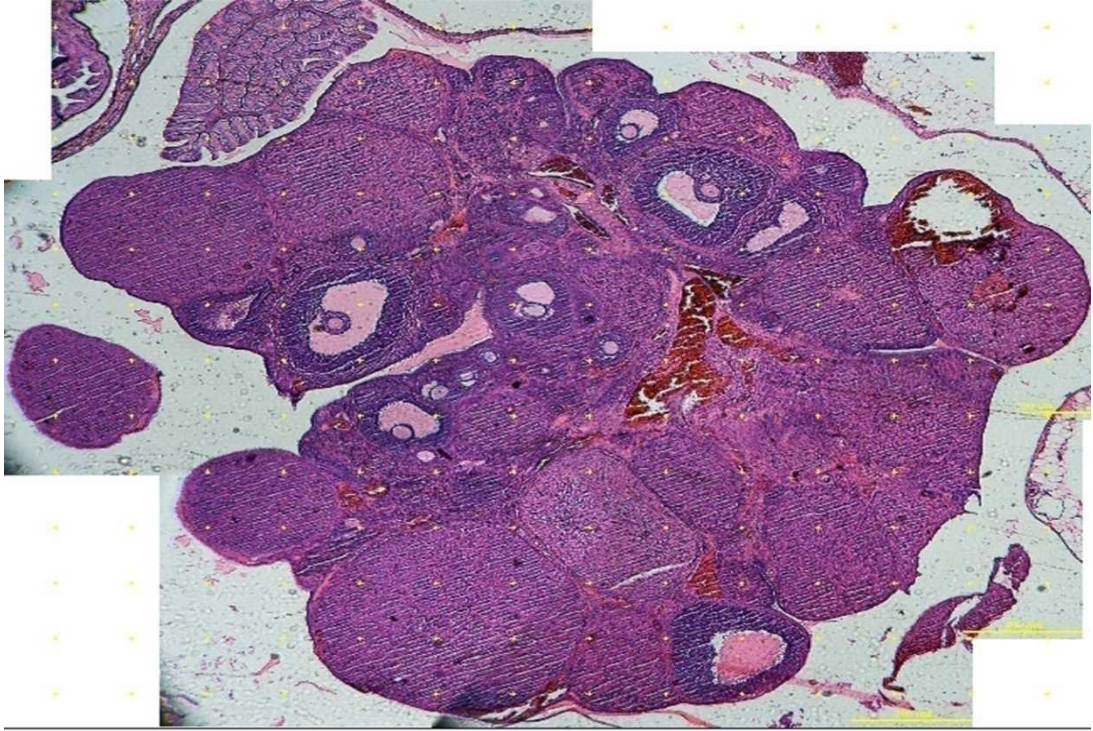
18) DPX Mountant (Biostatin Ready Reagents) kapama maddesi ile kapatıldı.

19) Her bir olgu için hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.1. İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyanma ovaryum dokusunda, NF- κ B ve XIAP boyanma lokalizasyonları, folikül ve oositler için ayrı ayrı değerlendirildi. Boyanmanın yaygınlığı ve yoğunluğu kaydedildi. Boyanma yaygınlığı belirlenirken, folikül ve oositlerde boyanma yok ise negatif (-), hafif şiddette boyanma var ise hafif şiddette (+1), orta şiddette boyanma mevcut ise orta şiddette (+2), şiddetli boyanma gözlemleniyse şiddetli (+3) boyanma olarak folliküller değerlendirildi. Şiddetine göre yapılan skorlama sonucu, gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel yönden incelendi (Zık ve ark. 2010).

3.3. Stereolojik Çalışma



Resim 3.1. Stereolojik çalışmada örnek kesit. Sarı renkli noktali alan cetveli atılmış Grup 2'ye ait bir kesit izlenmektedir, $d=0.3 \text{ mm}^2$ (H&E X4).

Stereolojik dizayn: Ovaryum hacimlerinin hesaplanmasında, doku örneklenmesi, alınan iki örnek kesit arasındaki mesafenin belirlenmesi, ovaryum yüzey alanlarının belirlenmesi ve son olarak toplam hacimlerin belirlenmesi basamaklarının yer aldığı Cavalieri prensibi kullanıldı.

Dokuların örneklenmesi: Üzerinde analiz yapılacak doku kesitleri sistematik rastgele örnekleme prensibi kullanılarak belirlendi. Bu amaçla mikrotom tutucusuna yerleştirilen parafin bloklardan 3μ kalınlığında, dokunun başladığı ilk kesit alındı, bu kesiti izleyen her kırkuncu kesit alındı ve işlem doku bitinceye kadar tekrarlandı. Bu işlem sonucunda ovaryumlardan sayıları 11 ile 19 arasında değişen seri kesitler alındı. Alınan örnek kesitler hemotoksilen-eozin (H&E) ile boyandı ve kapatıldı. Boyanmış dokular mikroskop altında farklı noktalarda mikrokator yardımıyla kesit kalınlığı ölçülerek ortalama kesit kalınlığı 3μ olarak belirlendi. Bu işlem sonucunda alınan iki örnek kesit arasındaki mesafe (t) 120μ olarak belirlendi. Bu işlemi takiben her bir ovaryumdan alınan örnek kesitler sıralamalarına uygun olarak mikroskopun 4'lük objektifi kullanılarak resimlendi, aynı kesite ait görüntüler birleştirildi ve bilgisayara yüklendi.

Alan ve hacim hesaplamaları: Kesitlerde ovaryum alan hesaplamaları point counting method kullanılarak yapıldı (Bolat ve ark. 2011). Bu amaçla her bir ovaryumdan alınan seri kesit resimleri İmagej programında açıldı ve kalibre edildi. Resimler üzerine programın grit fonksiyonu kullanılarak her bir noktanın temsil ettiği alanın 0.3 mm^2 olan grit rastgele atıldı. Kesitlerde ovaryum dokusuna isabet eden noktalar ayrı ayrı sayıldı ve kaydedildi. Bu işlem üç defa tekrarlandı ve elde edilen üç değerın ortalaması alınarak isabet eden toplam nokta sayısı belirlendi. Ovaryum hacimleri formül 1 kullanılarak hesaplandı.

$$V = t \times a(p) \times \Sigma p \text{ (Mayhew ve Gundersen 1996) Formül 1}$$

Bu formüldeki V = ilgilenilen ovaryum hacmini, t = analiz için kullanılan iki kesit arasındaki mesafeyi (120μ), $a(p)$ = gritlerde yer alan her bir noktanın temsil ettiği alanı (0.3 mm^2) ve Σp = ovaryum dokusuna ait her kesite isabet eden nokta sayısını gösterir.

Cavalieri prensibi kullanılarak yapılan volumetrik hesaplamalarda hesaplanan hata katsayısı çalışmanın güvenilirliğini gösteren önemli bir parametredir ve bu değerinin %10'dan küçük ya da eşit olması tercih edilmektedir (Gundersen ve Jensen 1987; Gundersen ve ark. 1999; Garcia-Finana ve ark. 2003). Stereolojik araştırmalarda hata katsayısı hesaplamasında birden fazla yöntem kullanılmaktadır (Ohm ve ark. 1997; Gundersen ve ark. 1999; Garcia-Finana ve ark. 2003). Çalışmanın hata katsayıları daha önceden bildirilen metoda göre hesaplandı (Gundersen ve ark. 1999).

4. BULGULAR

Tablo 4.1. Gruplar arası tüm ovaryum hacimlerinin ve kan glukoz seviyelerinin karşılaştırılması. (*P <0,05 Grup 2 ile karşılaştırılması, ‡P<0,05 Grup 1'le karşılaştırılması).

Gruplar	Ovaryum Hacmi (mm ³)	Kan glukoz Konsantrasyonu (mg/dl)
Grup 1	19,85±0,87	118,28
Grup 2	20,76±0,47	465,85 [‡]
Grup 3	18,44±0,51	307,42*

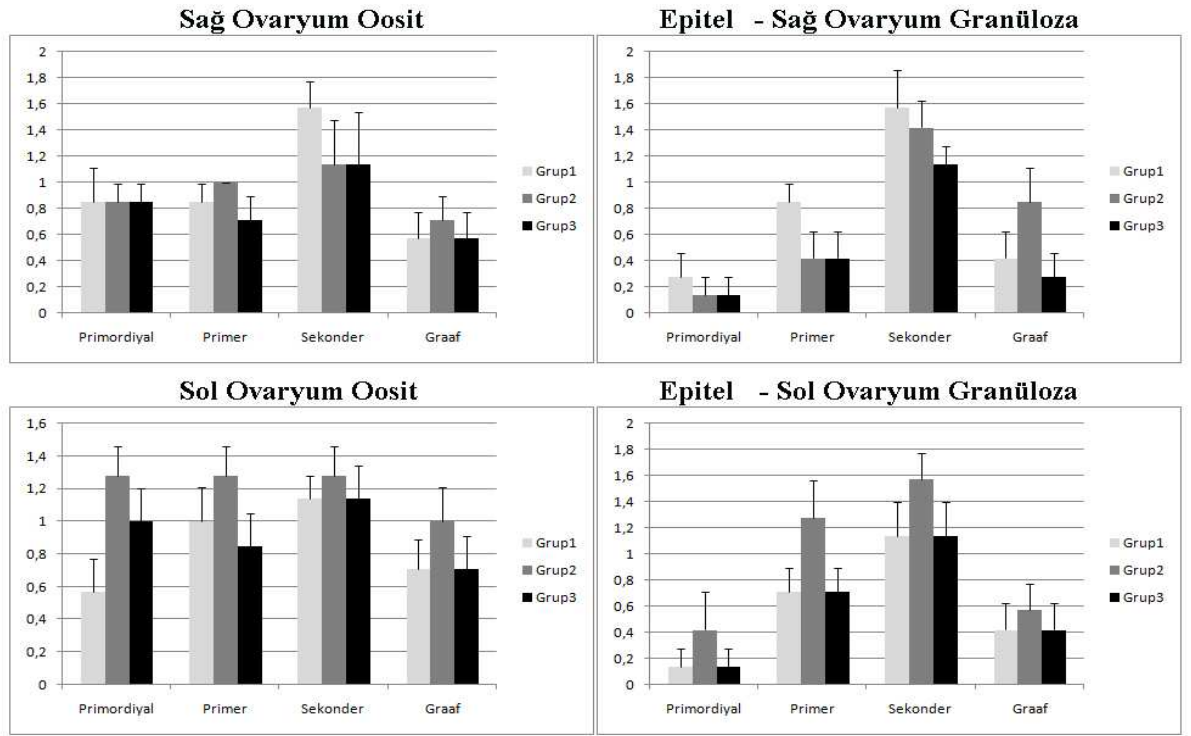
Sağ ve sol ovaryum hacimlerinin değerlendirilmesinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilememiştir. Kan glukoz değerleri arasında Grup 1- Grup 2 ve Grup 2- Grup 3 arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. Biyokimyasal değerlendirmelerin gruplar arası karşılaştırılması, farklı sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak farklı anlamlılığı ifade etmektedir.

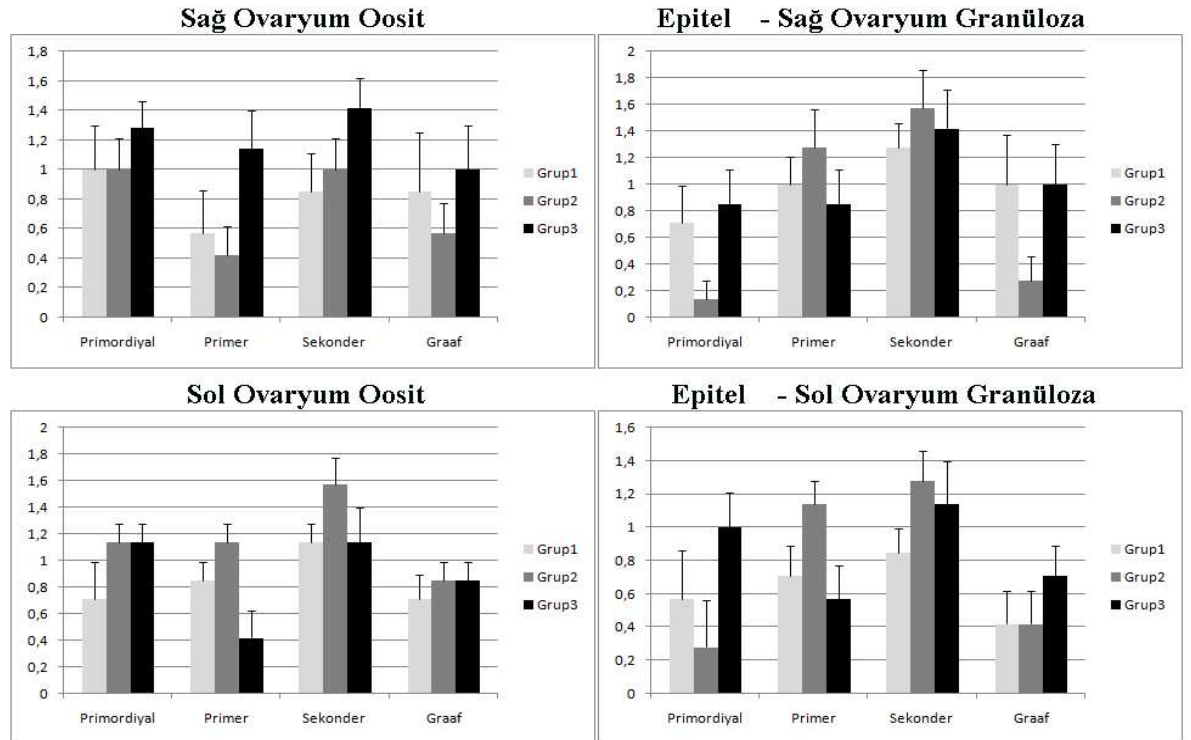
Gruplar	TAS	TOS	SOD	MDA	P
Grup 1	1,41±0,04 ^a	66,57±2,6 ^a	1,3±0,04 ^a	2,21±0,07 ^a	P<0,001
Grup 2	0,92±0,01 ^b	108,85±3,2 ^b	0,59±0,02 ^b	3,1±0,08 ^b	
Grup 3	1,18±0,04 ^c	82,29±2,8 ^c	0,95±0,03 ^c	2,71±0,06 ^c	

Biyokimyasal analizlerin değerlendirilmesinde; serum TAS ve SOD değerlerinin diabetli ratlarda azaldığı, çörek otu yağı verilen ratlarda ise yükseldiği belirlenmiştir. Serum TAS ve SOD değerlerinin 3 grupta da birbirinden anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir. Serum TOS ve MDA değerlerinin diabetik ratlarda yükseldiği fakat çörek otu yağı grubunda ise düştüğü gözlenmiştir. Serum TOS ve MDA değerlerinin 3 grupta da birbirinden anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir.

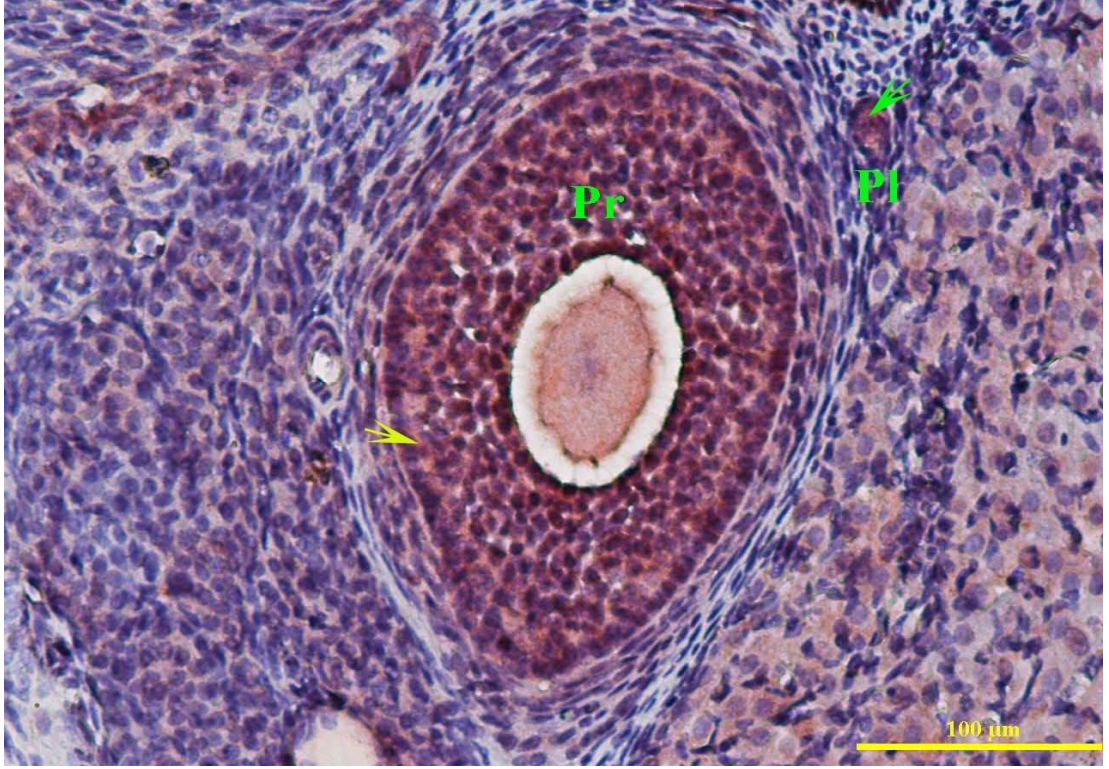
Gruplar arasında sol ovaryum oosit hücrelerinde NF-κB ekspresyonunda, primer foliküllerde Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır *:P<0,05. Diğer gruplar arasında oositlerde ve granüloza hücrelerinde XIAP ve NF-κB ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır.



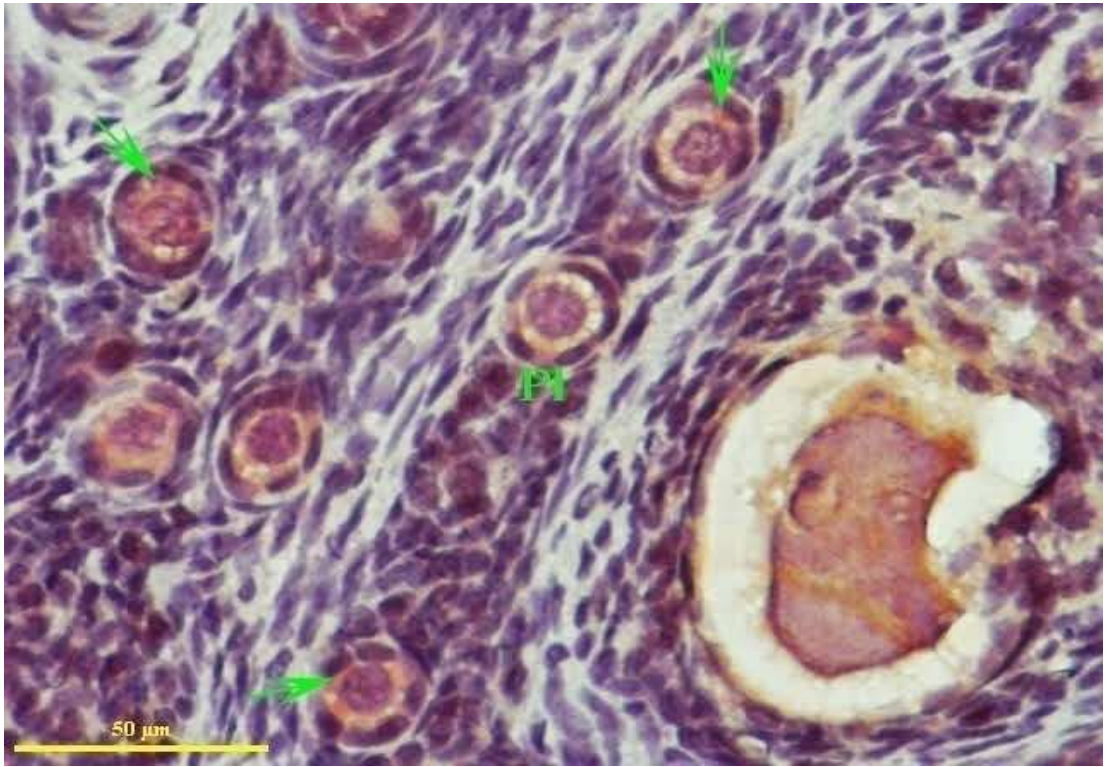
Grafik 4.1. Gruplar arasında XIAP ekspresyonunun karşılaştırılması, Tüm gruplarda foliküller arası $P > 0,05$.



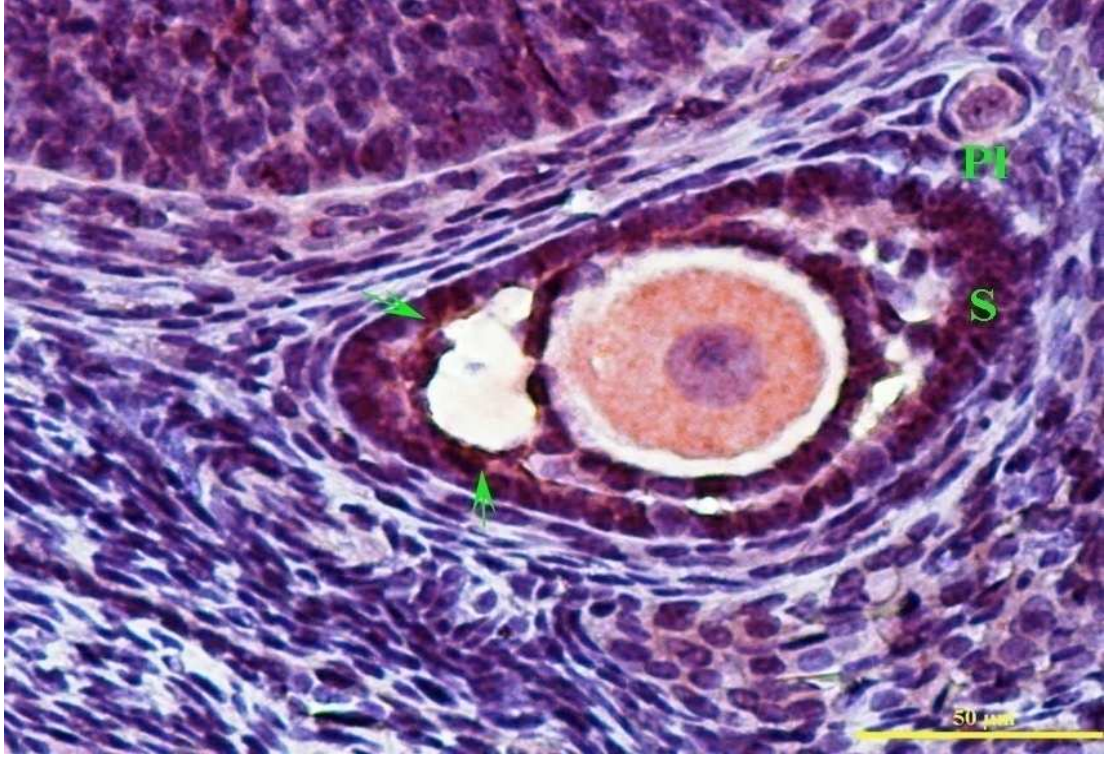
Grafik 4.2. Gruplar arasında NF- κ B ekspresyonunun karşılaştırılması, Sol ovaryumda primer folikül oositlerinde 2 grup arasında $*: P < 0,05$.



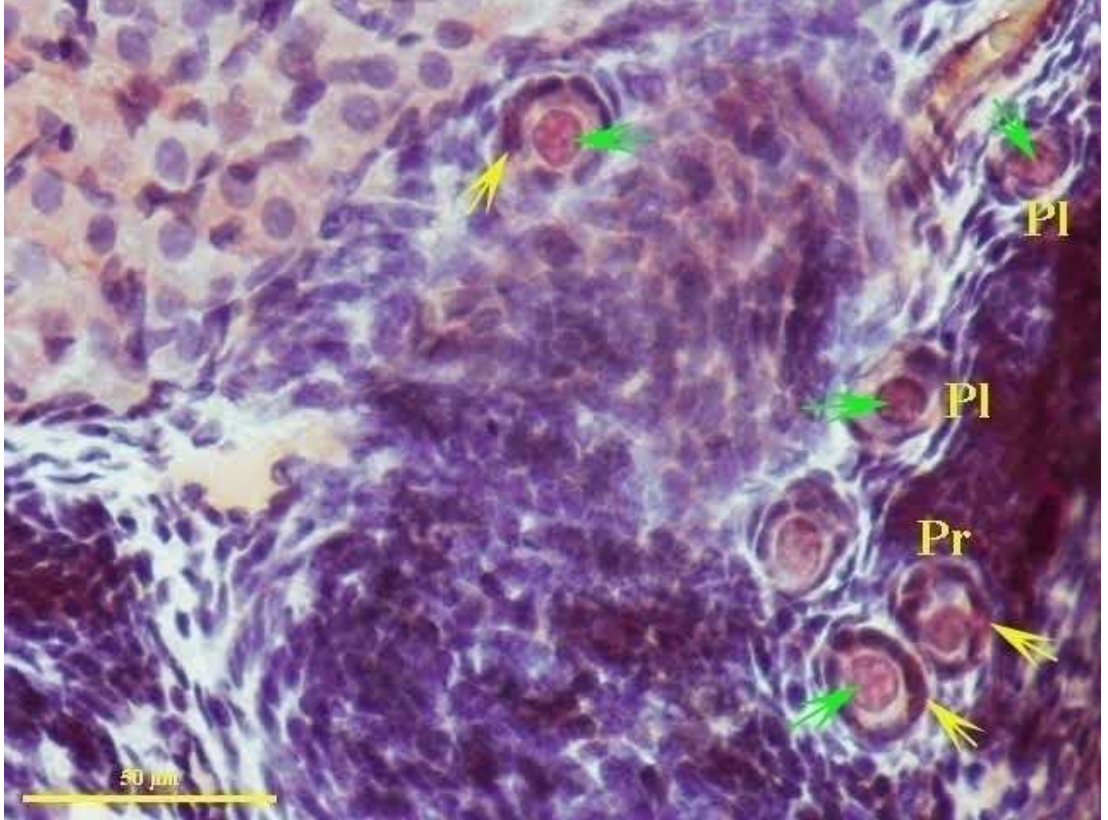
Resim 4.1. Grup 1'e ait bir kesitte XIAP ekspresyonu, Primer folikülde (Pr) ok granuloza hücrelerindeki, primordiyal folikülde ise ok oosit sitoplazmasındaki ekspresyonu göstermektedir.



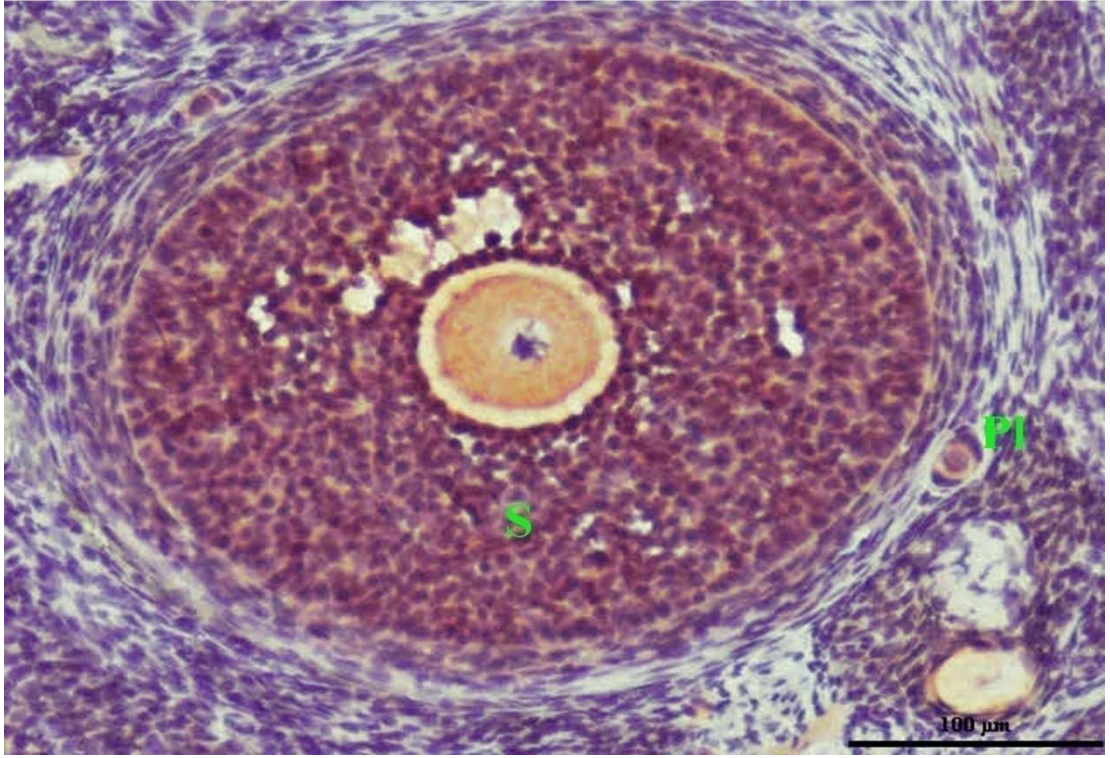
Resim 4.2. Grup 2'de Primordiyal (Pl) foliküllerde sitoplazmadaki XIAP ekspresyonu gösterilmektedir.



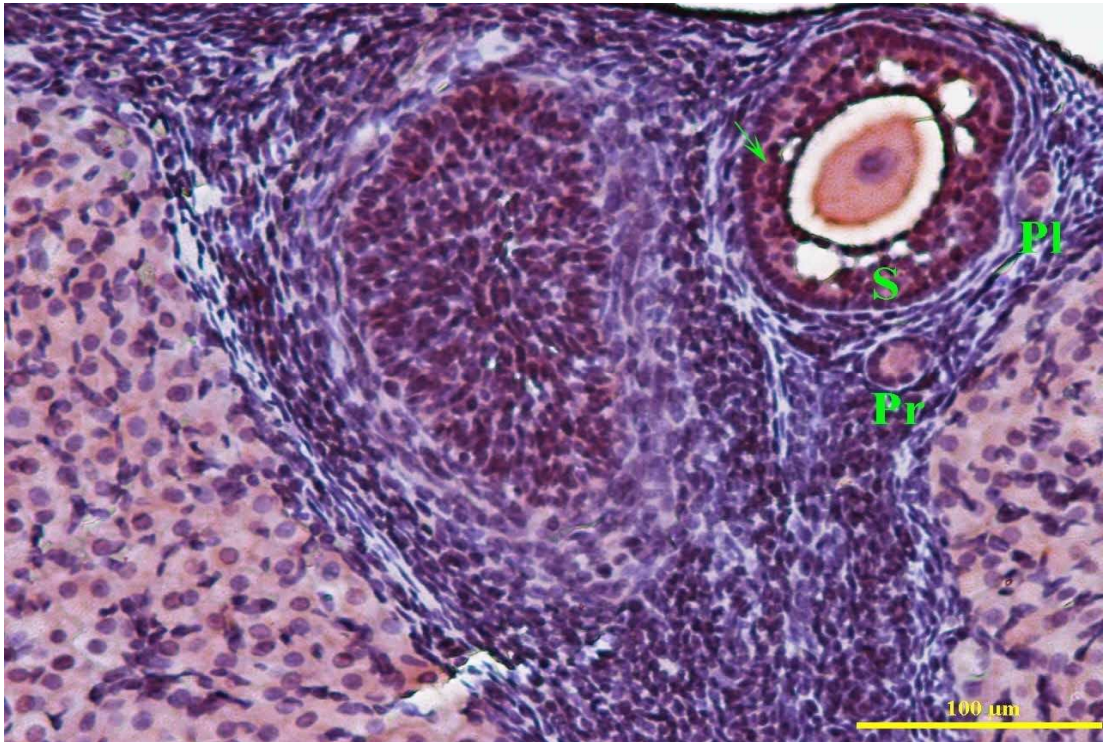
Resim 4.3. Grup 3'te Sekonder folikülde granüloza hücrelerinde XIAP ekspresyonu, primordiyal folikülde de negatif XIAP ekspresyonu gözlenmektedir.



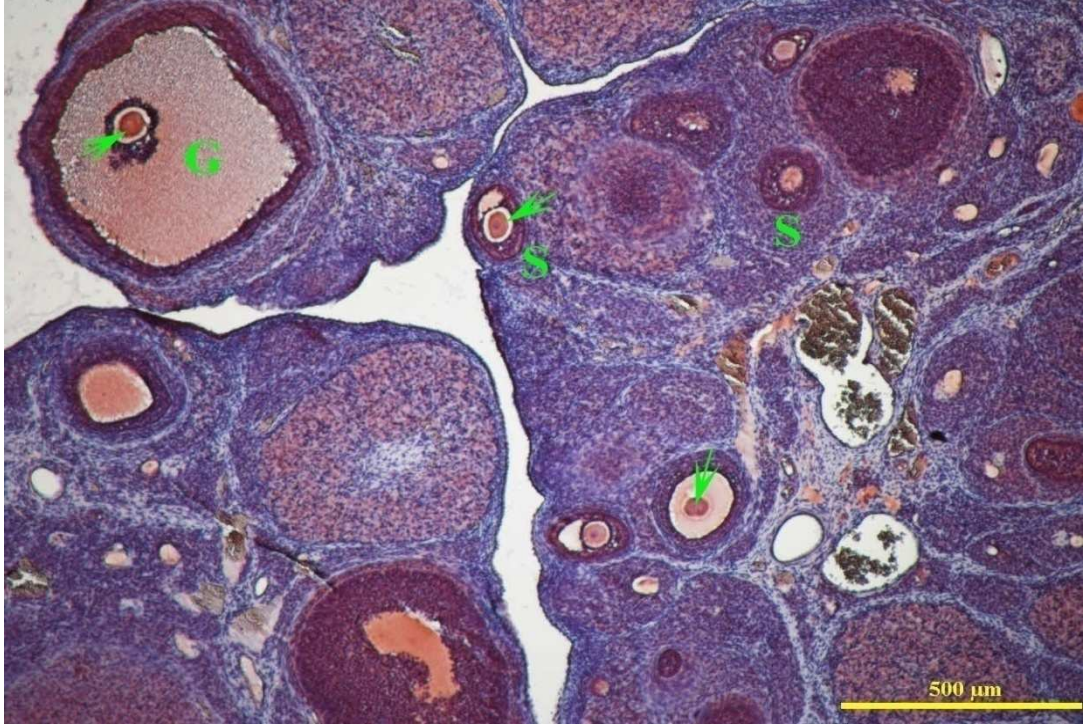
Resim 4.4. Grup 3'te sarı oklar epitelde, yeşil oklar ise çekirdekte XIAP ekspresyonunu göstermektedir. PI: Primordiyal ve Pr: Primer folikül.



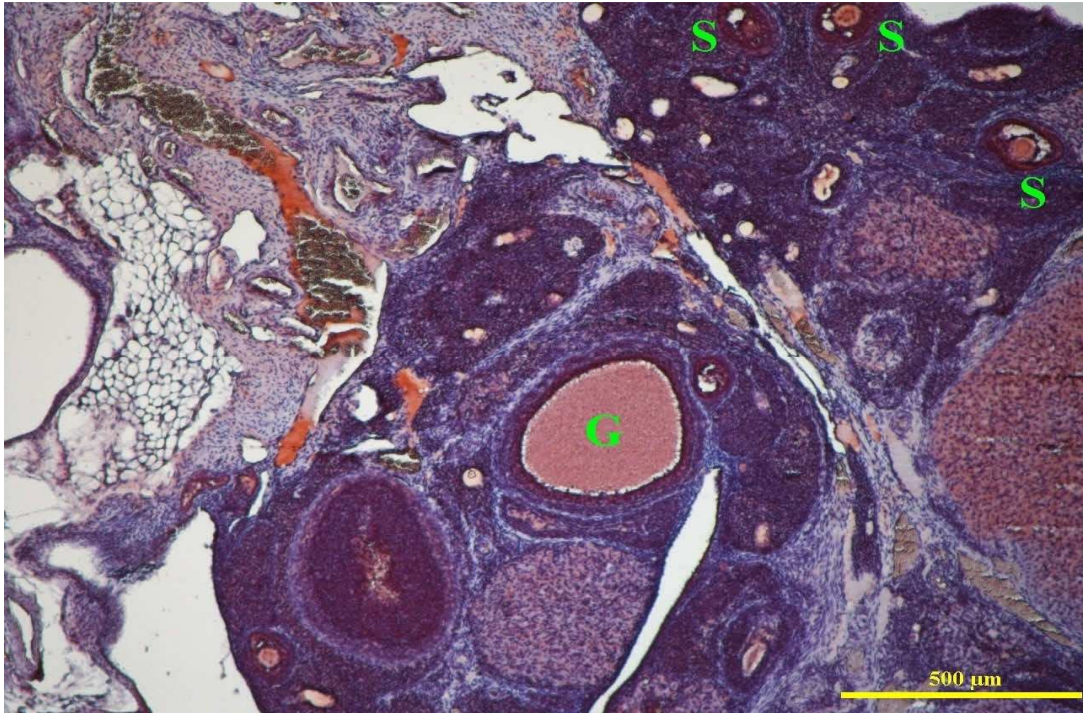
Resim 4.5. Grup 2'ye ait bir kesitte sekonder folikülde granuloza hücrelerinde, primordiyal folikülde ise negatif XIAP ekspresyonu gözlenmektedir.



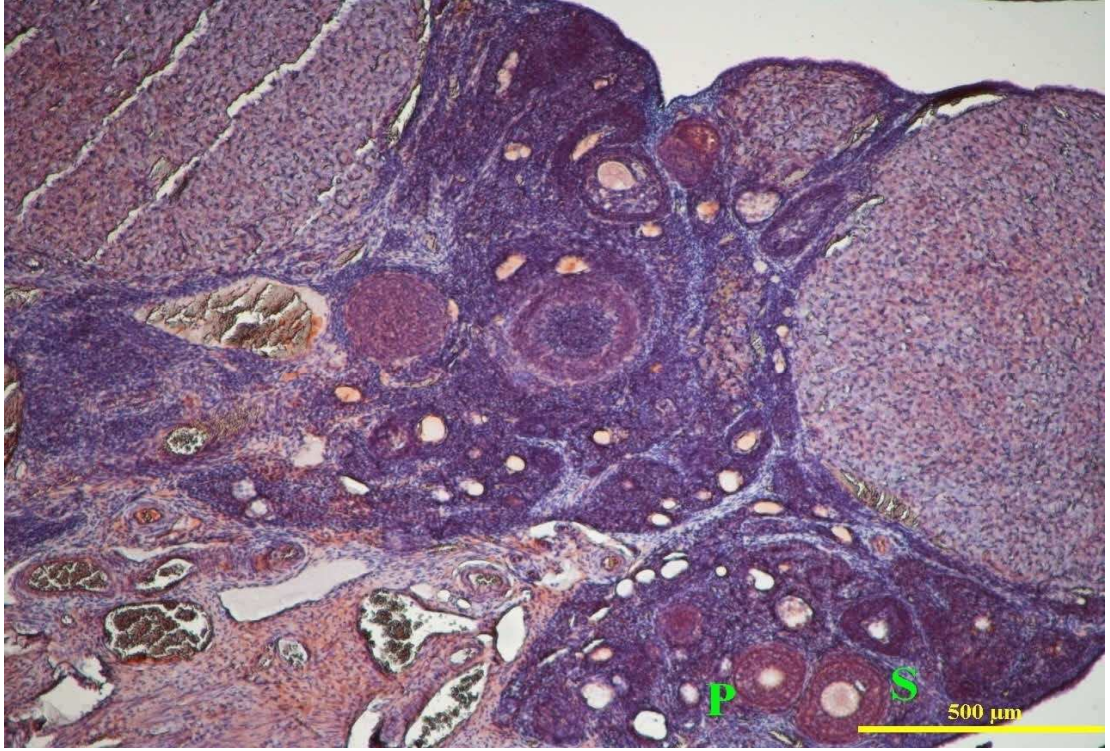
Resim 4.6. Grup 3'e ait bir kesitte sekonder folikülde granuloza hücrelerinde XIAP ekspresyonu, Primordiyal (PI) ve Primer (Pr) foliküllerde ise negatif ekspresyon gözlenmektedir.



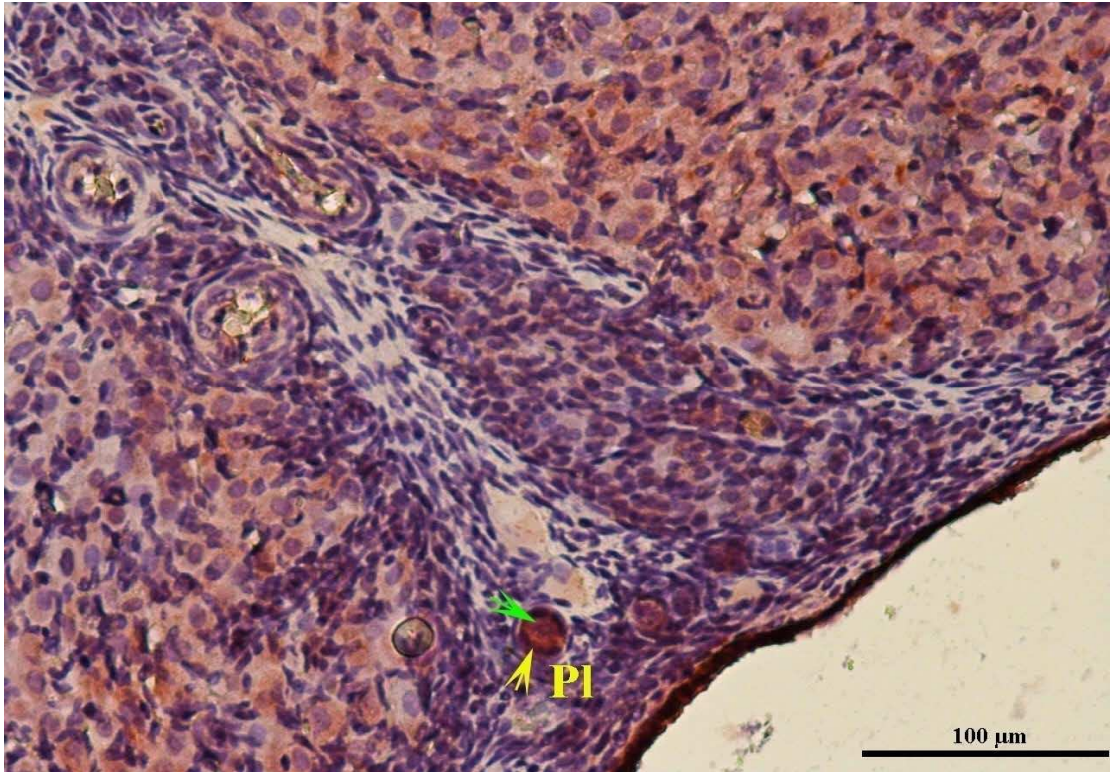
Resim 4.7. Grup 1'de Graf (G) ve Sekonder (S) foliküllerde oosit sitoplazmasında NF- κ B ekspresyonu oklarla gösterilmiştir. Aynı foliküllerin granüloza hücrelerinde de NF- κ B ekspresyonu mevcuttur.



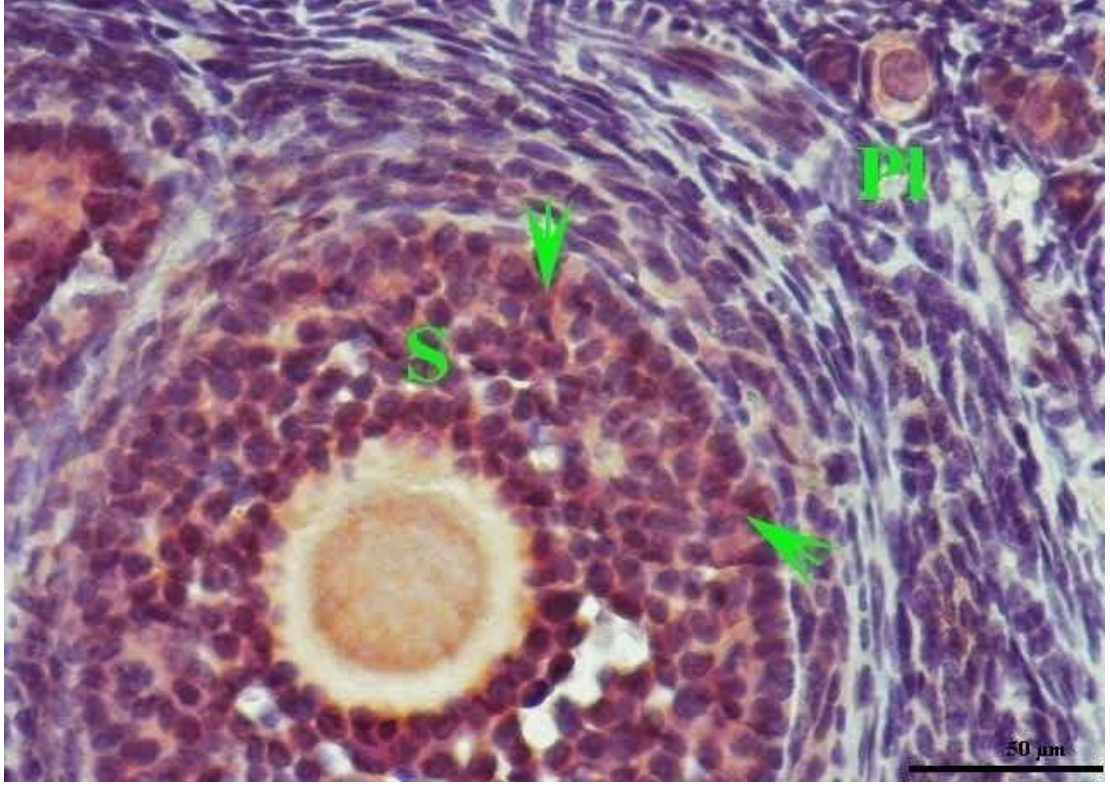
Resim 4.8. Grup 2'de Graf (G) ve Sekonder (S) foliküllerde granüloza hücrelerinde NF- κ B ekspresyonu gözlenmektedir.



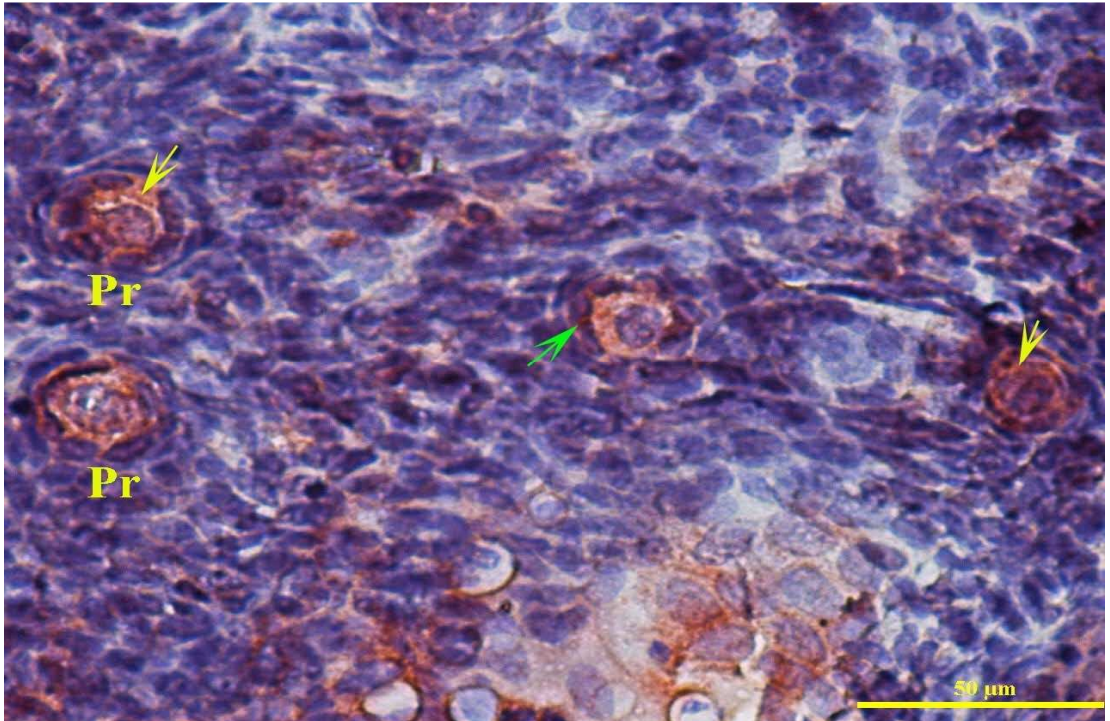
Resim 4.9. Grup 3'te sekonder (S) foliküllerde granüloza hücrelerinde NF- κ B ekspresyonu gözlenmektedir.



Resim 4.10. Grup 1'e ait bir kesitte sarı ol epitel hücrelerindeki, yeşil ok ise sitoplazmadaki NF- κ B ekspresyonunu göstermektedir.



Resim 4.11. Grup 2'deki bir kesitte sekonder folikülde granüloza hücrelerinde NF-κB ekspresyonu gözlenmektedir. Primordiyal (Pl) folikülde ise negatif ekspresyon izlenmektedir.



Resim 4.12. Grup 3'e ait bir kesitte yeşil ok epiteldeki ekspresyonu, sarı ok ise sitoplazmadaki NF-κB ekspresyonunu göstermektedir, Pr: Primer.

Çalışmamızda diabetli sağ ve sol ovaryumların oosit ve granuloza hücrelerinde XIAP ekspresyonu graaf foliküllerinde kontrol ve çörek otu gruplarına göre artmış fakat anlamlı bir artış göstermemiştir. Ayrıca granuloza hücrelerinde XIAP ekspresyon grafiklerine bakıldığı zaman, primordiyal- primer- sekonder folikül hattı boyunca artarak yükselmiş, fakat graaf folikülünde ise azalmıştır.

Grafikler XIAP ekspresyonu, 3 farklı grup ve 4 farklı folikülde, oositler ve granuloza hücrelerinde incelenmiş, 16 adet 3'lü grafik elde edilmiştir. Anlamlı fark bulunamasa da bu grafiklerin 12 tanesinde diabet grubunun ekspresyon derecesinin, diğer grupların ekspresyon derecelerinden yüksek olduğu gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tip 1 diabetli kadınlarda kontrol grubuna göre ovaryum hacimlerinin ve folikül sayısının anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir (Codner ve ark. 2006). Çoklu insülin dozlarının ovaryumlarda hiperinsülinemiye yol açabileceğini, hiperinsülineminin antral folikül gelişimini uyarabileceğini, granuloza hücrelerinin FSH'a duyarlılığını arttıracığını, böylece folikül sayısı ve ovaryum hacminin artabileceği belirtilmiştir (Fulghesu ve ark. 1997).

Diabet oluşturulmuş deney hayvanlarında ise 14 haftalık diabet süresinin sağ ovaryum korteks, medulla ve total hacimlerini arttırdığı belirtilmiştir (Mehrnjani ve ark. 2009). 12 haftalık diabet süresinin yine anlamlı olarak sağ ovaryum hacim artışına neden olduğu belirtilmiştir (Farhad ve ark. 2013). İnsanlarda (Codner ve ark. 2006) ve ratlarda uygulanan insülin tedavisinin hiperinsülinemi sonucunda ovaryum foliküllerinde kistik oluşumlara yol açabileceği bildirilmiştir (Poretsky ve ark. 1992), fakat bu 2 çalışmada da insülin kullanılmamasına rağmen ovaryum hacimleri artmıştır (Mehrnjani ve ark. 2009; Farhad ve ark. 2013). Bizim çalışmamızda ovaryum hacimlerinin artmamasının nedenlerinden biri olarak insülin kullanılmaması ve 4 haftalık diabet süresinin ovaryum hacim artışını tetiklemediğini düşünmekteyiz.

XIAP sentezinin NF- κ B yoluyla arttığı ve folikülleri atreziden koruduğu belirtilmiştir (Zık ve ark. 2010). Sağlıklı dişi ratlarda XIAP sentezinin preantral ve erken antral foliküllerde düşük olduğu fakat foliküler olgunlaşma ile arttığı ve bu foliküllerin kaderinin ovulasyon ya da atrezi olup olmayacağının bu aşamalarda belirlendiği bildirmektedirler. XIAP'ın gonadotropin tarafından regüle edildiği ve in vivo normal folikül gelişimi için gerekli olduğu belirtilmiştir. (Li ve ark. 1998). Bizim çalışmamızda da XIAP ve NF- κ B ekspresyonu kontrol grubu ratlarda tüm foliküllerde gözlenmiştir. XIAP'ın kaspaz-9'un sitokrom C-uyarımını aktivasyonunu bloke ettiği ve böylece kaspaz -3, 6 ve 7'nin aktivasyonunu önleyerek apoptozisi baskıladığı belirtilmiştir (Deveraux ve ark. 1998). Diabetli çocuklarda yüksek kan glukoz konsantrasyonunun periferik mononükleer kan hücrelerinde apoptotik mekanizmaları değiştirdiği, fas ve Bax sentezinin düştüğü, tersine XIAP gen ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (Valencia ve ark. 2012). 4 haftalık diabette, rat ön hipofizinde XIAP ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadığını, 6 haftalık diabet süresinde ise anlamlı fark oluştuğunu

bildirmişlerdir (Arroba ve ark. 2007). Bizim çalışmamızda da diabetli ovaryumlarda XIAP ve NF-κB ekspresyonu kontrol ve çörek otu gruplarına göre artmış fakat anlamlı bir artış göstermemiştir, bunun sebebinin de ovaryum hacminin artmasını sağlamayan 4 haftalık diabet süresinin bu iki markerin ekspresyonunda anlamlı bir artışa neden olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

FSH'ın indüklediği XIAP ekspresyonuna NF-κB yolunun, klasik IKB kinase yolundan daha ziyade phosphatidylinositol 3-kinase'ı aktifleştirerek sağladığı belirtilmiştir (Wang ve ark. 2002). Sıçanlarda, immünohistokimyasal olarak NF-κB ekspresyonun XIAP ekspresyonuyla birlikte arttığı ve XIAP'ın NF-κB yoluyla uyarıldığı ve foliküllerin atreziden korunduğu bildirilmiştir (Zık ve ark. 2010). Fakat bizim çalışmamızda XIAP ve NF-κB ekspresyonları arasında bir ilişki çıkmadı.

NF-κB 'nin *Drosophila*'dan insanlara kadar tüm hücrelerin sitoplazmasında eksprese olduğunu, sadece aktive olduğunda ekspresyonun çekirdeğe kaydığı ve çekirdekte 200'e yakın inflamasyon, immün ve büyüme ile ilgili genlerin ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir (Aggarwal 2004). Bizim çalışmamızda NF-κB ekspresyonu oosit ve granüloza hücrelerinin sitoplazmasında gözlenmiştir. Sadece birkaç primordiyal folikülde oosit çekirdeğinde ekspresyon tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki NF-κB ekspresyonundaki düzensiz dağılımın sebeplerinden biri NF-κB'nin aktive olmasının bir göstergesi olan ekspresyonun sitoplazmada kalması ve çekirdekte yerleşmemesi olabilir.

Hiperglisemi, mitokondriyon elektron taşıma zincirinden ROS üretimini arttırdığı bildirilmiştir (Nishikawa ve ark. 2007). STZ ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda, lipid peroksit seviyelerinin kontrol grubuna göre yükseldiği belirtilmiştir (Singab ve ark. 2005). MDA lipid peroxidasyonunun en fazla oluşan yıkım ürünüdür (Schutt ve ark. 2003). Bizim çalışmamızdaki diabetli grupta yükselmiş serum MDA düzeyi, *Nigella sativa* L. yağının etkisiyle düşmüştür. Oksidatif hasara karşı, doku ve hücre hasarını önlemede koruyucu bir rolü olan SOD (Kakkar ve ark. 1995) enzim düzeyi, bizim çalışmamızda *Nigella sativa* L. yağının etkisiyle artmıştır.

Kaleem ve ark. 2006, *N. sativa* tohum ekstresinin antidiabetik aktivitesi olduğunu, antioksidan etkilerinden dolayı, kullanımının deneysel diabetik ratlarda diabetin komplikasyonlarını kontrol etmede kullanışlı olabileceğini belirtmişlerdir. Karaciğer ve böbrekte *Nigella sativa* L. tohumlarının SOD düzeyini diabetik ratlara

göre anlamlı derece yükselttiği belirtilmiştir (Kaleem ve ark. 2006). Çalışmamızda materyal metotta kaynak olarak kullandığımız Abdelmequit ve ark. (2010)'nın kan şekeri ve serum SOD düzeyi sonuçlarında olduğu gibi, *Nigella sativa* L. yağı kan glukoz seviyesini düşürmüş ve serum SOD düzeyi anlamlı olarak yükseltmiştir.

Nigella sativa L. yağı 30 günlük diabet süresi sonunda, hiperglisemi azaltmış fakat normal seviyelerine indirememiştir. Anti oksidan özellikleri ise, serum TOS ve MDA değerlerini düşürerek ve TAS ve SOD değerlerini ise yükselterek kanıtlamıştır. 30 günlük diabet süresi sonunda total ovaryum hacimlerinde, XIAP ve NF- κ B ekspresyonlarında bir farklılık ve ilişki gözlenmemiştir, bunun sebebinin ise 30 günlük diabet süresi ile ilişkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. *Nigella sativa* L. yağı, diabetli hastalarda; kan glukoz seviyesini ve oksidan sistem aktivitesini düşürmek için kullanılabilir.

6. ÖZET

Bu çalışmanın amacı diyabetik ratlarda *Nigella sativa* L. yağının ovaryum hacmi, nuclear factor kappa-b (NF-κB) ve X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) ekspresyonu ve serum malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), total antioksidan durum (TAS) ve total oksidan durum (TOS) seviyesi üzerine etkisini araştırmaktır. Yirmi bir olgun dişi rat 3 gruba ayrıldı: kontrol grubu, diyabet grubu ve diyabet + *Nigella sativa* L. yağı grubu 0,2 mg/kg/gün *Nigella sativa* L. yağı haftanın 6 günü 30 gün boyunca verildi. NF-κB ve XIAP ekspresyonunu değerlendirmek için ovaryan kesitler immünohistokimyasal olarak analiz edildi. Ayrıca sağ ve sol ovaryan hacimleri stereolojik teknikler ile hesaplandı. Son olarak serum MDA, SOD, TAS, ve TOS seviyeleri saptandı. Sonuçlar *Nigella sativa* L. yağının hiperglisemiyi kontrol seviyesi kadar olmasa da düşürdüğü ortaya çıkardı. *Nigella sativa* L. yağının kontrol seviyelerine göre serum TOS ve MDA değerlerini düşürdüğü ve SOD ve TAS seviyelerini artırdığı gösterildiği için antioksidan özellikler sergilemiştir. Muhtemelen 30 günlük kısa diyabet süresine bağlı olarak gruplar arasında total ovaryan hacimde ve XIAP ve NF-κB ekspresyonunda ciddi fark yoktu. Bu sonuçlar diyabetik hastalarda *Nigella sativa* L. yağının kan glukoz seviyesini ve oksidan aktiviteyi düşürmek için kullanılabileceğini akla getirmektedir.

Anahtar kelimeler: Ovaryum; *Nigella sativa* L. yağı; diyabet; apoptozis; stereoloji; oksidan-antioksidan sistem.

7. SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of *Nigella sativa* L. oil on ovary volume, NF- κ B (Nuclear factor-kappa B) and XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) expression, and serum MDA (Malondialdehyde), SOD (Superoxide dismutase) TAS (Total antioxidant status) and TOS (Total oxidant status) levels in diabetic rats. Twenty-one adult female rats were divided into three groups: the control group, the diabetes group, and the diabetes + *Nigella sativa* L. oil group, which received 0.2 mg/kg/day *Nigella sativa* L. oil 6 days per week for 30 days. Ovarian sections were then analyzed using immunohistochemistry to assess NF- κ B and XIAP expression. In addition, the right and left ovarian volumes were calculated using stereological techniques. Finally, serum MDA, SOD, TAS, and TOS levels were determined. The results revealed that *Nigella sativa* L. oil reduced hyperglycemia, but not to control levels. *Nigella sativa* L. oil also exhibited antioxidant properties, as demonstrated by lowered serum TOS and MDA values and increased SOD and TAS levels compared with the control. There were no significant differences in total ovarian volume or XIAP and NF- κ B expression among the groups, possibly due to the short 30-day diabetes duration. These results suggest that *Nigella sativa* L. oil could be used to reduce blood glucose levels and oxidant activity in diabetic patients.

Key words: Ovary; *Nigella sativa* L. oil; diabetes; apoptosis; stereology; oxidant-antioxidant system.

8. KAYNAKLAR

Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A. Tip 1 diabet. Güncel Pediatri 2007; 5: 1-10.

Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al Wafai RJ. Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of diabetes. 2010; 2(4): 256-66.

Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reproductive biology and endocrinology. 2005; 14;3: 28.

Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB: the enemy within. Cancer Cell. 2004; 6(3): 203-8.

Akşit H, Bildik A. Apoptozis. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi. 2008; 19(1): 55-63.

Aktümsek A. Anatomi ve Fizyoloji (İnsan Biyolojisi). 1. Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2001; 444-490.

Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. Phytotherapy research. 2003; 17(4): 299-305.

Alimohammadi S, Hobbenaghi R, Javanbakht J, Kheradmand D, Mortezaee R, Tavakoli M, Khadivar F, Akbari H. Protective and antidiabetic effects of extract from *Nigella sativa* on blood glucose concentrations against streptozotocin (STZ)-induced diabetic in rats: an experimental study with histopathological evaluation. Diagnostic pathology. 2013; 15; 8: 137.

Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stress. Turkish Journal of Biochemistry. 2006; 31 (2): 51–56.

Altun BU. Gestasyonel diabet. Diabet Forumu. 2010; 6(2): 12-16.

Alyürük B. Diabetes mellitus tip 1 oluşturulmuş erkek farelerden elde edilen spermelerin ıvıf uygulamalarında fertilizasyon ve embriyo kalitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli, 2011 (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yusufhan Yazır).

Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. Current diabetes reviews. 2008; 4(1): 46-54.

Arroba AI, Lechuga-Sancho AM, Frago LM, Argente J, Chowen JA. Cell-specific expression of X-linked inhibitor of apoptosis in the anterior pituitary of streptozotocin-induced diabetic rats. The Journal of endocrinology. 2007; 192(1): 215-27.

Aydilek N, Aksakal M. Effects of testosterone on the liver antioxidant system in rabbits. YYÜ Vet Fak Derg. 2003; 14 (2): 22-25.

Aygün A. Tip 1 diabetes mellitus tanılı çocuklarda hla dr/dq haplotip sıklığının araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Gaziantep, 2009 (Danışman: Doç. Dr. Mehmet Keskin).

Azezli A, Orhan Y. In: Şişmanlık ve Diabetes Mellitus. Eds: Orhan Y, Bozbora A. Obezite Medikal ve Cerrahi Tedavisi, Inc. 2008, 2. Baskı, İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, p: 143.

Bacak GE, Avcı G. Timokinon: *Nigella sativa*'nın biyoaktif kompenenti. Kocatepe Veteriner Dergisi. 2013; 6(1): 51-61.

Bağırzade M. Ovulasyon indüksiyonunda uterus endometrium antijenlerinin immunohistokimyasal olarak belirlenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara, 2012 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Celal Ilgaz).

Barnes PJ. Nuclear factor-kappa B. Int J Biochem Cell Biol. 1997; 29(6): 867-70.

Başaran A. Tıbbi Biyoloji. 5. Baskı, Bursa, Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri, 1999; 392-401.

Baykal Y, Özet G, Kocabalkan F. Apoptozis ve İmmün Sistem. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 1998; 18(1): 11-4.

Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes. 1999; 48(1): 1-9.

Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Fiziyoloji. 5. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri. 2008; 947-965.

Besler D. Prediabetik bireylerde tip 2 diabet gelişiminin engellenmesi için verilen yaşam tarzı değişikliklerine hasta uyumunu etkileyen faktörlerin saptanması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İzmir, 2006.

Blanch A, Liu H, Goodyer C. Caspase-6 role in apoptosis of human neurons, amyloidogenesis and Alzheimer's disease. J Biol Chem. 1999; 13; 274(33): 23426-36.

Bolat D, Bahar S, Selcuk ML, Tipirdamaz S. Morphometric investigations of fresh and fixed rabbit kidney. Eurasian J Vet Sci. 2011; 27: 149-54.

Büyükgebiz A, Böber E. Tip 1 Diabet. Güncel Pediatri. 2007; 5: 1-10.

Chang AS, Dale AN, Moley KH. Maternal diabetes adversely affects preovulatory oocyte maturation, development, and granulosa cell apoptosis. Endocrinology. 2005; 146(5): 2445-53.

Codner E, Soto N, Lopez P, Trejo L, Avila A, Eyzaguirre FC, Iniguez G, Cassorla F. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome and ovarian morphology in women with type 1 diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006; 91(6): 2250-6.

Cuce G, Kalkan SS, Esen HH. Evaluation of TGF beta1 expression and comparison the thickness of different aorta layers in experimental diabetes. *Bratislavske lekarske listy*. 2011; 112(6): 318-22.

Çambay Z. Diabetik sıçanlarda nar (*Punica granatum*) çiçeğinin serumdaki aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz düzeylerine etkilerinin araştırılması. *Ecological Life Sciences*. 2011; 6(4): 124-133.

Çiftçi YS, Mert N. Deneysel olarak diabet oluşturulmuş sıçanlarda Hba1c, Mda, Gsh-Px ve Sod miktarlarının tayini. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2013; 24(2): 51-54.

Çolak A. Deneysel diabette döteryumu azaltılmış su tüketiminin eritrosit ve pankreas antioksidan – oksidan sistem parametreleri üzerine etkisinin incelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2010 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayşen Yarat).

Demir E, Yılmaz Ö. Effect of pine oil on antihyperglycemic and some biochemical parameters in serum of streptozotocin induced tip-2 diabetic rats. *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2013; 25(3): 140-156.

Demir E, Yılmaz Ö. Streptozotocin ile tip-1 diabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının serum ve eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2014; 18: 13-21.

Demir S. Ovulasyon indüksiyonunda ovaryum proliferasyon antijenlerinin belirlenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2011 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz Erdoğan).

Demirel F, Top C. Tip 2 diabet, majör cerrahi girişim ve enflamasyon. *Diabet Bilimi*. 2007; 5(6): 202-206.

Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdale T, Zhou Q, Srinivasula SM, Alnemri ES, Salvesen GS, Reed JC. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *The EMBO Journal*. 1998; 15; 17(8): 2215-23.

Doğru YZ. Yaşlılık ve diabetin sıçan akciğeri üzerine olan etkilerinin incelenmesi, histopatolojik ve biyokimyasal inceleme. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 2011 (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Tuncer Nacar).

Erdoğan BB. Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fasfasl bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi*. 2003; 4: 165-174.

Eroschenko VP. Female Reproductive System. Histoloji atlası. Inc. 2013, Twelfth Edition, Ankara, Türkiye, p: 505-555.

Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji. 1. baskı, Malatya, Pelikan yayıncılık, 2004; 281-291.

Farhad K, Shahla Z, Hossein KJ, Sara A, Mohammad F, Saeid MT. Stereological and histopathological study of ovarian tissue after hydro-alcoholic extract of artemisia plants compared with metformin in diabetic rats. Advances in Environmental Biology. 2013; 7(4): 749-754.

Ford WCL. Biological mechanisms of male infertility. The Lancet. 2001; 357(9264): 1223-1224.

Fulghesu AM, Villa P, Pavone V, Guido M, Apa R, Caruso A, Lanzone A, Rossodivita A, Mancuso S. The impact of insulin secretion on the ovarian response to exogenous gonadotropins in polycystic ovary syndrome. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 1997; 82(2): 644-8.

Garcia-Finana M, Cruz-Orive LM, Mackay CE, Pakkenberg B, Roberts N. Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. NeuroImage. 2003; 18(2): 505-16.

Gundersen HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. J Microsc. 1987; 147: 3229-63.

Gundersen HJ, Jensen E, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology—reconsidered. J. Microsc. 1999: 193; 199-211.

Guyton AC, Hall JE. Kadında Üreme İşlevleri ve Hormonal İşlevler. In: Tıbbi Fizyoloji Eds: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ. Nobel Matbaacılık, Inc. 2001, Tenth Edition, İstanbul, Türkiye, p: 884-897, 929-944.

Günyüz G. Yaşlanmaya bağlı ovaryumlarda mezenkimal kök hücre ekspresyonu. Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2013 (Tez Danışmanı: Prof Dr. S. Serpil Kalkan).

Güvenman B. Sporcu ve sedanter bayanlarda menstrual siklusun farklı fazlarında bazı fizyolojik parametreler ve reaksiyon zamanı etkilenimi. Sakarya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, 2007 (Tez danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Canan Dinçer Albayrak).

Hanafy MS, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). Journal of ethnopharmacology. 1991; 34(2-3): 275-8.

Hayıroğlu AE. Streptozotosin ile deneysel diabet oluşturulan sıçanlarda östrus siklusunun değişik evrelerinde ovaryum ve uterus dokularında mast hücrelerinin dağılımının histokimyasal ve

immünohistokimyasal olarak incelenmesi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Anabilim Dalı Histoloji Ve Embriyoloji Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2013 (Danışman: Doç. Dr. Turan Karaca).

<http://apbrwww5.apsu.edu/thompsonj/Anatomy%20&%20Physiology/2010/2010%20Exam%20Reviews/Exam%205%20Final%20Review/CH%2016%20The%20Ovaries.htm> (17 Aralık 2014).

http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/%C3%9Creme%20Sistemi.pdf (16 Aralık 2014).

<http://tr.wikipedia.org/wiki/Diabet> (29 Nisan 2014).

https://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa (8 Ocak 2015).

Hughes FM, Gorospe WC. Biochemical identification of apoptosis in granulosa cells: evidence for a potential mechanism underlying follicular atresia. *Endocrinology*. 1991; 129(5): 2415-2422.

Islam SK, Ahsan M, Hassan CM, Malek MA. Antifungal activities of the oils of *Nigella sativa* seeds. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 1989; 2(1): 25-8.

Işık F. Trinitrobenzen sülfonik asit (tnbs) ile oluşturulan deneysel kolitte çörek otu (*Nigella sativa*) yağının koruyucu etkisinin incelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 2009 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Tuğba Tunalı Akbay).

Ize-Ludlow D, Sperling MA. The classification of diabetes mellitus: a conceptual framework. *Pediatr Clin North Am*. 2005; 52(6): 1533-52.

İmamoğlu Ş, Ersoy ÖC. Diabetes Mellitus 2009. Deomed medikal yayıncılık. 2. baskı. İstanbul. 2009.

İrer SV, Alper G. Deneysel diabet modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2004; 2: 127-136.

Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetol*. 2005; 29; 4(1): 5.

Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Dişi Üreme Sistemi. In: Basic Histology. Eds: Aytakin Y, Solakoğlu S. Appleton & Lange , Inc. 1998, Seventh Edition, New York, USA, p: 517-548.

Kağa S. Streptozotosin ile diabet oluşturulan sıçanlarda papatya (*Matricaria chamomilla* L.) ekstresinin antidiabetik ve antioksidatif etkisinin araştırılması. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, 2006 (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mustafa Cemek).

Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasad K. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. Mol Cell Biochem. 1995; 18; 151(2): 113-9.

Kale KB, Demir K, Baran E, Çam H, Tamer MN. Diabetik hastaların bitkisel kökenli alternatif tedavilere bakışı. Diabet Bilimi. 2006; 4(5): 182-86.

Kaleem M, Kirmani D, Asif M, Ahmed Q, Bano B. Biochemical effects of *Nigella sativa* L seeds in diabetic rats. Indian J Exp Bio. 2006; 44(9): 745-8.

Kalelioğlu İ, İbrahimioğlu LE. Gestasyonel diabet. Diabet Forumu. 2006; 3(3): 28-34.

Kalem M, Kirmani D, Asif M, Ahmed Q, Bano B. Biochemical effects of *Nigella sativa* L seeds in diabetic rats. Indian journal of experimental biology. 2006; 44(9): 745-8.

Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. Pathophysiology. 2000; 7(3): 153-163.

Kar Y, Şen N, Tekeli Y. Samsun yöresinde ve mısır ülkesinde yetiştirilen çörekotu (*Nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi. 2007; 2(2): 197-203.

Kara İ. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda alfa lipoik asidin testis dokularına etkisinin histolojik yönden incelenmesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2010 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aydan Canbilen).

Kaya Ş. Sıçanlarda bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde *Nigella sativa* yağının inflamasyon, fibrozis ve antioksidan enzimler üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta 2011 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Münire Çakır).

Keskin E. Diabetik anne bebeklerinde serum s100b protein düzeyi ve total oksidan ve antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Şanlıurfa, 2013 (Tez danışmanı: Doç. Dr. Alpay Çakmak).

Kierszenbaum AL. Folikül Gelişimi ve Menstrual Döngü. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Inc. 2006, Ankara, Türkiye, p: 565-584.

Koçyiğit A, Çevik M. Memeli Reprodüktif Dokuları, Gamet Hücreleri ve Embriyolarında Apoptozis. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2011; 8(1): 33-41.

Küçüköğlü B. Normal, polikistik ovaryum sendromu, hiperstimüle ve hipostimüle ovaryum folikülü kümülüs hücrelerinde endoplazmik retikulum stres proteinlerinin regülasyonunun araştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2011 (Tez Danışmanları: Prof. Dr. M. Tahir Hatipoğlu Yardımcı Danışman Doç. Dr. Ümit Ali Kayışlı).

Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Volund A, Ehses JA, Seifert B, Mandrup Poulsen T, Donath MY. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2007; 356(15): 1517-26.

Li J, Kim JM, Liston P, Li M, Miyazaki T, Mackenzie AE, Korneluk RG, Tsang BK. Expression of inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) in rat granulosa cells during ovarian follicular development and atresia. *Endocrinology.* 1998; 139(3): 1321-8.

Marti A, Ritter PM, Jager R. Mouse mammary gland involution is associated with cytochrome-c release and caspase activation. *Mech Dev.* 2001; 104(1-2): 89-98.

Mayhew TM, Gundersen HJ. If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 1996; 188 (Pt 1): 1-15.

McLean MP, Warden KJ, Sandhoff TW, Irby RB, Hales DB. Altered ovarian sterol carrier protein expression in the pregnant streptozotocin-treated diabetic rat. *Biology of reproduction.* 1996; 55(1): 38-46.

Mehrjani MS, Abnosi MH, Mahmoodi M, Anvari M, Dezfolian A, Davoodzadeh H. A Study on the Effect of Cinnamon on the Structure of the Ovary in Diabetic Rats. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2009; 16(3): 233-243.

Memişoğulları R. Diabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 2005; 3: 30-39.

Mert B. Boraks dekahidratın antioksidan sistem ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine akut etkisinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Kars, 2013 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Onur Atakışı).*

Mert N, Ağaoğlu ZT, Gündüz H, Ertekin A, Dede S. *Nigella sativa* (çörek otu), vitamin c, e ve selenyumun, nitrosoguanidin uygulanan tavşanların tüylerindeki iz element seviyelerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2000; 26 (3): 87-90.

Moore KL, Persaud TVN. Ürogenital Sistem. In: Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. editor. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi.* 6. baskı. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevi. 2002; 323-329.

Newgard CB, McGarry JD. Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 1995; 64: 689-719.

Nishikawa TD, Kukidome K, Sonoda K, Fujisawa T, Matsuhisa H, Motoshima T, Motoshima H, Matsumura T, Araki E. Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of insulin resistance. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007; 77(1): 161-4.

Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 6. Baskı. Ankara, Meteksan Kağıt-Karton Üretim Tesisleri. 1989: 1116-32.

Ohm T, Busch C, Bohl J. Unbiased estimation of neuronal numbers in the human nucleus coeruleus during aging. *Neurobiol Aging*. 1997;18: 393-99.

Osawa T, Kato Y. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005; 1043: 440-51.

Ovalle WK, Nahirney PC. *Netter Temel Histoloji*. 1. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri. 2009; 399-426.

Öber A, Turgay İzzetoğlu G. *Histoloji*. 1. Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2006; 239-247.

Öktem Ö, Urman B. Over hayat döngüsünü anlamak. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*. 2011; 8(2): 71-82.

Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin Önemi. *Toraks Dergisi*. 2001; 2(1): 91-95.

Öntürk H, Özbek H. Deneysel diabet oluşturulması ve kan şekeri seviyesinin ölçülmesi. *Gen Tıp Dergisi*. 2007; 17(4): 231-236.

Özalp C. Ekstrakorporal dolaşımda venöz kandaki eser elementlerin t.a.s (total antioksidan seviyesi) t.o.s (total oksidan seviyesi) o.s.i (oksidatif stress indeksi) ile ilişkisi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 2013 (Tez danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Abdussemet Hazar).

Özel HG. Tip 1 diabetes mellitus ve beslenme. *Diabet Forumu*. 2006; 3(4): 58-67.

Pavlova S, Klucska K, Vasicek D, Kotwica J, Sirotkin AV. Transcription factor NF-kappaB (p50/p50, p65/p65) controls porcine ovarian cells functions. *Anim Reprod Sci*. 2011; 128(1-4): 73-84.

Peynirci H. Deneysel diabetik nefropatide irbesartan, antioksidan ve kombinasyon tedavilerinin karşılaştırılması. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Edirne, 2010 (Tez danışmanı: Prof. Dr. Saniye Şen).

Phillipps HR, Hurst PR. XIAP: a potential determinant of ovarian follicular fate. *Reproduction*. 2012; 144(2): 165-76.

Poretzky L, Clemons J, Bogovich K. Hyperinsulinemia and human chorionic gonadotropin synergistically promote the growth of ovarian follicular cysts in rats. *Metabolism*. 1992; 41(8): 903-10.

Reimann M, Bonifacio E, Solimena M, Schwarz PE, Ludwig B, Hanefeld M, Bornstein SR. An update on preventive and regenerative therapies in diabetes mellitus. *Pharmacol Ther.* 2009; 121(3): 317-31.

Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et biophysica acta.* 2014; 1840(9): 2709-29.

Ross MH, Pawlina W. *Histology A Text And Atlas with Corralated Cell and Molecular Biology.* Fifth Edition, Philadelphia, Usa, Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 772- 834.

Sadler TW. Ürogenital sistem. In: Başaklar AC. editor. *Langmans Medikal Embriyoloji.* 9. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık; 2005. p: 9-12, 260-297.

Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol.* 2005; 5: 1749–70.

Salomi MJ, Panikkar KR, Kesavan M, Donata K Sr, Rajagopalan K. Anti-cancer activity of *Nigella sativa*. *Ancient science of life.* 1989; 8(3-4): 262-6.

Salomi NJ, Nair SC, Jayawardhanan KK, Varghese CD, Panikkar KR. Antitumour principles from *Nigella sativa* seeds. *Cancer letters.* 1992; 31; 63(1): 41-6.

Sarıbel Kanber D. Vasküler hastalıklarda antioksidan savunma sistemi yetersizliği ve sistem elemanlarındaki genetik değişikliklerin etkisinin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Ana Bilim Dalı, Doktor Tezi, İstanbul 2012 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Can Akyolcu).

Satman İ. Diabetes Mellitus Tanı ve İzleminde Yeni Kriterler ve Belirlenme Gerekçeleri. *Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi.* 2007; 3(3): 1-15.

Sayılan G. Streptozotosin ile diabet geliştirilmiş sıçanlarda l-karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2008 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sevgi Eskiocak).

Schutt F, Bergmann M, Holz FG, Kopitz J. Proteins modified by malondialdehyde, 4-hydroxynonenal, or advanced glycation end products in lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003; 44(8): 3663-8.

Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancerbinding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell.* 1986; 47: 921-928.

Shishodia S, Aggarwal BB. Nuclear Factor-kB: a friend or a foe in cancer? *Biochem Pharmacol.* 2004; 68: 1071-1080.

Silink M. *Çocukluk ve Ergenlik Döneminde Tip 1 Diabet El Kitabı,* Inc. 1997, First Edition, Australia, p: 113-116.

Singab AN, El-Beshbishy HA, Yonekawa M, Nomura T, Fukai T. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2005; 14; 100(3): 333-8.

Sodeman WA, Sodeman TM. *Sodeman's Pathologic Physiology. Seventh Edition.* Ankara. Türkiye klinikleri yayınevi. 1985; 1149-63.

Sultan MT, Butt MS, Karim R, Iqbal SZ, Ahmad S, Zia-Ul-Haq M, Aliberti L, Ahmad AN, De Feo V. Effect of *Nigella sativa* fixed and essential oils on antioxidant status, hepatic enzymes, and immunity in streptozotocin induced diabetes mellitus. *BMC complementary and alternative medicine.* 2014; 17; 14: 193.

Şeftalioğlu A. *İnsan Embriyolojisi. 3. Baskı,* Ankara, Feryal Matbaası. 1998; 346-35.

Tanbek K. Ratlarda tiyoasetamidle indüklenen karaciğer hasarına karşı *Nigella sativa* (çörek otu) yağının etkisi. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Malatya 2011 (Danışman: Prof. Dr. Elif Özerol).

Tanyeli A. Deneysel tip 1 diabetes mellitusta kalp kası kalsiyum homeostazisi üzerine aralıklı hipoksinin etkisi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2013 (Tez danışmanı: Prof. Dr. Metin Baştuğ).

Tekkes Y. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 2006.

Tilly JL. Apoptosis and ovarian function. *Reviews of Reproduction.* 1996; 1(3): 162-72.

Tola EN. Oksidan ve antioksidan sistemlerin kadın fertilitesine etkileri. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2014; 5(1): 26-31.

Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri.* 2003; 23: 499-508.

Topel H. Kemoterapiye maruz kalmış dişi sıçanlarda rosiglitazone' un ovaryuma etkisi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2011 (Tez danışmanları: Doç. Dr. H. Alper Bağrıyanık, Prof. Dr. Candan Özoğul).

Tuncel T. Normospermili kişilerde sperm kriyoprezervasyonu öncesi ve sonrası spermatozoada annexin V testi ile apoptozisin değerlendirilmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2013 (Tez Danışmanı: Prof Dr. Selçuk Duman).

Turgut B, Demir T, Çeliker Ü. Oftalmolojide Apoptoz. *Fırat Tıp Dergisi.* 2006; 11(1): 6-11.

Türk AE. Deneysel diabetik rat testis dokusundaki apoptotik değişiklikler üzerine vitamin D ve vitamin E'nin etkisinin araştırılması. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Elazığ, 2010 (Tez Danışman: Prof. Dr. Emir Dönder).

Türkoğlu Ç, Duman BS, Günay D. Tip 2 diabet hastalarında lipotoksositeye bağlı insülin direncinin acipimox'la tedavisi. Diabet Bilimi. 2003; 1(3): 91-95.

Uzun D. Gebelikte olaylanan deneysel hipokside *Ginkgo biloba*'nın ovaryum dokusuna etkilerinin belirlenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2010 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Celal Ilgaz).

Valencia E, Codner E, Salas-Perez F, Pizarro C, Carrasco PE, Arredondo M, Perez-Bravo F. High glucose concentration in T1D patients modulates apoptotic protein expression: down regulation of BAX and FAS and up regulation of XIAP. Human immunology. 2012; 73(8): 801-4.

Varol Y. *Nigella sativa* yağının sıçanlarda oluşturulan yara modeli üzerine etkisinin incelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Klinik Eczacılık Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2008 (Tez Danışmanları: Prof. Dr. Fikret Vehbi İzzettin, Prof. Dr. Adile Çevikbaş).

Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. Cell. 1999; 22; 96(2): 245-254.

Wang Y, Chan S, Tsang BK. Involvement of inhibitory nuclear factor-kappaB (NFkappaB)-independent NFkappaB activation in the gonadotropic regulation of X-linked inhibitor of apoptosis expression during ovarian follicular development in vitro. Endocrinology. 2002; 143(7): 2732-40.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2030; 27(5): 1047-53.

Yıldız C. Prepubertal dönemdeki dişi ratların ovaryumları üzerinde elektromanyetik alanın etkisine karşı lipoik asidin koruyucu özelliğinin biyokimyasal, ışık mikroskopik ve ultrastrüktürel düzeyde incelenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2009 (Tez danışmanı: Doç. Dr. Bekir Uğur Ergür).

Young NL, Lopez DR, McNamara DJ. Contributions of absorbed dietary cholesterol and cholesterol synthesized in small intestine to hypercholesterolemia in diabetic rats. Diabetes. 1988; 37(8): 1151-6.

Yüztaş E. Deneysel diabet oluşturulan ratlarda prooksidan/total antioksidan durumu ve vitamin düzeyleri üzerine likopenin etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2011 (Danışman: Prof. Dr. Yeter Değer).

Zık B, Akkoc CGO, Tütüncü S. Sıçan ovaryumunda düşük doz capsaicinin NF-kB ve XIAP proteininin sentezlenmesi üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2010; 57: 223-228.

9. EKLER

EK-1



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi
(KONÜDAM)



Karar Sayısı: 2013 – 206

Karar Tarihi: 25.12.2013


Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.'den Prof.Dr.Serpil KALKAN, Hatice Nur ŞEFLEK ve Biyokimya A.D'den Yrd.Doç.Dr.İbrahim KILINÇ tarafından sunulan "**Deneysel Diyabette Nigella Sativa L. (Çörek Otu) Yağının Ovaryum Morfolojisi ve Oksidan Sistem Üzerine Etkileri**" başlıklı Araştırma Projesi 8 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 3 grupta toplam 27 adet sıçan (Wistar Albino) kullanılacağı ve sıçanların anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.


Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde "Başvuru Sahibinin Sorumlulukları" başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6'da belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.


Prof.Dr.K.Esra
NURULLAHOĞLU ATALIK
Başkan



Prof.Dr.Lema TAVLI
Üye



Prof.Dr.A.Saide ŞAHİN
Üye-Katılmadı


Prof.Dr.Selim
KUTLU
Üye


Doç.Dr.Mehmet GÜL
Üye


Doç.Dr.Tefvik
KÜÇÜKKARTALLAR
Üye


Yrd.Doç.Dr.Mehmet
ERGİN
Üye-İzinli


Dr.M.Metin
ŞENER
Üye


Vet.Hek.Alpaslan
ÖZKÜRKÇÜLER
Üye


Mustafa ŞİRİN
Üye

Adres:N.E.Ü.Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, 42080-Meram/KONYA
Tel: (0332) 223 71 11, Faks: (0332) 223 71 24 e-posta: konudam@konya.edu.tr
Web Adresi: <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam> Bilgi: 223 71 11

10. ÖZGEÇMİŞ

Hatice Nur Şeflek 1990 yılında Konya'da doğdu. İlköğrenimini Kazım Özenç Seçen İlköğretim Okulu'nda, lise eğitimini Konya Mehmet Akif Ersoy Lisesi'nde tamamladı. 2008 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2012 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Histoloji-Embriyoloji (Tıp) Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.