



DENEYSEL OBEZİTE OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA, KUERSETİNİN OVARYUM
DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN IŞIK VE
ELEKTRON MİKROSKOBUNDA İNCELENMESİ

Hilal ATILAY

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Jale SELLİ

Yüksek Lisans Tezi -2016

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL OBEZİTE OLUŞTURULMUŞ RATLARDA,
KUERSETİNİN OVARYUM DOKUSU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBUNDA
İNCELENMESİ**

Hilal ATILAY

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Yrd.Doç. Dr. Jale SELLİ**

ERZURUM

2016

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL OBEZİTE OLUŞTURULMUŞ RATLARDA,
KUERSETİNİN OVARYUM DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBUNDA İNCELENMESİ

Hilal ATILAY

Tez Savunma Tarihi : 12.04.2016

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Jale SELLİ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Deniz ÜNAL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Selina AKSAK KARAMEŞE (Kafkas
Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Obezite.....	3
2.2. Ovaryum.....	8
2.2.1. Ovaryum Anatomisi.....	8
2.2.2. Ovaryum Embriyolojisi.....	9
2.2.3 Ovaryum Histolojisi.....	11
2.3.Kuersetin.....	15
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. Etik Kurul, Deneklerin Temini ve Deney Grupları.....	21
3.1.1. Etik Kurul Onayı.....	21
3.1.2. Deneklerin Temini ve Özellikleri.....	21
3.1.3. Çalışmanın Deney Grupları.....	21
3.2. Çalışmanın Değerlendirilmesinde Kullanılan Uygulamalar.....	22
3.2.1. Işık Mikroskopik İşlemler.....	22
3.2.1.1.Doku Takip İşlemleri.....	22
3.2.1.2.Hematoksilen ve Eosin Boyama İşlemi.....	23
3.2.2. İmmunohistokimyasal Boyama İşlemi.....	24
3.2.3 Transmisyon Elektron Mikroskopik İşlemler.....	27
4. BULGULAR.....	29
4.1. Işık Mikroskobu Bulguları.....	29

4.2. İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları	33
4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular	35
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
EKLER	63
EK-1: ÖZGEÇMİŞ	63
EK-2: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURUL ONAY FORMU	64



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince sahip olduğu bilgi birikimi ve görüşleriyle beni yönlendiren, her zaman desteklerini hissettiğim çok kıymetli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Jale Selli'ye şükran ve minnetlerimi sunarım.

Bu süreç içerisinde bana her zaman destek olan Anabilim Dalı hocalarım sayın Prof. Dr. Bünyami Ünal, Doç. Dr. Deniz Ünal, Doç. Dr. Adem Kara 'ya teşekkür ederim. Elektron mikroskobunda bilgi ve deneyimlerini bana aktaran ve öğrenmemi sağlayan Arş. Gör. Tolga Mercantepe 'ye ve Uzm. Özgen Vuraler'e, ışık mikroskobik işlemleri gerçekleştirirken yaptığı katkılardan dolayı Arş. Gör. Erdem Toktay'a ve Yunus Aktürk'e, projelerinde bursiyer olmama imkan tanıyan Yrd. Doç. Dr. Selina Aksak Karamiş ve Yrd. Doç. Dr. Murat Karamiş 'ye, bahsi geçen süreç boyunca aynı çalışma ortamını paylaştığım, ilgi ve dostluklarını her zaman hissettiğim tüm değerli asistan arkadaşlarıma, katkıları ve sabırlarından ötürü Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli yönetici ve personeline, tüm hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Hilal ATILAY

ÖZET

Deneyisel Obezite Oluşturulmuş Ratlarda, Kuersetin'in Ovaryum Dokusu Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopunda İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmada; obezitenin ovaryum dokusunda meydana getirdiği değişikliklerin gösterilmesini, flavonoidler grubundan doğal bir madde olan ve antioksidan, antienflamatuar, antikanserojenik birçok fonksiyonu olan kuersetinin dokuda oluşan hasarın giderilmesinde oluşacak etkinliğini histopatolojik, immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik metotlarla incelenmesini amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmada 24 haftalık Sprague-Dawley ırkı 24 adet dişi rat kullanılmıştır. Tüm hayvanlar her bir grupta 6 adet hayvan bulunan 4 gruba ayrıldı. Birinci grup olan kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmadı. İkinci gruptaki hayvanlara 15 gün boyunca her gün 50 mg/kg dozunda kuersetin oral yolla verildi. Üçüncü grubu yağlı diyetle beslenerek obezleştirilmiş ratlar oluşturdu. Dördüncü grupta ise obezleştirilmiş ratlara 50 mg/kg dozunda kuersetin oral yolla 15 gün boyunca verildi. Deney sonunda elde edilen ovaryum dokuları ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik yöntemler kullanılarak değerlendirilmeye alındı.

Bulgular: Hem elektron mikroskopik hem de ışık mikroskopik açıdan değerlendirildiğinde kontrol gruplarına kıyasla obezite grubunda bariz bir şekilde parankim içinde yağ dokusu birikimi tespit ettik. Özellikle yağ birikimi olan yerlerde lenfatik hücrelerin infiltrasyonunu, foliküllerin granüloza hücre tabakasının incelendiğini ve hücrelerde apoptotik ve piknotik değişimlerin oluştuğunu gözlemledik. Obezite + kuersetin uygulanmış grupta ovaryum dokusu içerisinde yağ birikiminin obezite grubuna nazaran önemli derecede azaldığını tespit ettik. Gelişmekte olan farklı foliküllerle birlikte preovulatuvar foliküllerde granüloza hücre tabakasının kalınlığı normal olarak izlenmekte ve daha önce obezite grubunda izlediğimiz apoptotik hücreler bulunmamaktaydı.

Sonuç: Obezitenin infertilitede önemli olan ovaryum dokusunda hasarlara neden olduğunu ve oluşan hasarların kuersetin kullanılarak düzeltilebileceğini gösterdik. Kuersetinin dokuda hem folikül gelişimini hem de obeziteye bağlı hasarı pozitif yönde etkilediğini ışık mikroskopik ve ultrastrüktürel parametrelerle göstermiş olduk.

Anahtar Kelimeler: Kuersetin, obezite, ovaryum, rat.

ABSTRACT

Light and Electron Microscopic Investigation of the Effects of Quercetin on Ovarian Tissues of the Experimentally Created Obese Rats

Aim: In this study we aimed to investigate ovarian tissue alterations caused by obesity and elimination of damage by quercetin activity, which is a natural substance from the flavonoids group and has many functions as well as antioxidant, anti-inflammatory, anti-carcinogenic effects, by using histochemical, immunohistochemical and electron microscopic methods.

Material and Method: Twenty-four 24-week-old Sprague-Dawley female rats were used in this study. A total of rats were divided into 4 groups which consist of 6 rats. Any application was performed in the first (control) group. 50 mg/kg quercetin was orally administered during 15 days to the second group animals. The third group constitute high-fat fed obese rats. The fourth group of animals (obese rats) were orally administered 50 mg/kg quercetin during 15 days. At the end of the experiment obtained ovarian tissues were evaluated by light microscopy and electron microscopy methods.

Results: Both the light microscopic and electron microscopic evaluation revealed accumulation of adipose tissue within the parenchyma of the obesity group compared to the control group. Infiltration of lymphatic cells, thinning of the granulosa cell layer of follicles and apoptotic and pyknotic changes were detected especially in the areas of the fat accumulation. In obesity + quercetin applied group accumulation of adipose tissue within the over parenchyma was considerably reduced compared to the obesity group. In preovulatory follicles as well as in developing various follicles the thickness of the granulosa cell layer was appeared as normal and apoptotic cells were absent which previously observed in the obesity group.

Conclusion: As a result, we have shown that obesity cause damage in ovarian tissues which is important in infertility and formed damage can be improved by using quercetin. Also positive influence of the quercetin in both follicle development and obesity induced damage has been pointed out by light microscopy and ultrastructural parameters.

Key Words: Obesity, ovary, quercetin, rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AGO	: Abdomen /Gluteus Oranı
AMP	: Adenozin Monofosfat
AMPK	: Adenozin Monofosfat Aktive Protein Kinaz
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
ATP	: Adenozin Trifosfat
Bax	: Bcl-2-İlişkili X Protein
Bcl-2	: B-Hücre Lenfoma 2
CRH	: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
DEXA	: Dual-Enerji- X Işını Absorpsiyometresi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERKs	: Ekstrasellüler Sinyal Regülasyonlu Kinaz
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GHRH	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
GLUT-4	: Glukoz Taşıyıcı Protein
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HO-1	: Hemoksijenaz-1
HPA	: Hipotalamus-Pituiter-Adrenal Aks
HSL	: Hormon Sensitif Lipaz
IL-1	: İnterlökin-1
IL-10	: İnterlökin-10
IL-6	: İnterlökin-6
IRS	: İnsülin Reseptör Substratı
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
JNK	: c-Jun N-Terminal Kinaz

LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LH	: Luteinleştirici Hormon
MAPK	: Mitogenle Aktive Edilmiş Protein Kinaz
MIP-1α/CCL3	: Makrofaj enflamatuar protein 1a/ kemokin (C-C motif) ligandı 3
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NF-kB	: Nükleer Faktör-Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
NOx	: Azot Oksitleri
Nrf2	: Nükleer Faktörle -İlgili Faktör 2
PAS	: Periyodik Asit Schiff Solüsyon
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PKC	: Protein kinaz C
PPARγ	: Peroksizom Proliferasyonunu Aktive Eden γ Reseptörü
RNS	: Nitrojen Bileşikleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SHBG	: Seks Hormon Bağlayıcı Globülin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikaller
SRY	: Y kromozomunun cinsiyet belirleyici bölgesi
SYA	: Serbest Yağ Asitleri
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
ZP	: Zona Pellusida

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1.	Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik kesitler.....	29
Şekil 4.2.	Kontrol + Kuersetin grubuna ait ışık mikroskopik kesitler.....	30
Şekil 4.3.	Obezite grubuna ait ışık mikroskopik kesitler.....	31
Şekil 4.4.	Obezite + Kuersetin grubuna ait ışık mikroskopik kesitler.....	32
Şekil 4.5.	NF-kB immünohistokimyasal boyama kesitleri	34
Şekil 4.6.	Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik kesitler.....	35
Şekil 4.7.	Kontrol + Kuersetin grubuna ait elektron mikroskopik kesitler.....	36
Şekil 4.8.	Obezite grubuna ait elektron mikroskopik kesitler.....	37
Şekil 4.9.	Obezite + Kuersetin grubuna ait elektron mikroskopik kesitler.....	38

1.GİRİŞ

Obezite; ülkelerin gelişim düzeylerine bakmaksızın, genç yaşlı, erkek kadın ayrımı bulunmayan dünyada hızla yayılan, komponenti olduğu metabolik sendrom ile daha fazla önem kazanan, morbidite ve mortalitede önemli rol oynayan sağlık sorunlarından biridir.

Obezite oluşumunda çevresel ve genetik etkenler rol oynar. Çevresel sebepler içinde ailenin eğitim ve gelir düzeyi, beslenme şekli, öğün sayıları, fiziksel aktivite yetersizliği ve teknolojik aletler karşısında oturarak geçirilen süre sayılabilir. Çocukluk çağında meydana gelen obeziteyi annenin bilinçli olması önleyebilir, örneğin bu konuda yapılan bazı çalışmalar annenin eğitim düzeyi¹, annenin gebelikte sigara kullanması² ile çocukluk obezitesi arasında bağlantı olduğunu göstermektedir. Yapılan başka çalışmalarda ise fiziksel aktivitenin obeziteye % 67. 5 gibi önemli bir etkisinin olduğu saptanmıştır.³ Deney hayvanları kafeslerde, limitli fiziksel aktiviteye rağmen düşük yağlı diyetle beslendiğinde obezitenin gelişmediği araştırılmıştır. Fakat bizim çalışmamızda da olduğu gibi yüksek yağlı diyetle beslendiğinde, hayvanların vücut yağının arttığı ve obezite geliştiği görülmüştür. İnsanlarda yapılan çalışmalarda da yüksek yağlı diyetin yağ depolanmasında artışa neden olduğu bildirilmektedir.⁴ Ülkemizde obezitenin önlenmesi açısından hem anne hem de çocuklara faydalı olunsun diye televizyonlarda zorunlu kamu spotu yayınları düzenlenmekte ve bu yayınlarla obezite ile mücadeleye çocuklar dahil edilmektedir. Böylece obezitenin neden olduğu birçok hastalığın başlamadan önlenmesi istenmektedir.

Obezite multimorbiditeye yol açan tedavi edilebilen kronik bir hastalıktır. Bu olumsuz etkisini insulin direnci ve hipertansiyon gelişimi, trigliserit (TG), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve kolesterolde artışı, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterolde düşüşü, fibrinojen artışı ve endotelial disfonksiyon ile göstermektedir.

Obezlerde; fazla besin alımıyla metabolik yük oluşur ve aşırı yüklenen metabolik yollarda serbest radikal oluşumu artar. Sonrasında buna bağlı antioksidan savunma enzimlerinde azalma veya artış gerçekleşir ve böylece vücutta oksidatif stres meydana gelir. Bu nedenle obezitenin vücutta enflamasyon ve kronik oksidatif strese neden olduğu belirtilmektedir.^{5,6}

Flavonoidler birçok sebze ve meyvede bulunan doğal maddeler olmalarının yanı sıra birçok sistem üzerine faydalı etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Kuersetin bu flavonoid türlerinin en önemlilerinden olup antienflamatuar, antikanserojenik, antiviral ve antialerjik etkileriyle birçok sistem üzerine etkili olduğu bildirilmiştir. Son yapılan araştırmalarda özellikle antioksidan etkinliği vurgulanmaktadır. Farklı dokularda antioksidan etkisiyle doku hasarını onardığı literatürde yer almaktadır. Obezite de vücutta oksidatif strese neden olduğundan, ovaryum dokusunda obezitenin oluşturduğu hasar ve kuersetinin bu hasar üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla bu tez oluşturulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite; genetik ve çevresel etkenlere bağı, yaşam kalitesini ve süresini olumsuz yönde etkileyen multifaktöriyel bir hastalıktır. Obezite neredeyse tüm yaş ve sosyoekonomik gruplarda görülen, ciddi sosyal ve psikolojik boyutları olan, tehdit edici sağık durumudur.⁷ 1995 yılında, dünya çapında tahmini olarak 200 milyon obez yetişkin ve 18 milyon beş yaş altı çocuk kilolu olarak sınıflandırılırken, 2000 yılı itibariyle obez yetişkinlerin sayısı 300 milyonun üzerindedir. Dünya Sağık Örgütü (DSÖ) verilerine göre; 2014 yılında, 1,9 milyar yetişkin aşırı kilolunun 600 milyonu yani dünyanın yetişkin nüfusunun yaklaşık %13 obezdir.

Obezite tedavisi bilinen, fakat tedavisi birçok faktöre bağı olduğundan tedavide başarı oranı düşük olan kronik bir hastalıktır. Gelişen dünyanın önemli sorunlarından biri olan obezite, oluşumunda hem genetik alt yapı hem de çevresel faktörlerin rol oynadığı önemli bir durumdur. Obezitenin prevalansındaki artışın nedenlerine modern yaşamın bize sağladığı yeni beslenme alışkanlıkları ve teknolojinin hayatımızı kolaylaştırmak için fiziksel aktivitelerimizi azaltması sayılabilir.⁸

Obezite, bilinenin aksine fazla kiloluluk değildir. Vücutta sağığı bozabilir düzeyde, gereğinden fazla yağ miktarının artmasıdır.⁹ Kilo artışı ise yağ artışının fiziksel olarak gözükmesidir. Bir başka tanıma göre, alınan besinlerin kalori değeri ile harcanan enerji arasındaki mevcut dengenin, besinlerden alınan enerji tarafına doğru kayması ile ortaya çıkar.⁸

Sağlıklı vücut yapısında belirli oranda yağ dokusu vardır ve kadınlarda erkeklere oranla yağ dokusu daha fazla bulunmaktadır. Vücuttaki yağ dokusu oranları çeşitli yöntem ve cihazlarla ölçülebilmektedir. Bu ölçümler direkt ve indirekt ölçüm yolları olarak iki grupta incelenmektedir. Direkt ölçüm yolları; kimyasal analiz ile ölçüm, toplam vücut elektriksel geçirgenliğinin saptanması, dual-enerji- X ışını absorpsiyometresi (DEXA), vücuttaki potasyum miktarının ölçülmesi, biyoelektriksel impedans analizi, vücut suyunun izotop dilusyonu ile saptanması, ultrason, bilgisayarlı tomografi, toplam vücut nitrojeninin ölçülmesi, vücut dansitesinin ölçülmesi, nükleer magnetik rezonans ile yağ kalınlığının ölçülmesidir. Fakat bu yöntemlerin çoğu laboratuvar ortamında sınırlı kalmıştır.^{10,11}

İndirekt yöntemler; boy-yaş-cinse göre düzenlenmiş ağırlık cetvelleri, vücut kitle indeksi, abdomen /gluteus oranı (AGO), deri kıvrımı kalınlığının ölçülmesi, vücut yağ yüzdesinin hesaplanmasıdır. Vücut kitle indeksi en çok kullanılan obezite belirleme yöntemidir; vücut ağırlığının kg olarak, boyun metre olarak karesine oranlanması ile elde edilir. İndeksin 25-30 arası olması fazla kilolu, 30-40 arası obez ve 40' dan fazla olması aşırı obez olarak kabul edilir.¹²

Obezitenin morbiditede etkili olduğu ve neden olduğu komplikasyonlarla mortaliteye sebep olduğu bilinmektedir. Bu komplikasyonların bazıları şunlardır:

Kardiyovasküler Sistem: Hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, derin ven trombozu, variköz venler, serebrovasküler hastalık, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi.

Solunum Sistem: Pick-Wick Sendromu, uyku apnesi, primer alveoler hipoventilasyon, pulmoner fonksiyon bozuklukları.

Gastrointestinal Sistem: Hiatus hernia, hemoroid, herni, kolorektal kanser, karaciğer yağlanması ve siroz, safra kesesi hastalıkları.

İmmun Sistem: Azalmış hücrel immünite.

Ürogenital Sistem: Proteinüri, göğüs kanseri, jinekomasti, endometrial kanser, servikal kanser, prostat kanseri.

Deri: Mantar enfeksiyonları, sellülit, lenfödem, akantozis nigrikans, fragilis kutis inguinalis.

Kas iskelet sistemi: Blount hastalığı, gut, osteoarthritis, kapital femoral epifiz kayması.

Metabolik Sendrom: Hiperlipidemi, insulin direnci, diyabetes mellitus, hiper androjenizasyon, menstruel düzensizlikler.^{7, 13}

Obezitenin kadınlarda en çok neden olduğu problemler; fertilitede azalma, erken menarş ve menopoz, libido ve poteste azalma, polikistik over hastalığı (PCOS) ve menstrüel bozukluklarıdır. Obezitenin reproduktif sistem üzerindeki etkisi erken yaşlarda meydana gelen puberte ile başlayıp menopozdan sonrada da devam eder. Bu etkilerini daha çok hormonlarla göstermektedir. Vücutta yağ oranı artışı seks steroidlerinde dengesizliğe neden olur bunu da androjenlerin östrojene aromatisasyonu ile yapar. Obezitede; androjen dönüşümü hızlandıkça, androjen sentezi de artar. Bununla birlikte östrojen/ androjen oranı da artmaya devam eder ve artan hormon düzeyini baskılamak için seks hormon bağlayıcı globülin (SHBG) azaldığından, buna bağlı serbest östrojen ve testosteron miktarı da artmış olur. Sonuç olarak; kadınlarda menstrüel düzensizlikler oluşur.

Obezitenin oluşumunda birçok mekanizma rol alır. Özellikle santral obezite gelişiminde hormonlar daha etkili rol alır. Bu hormon değişikliklerinin en önemlisi hipotalamus-pituiter-adrenal aksdan (HPA) kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgılanması ile olur. CRH; gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve büyüme hormonu salgılatıcı hormonu (GHRH) baskılar ve sonuç olarak seks hormonu ve büyüme hormonunun sentezinde azalma olur. Kadınlardaki infertilite ve menstruel düzensizliğe, yüksek androjen ve düşük progesteron düzeyleri de yol açabilir. Artan testosteron miktarı glikojen sentezini ve glukoz transportunu etkileyerek insülin direncine yol açar. Obez bireylerde kortizol sekresyonunda artış da kanıtlanmıştır.¹⁴ Kortizol, insülin direncine karaciğerde glukoneogenezi artırarak, kas dokusunda glikojen sentezini ve glukoz taşıyıcılarını bloke ederek neden olur. Kortizol aynı zamanda dokularda lipoprotein lipaz aktivitesini artırarak yağ birikimine neden olur. Büyüme hormonu gibi testosteron da lipid mobilizasyonunu etkileyerek lipoprotein lipaz aktivitesini azaltır. Yani bu iki hormondaki azalma yağ birikimine neden olur.¹⁵ Dolaşımdaki serbest yağ asitleri (SYA), siklik adenzin monofosfat (AMP)-bağımlı hormon sensitif lipaz (HSL) aracılığıyla adipoz dokudaki trigliseritlerin ve diğer dokularda ise lipoprotein lipaz aracılığıyla lipoproteinlerdeki trigliseritlerin indirgenmesi ile oluşmaktadır. Portal venede SYA' ların çoğalması karaciğerde glukoneogenezi uyararak glukoz miktarını artırır, insülin miktarını azaltır ve karaciğerden kana VLDL (çok düşük dansiteli lipoprotein) salınımı artar. Artmış SYA, iskelet kasında ise glukoz alımını, glukoz oksidasyonunu ve glikojen sentezini azaltır ve pankreasın insülin cevabını baskılayarak insülin salınımını azaltır. SYA oksidasyonu ile oluşan asetil CoA, pirüvat dehidrogenazı inhibe eder ve glukoz kullanımını azaltır. Diğer taraftan adipoz dokudan salgılanan tümör nekroz faktör

alfa (TNF- α), reseptör tirozin kinazları inhibe eder, glukoz taşıyıcı protein GLUT-4'ün ekspresyonunu azaltır ve bu yolla insülin direncine yol açar. Obezlerde insülin direnci oluşumu ile beraber, aktive olan M1 makrofajlarının hem adipoze dokuda insülin direncini tetiklediği hem de düşük dereceli sistemik enflamasyona yol açtığı belirtilmektedir. Düşük yoğunlukta inflamasyonun da sistemik insülin direncinde etkili olduğu belirtilmektedir ve bu sebeple de insülin direnci ve Tip 2 diyabet gibi metabolik komplikasyonların gelişimine katkıda bulunur.^{16, 17} Obezitede yağ dokusunda oluşan enflamasyon makrofajların doku içinde infiltrasyonu ve aktivasyonu ile karakterizedir. Doku içine göç etmiş makrofajlar sitokin üretimini artırarak dokuda enflamatuar yanıtları da şiddetlendiriyor.¹⁶⁻²⁰ Makrofajların artmış aktivasyonu TNF- α , interlökin-6 (IL-6) gibi proenflamatuar sitokinlerin salınımının artışına neden olmaktadır.^{17, 19} Kemokinler reseptörlere bağlanarak kemotaktik aktivite artışını ortaya çıkarır, makrofajların/monositlerin hem migrasyonunu hem de onların aktivasyonunu teşvik eder.^{21, 22} Endotoksinle-uyarılabilir C-C kemokin ailesine mensup, makrofaj enflamatuar protein 1a/ kemokin (C-C motif) ligandı 3'ün (MIP-1 α /CCL3), monositlerin kemotaksisi olayında kilit rol oynayan karakteristik bir kemokin olduğu gösterilmiştir.^{23, 24} Adipoz doku kaynaklı kemokin, MCP-1/CCL2, yağ dokusu içinde makrofajların infiltrasyonunu uyardığı ve makrofajları aktive ettiğinden yağ dokusunda enflamatuar yanıtların genişletilmesinde çok önemli konuma sahiptir.

Obezlerde fazla besin alımına bağlı metabolik yük artışı ve buna bağlı olarak reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumu artar.⁶ Obezlerde meydana gelen oksidatif stres artışını açıklayan farklı mekanizmalar vardır: lipit ve glukoz metabolizmasının değişimi, Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADPH) oksidazlardan

süperoksit oluşumu, oksidatif fosforilasyon, gliseraldehid oksidasyonu, protein kinaz C (PKC) etkinliği ve poliolhekzamin yolu kronik enflamasyon, doku disfonksiyonu, hiperleptinemi ve anormal ROT oluşumu bunlardan bazılarıdır. Obezitede önemli rolü olan oksidatif stres, ROT ile hücrenin antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlikten ortaya çıkar. Aşırı artışı ile metabolik sendroma neden olan oksidatif stres preadiposit çoğalmasını, adipositlerin farklılaşma seviyesi ve büyüklüğünü arttırdığından, adipoz doku ile orantılıdır.²⁵ Obezitede TNF- α , Nükleer faktör-kappa B (NF-kB), interlökin gibi birçok sitokin sentezlenmesi dokularda lipid peroksidasyonunu artırarak ROT üretimini stimüle eder. ROT arttığında ve antioksidan sistemi yetersiz kaldığında deoksiribonükleik asit (DNA), protein ve lipidlerin oksidasyonu ile hücre zedelenmesi, nekroz ve apoptozis oluşur.

2.2. Ovaryum

2.2.1. Ovaryum Anatomisi

Ovaryumlar; insanda uterusun her iki tarafında lateral pelvik duvarlara yakın konumda fossa ovarika içinde konumlanmışlardır.²⁶ Ovaryumlar; 2,5-5 cm uzunluğunda, 1,5-3 cm genişliğinde, 0,7-1,5 cm kalınlığında ve 4-8 gr ağırlığındadır.²⁷

Facies lateralis ve facies medialis olarak iki yüzü, margo liber ve margo mesovaricus olmak üzere iki kenarı, extremitas tubaria ve extremitas uterina olarak iki ucu vardır.

Ovaryumun arterleri, abdominal aortadan çıkan sağ ve sol a.ovaricalar'dır.²⁸

Ovaryumun venleri, hilum ovarii'den çıkar ve plexus pampiniformis denilen venöz ağı meydana getirdikten sonra v.ovarica'yı oluştururlar.^{28, 29}

Ovaryumun lenfatikleri, nodi lymphatici preaortici ve nodi lymphatici aortici lateralis'lere açılırlar.²⁹

Ovaryumun sinirleri, plexus hypogastricus inferior ve a.ovarica'nın çevresindeki plexus ovaricus'dan gelir.^{28, 30}

Organa damar ve sinirlerin girip çıktığı bölge olan hilus, mezovaryum dokusu ile uterusun yan kenarlarında uzanan ligamentum latuma asılıdır.³¹ Renkleri pembemsi-gri olan ovaryumların yüzü puberteye kadar peritonla örtülü olduğundan düz ve parlaktır. Puberteden sonra periton özelliğini yitirdiğinden matlaşır. Ovulasyon ve doğurmaya bağlı olarak da üzeri pürüklü bir görünüm alır.³²

2.2.2. Ovaryum Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti, sekonder oositi dölleyen spermin türüne bağlı olarak dölleme sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, yedinci haftaya kadar gonadlar erkek ve dişi olarak farklılaşmamıştır.^{33, 34}

Cinsiyetin farklılaşmasında birçok gen rol oynar ve karmaşık bir süreçtir. Y kromozomunun cinsiyet belirleyici bölgesinde yerleştiği saptanan SRY geni, Testis belirleyici faktör (TDF) için gereklidir. Bu faktörün var olması durumunda fetüsün cinsiyeti erkek, olmaması durumunda ise kızıdır.³⁵

Memeli ovaryumu somatik hücreler ve germ hücreleri olmak üzere genel iki hücre popülasyonu içerir. Ovaryumun somatik unsurları embriyonik genital kabartıdan gelişir.³⁶ Gametleri oluşturacak primordiyal germ hücreleri ise gelişimin

ikinci haftasında epiblastan köken alır ve ameboid hareketlerle vitellüs kesesinden göç ederler.³³ Primordiyal germ hücreleri daha sonra embriyonun kaudalinde yerleşik ekstra embriyonik mezoderimde görülürler. Dördüncü haftada da son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek, beşinci haftanın başında gonadal kabartılara ulaşırlar. Altıncı haftada ise genital kabartıda gözlenirler. İzlenen bu yola germ çizgisi adı verilir.³³ Gonada girdikten sonra bölünerek oogonia olarak isimlendirilen germ hücreleri ile ileri gelişimi desteklemede yardımcı fonksiyon gören somatik (pregonüloza) hücreler birbirine karışırlar.³⁷ Tek bir hücre (progenitör hücre), bölünerek 2ⁿ sayıda birbirine sitoplazmik köprülerle bağlı hücre kümeleri meydana getirir.^{33, 38}

Primordial germ hücreleri göç etmeden biraz önce ya da göçleri sırasında, gonad kabartısının sölom epiteli tekrar çoğalarak mezenşime yayılıp düzensiz primitif seks kordonlarını oluştururlar. Yedinci haftadan önce, her iki cinsin gonadları birbirine benzer ve farklanmamış gonadlar olarak adlandırılırlar.³⁴ Farklanmamış gonad dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX kromozomuna sahip ise, farklanmamış gonadın korteksi ovaryuma farklılaşır, medullası ise geriler. Embriyo XY kromozoma sahipse, medulla testise differe olur, korteks ise bazı kalıntıları dışında gerileyerek dejenere olur.^{33, 39}

Dişi embriyolarında, X kromozomları ovaryum gelişmesi için genler taşıırken, ovarian organogenez'de otozomal bir geninde etkili olduğu belirlenmiştir.^{35, 40} Ovaryumlar, histolojik olarak onuncu haftaya kadar ayırt edilemezler. Primitif seks kordonları erkek embriyonlarda, dişi embriyonlarınkinden daha belirgindirler. Dişilerde bu kordonlar, gonadların medullasına kadar uzanırlar ve rete ovarii'yi

oluştururlar. Kortikal kordonlar denilen ikinci cinsiyet kordonları, erken fetal dönemde, gelişmekte olan gonadın yüzey sölom epitelinden başlayarak altındaki mezenşime doğru gelişmeye başlarlar. Kortikal kordonlar kalınlaşması sölom epitelinin çoğalmasıyla olur ve oogonyumlar bu kordonların içine karışırlar.^{41, 42}

Oogonyumların çoğunluğu mitozla bölünmeyi sürdürürken, bir kısmı bölünmesini I. Mayoz bölünmenin profazın diploten evresinde durdurarak primer oositlere farklılaşır. Gelişimin beşinci ayında ovaryum içindeki germ hücrelerinin sayısı pik yaparak ortalama yedi milyona ulaşır. Bu evreden sonra hücre ölümü başlar ve yüzeye yakın yerleşmiş birkaç oogonyum dışında çoğu dejenere olup atretik hale gelir. Hayatta kalan primer oositler, tek sıra yassı folikül hücre katmanıyla çevrelenirler. Primer oosit, çevresindeki yassı epitel hücreleriyle birlikte primordiyal folikül adını alır.^{33, 39} Doğumdan sonra ovaryumun yüzey epiteli düzleşir ve tek tabakalı hale gelen hücreler, ovaryum hilumunda, periton mezoteli ile devamlılık kazanırlar. Ovaryum folikülleri oluşurken yüzey epiteliyle olan bağlantılarını kaybederler. Yüzey epiteliyle ovaryum korteksi arasında tunica albuginea denilen ince fibröz bir kapsül gelişir. Mezonefroz gerilerken ovaryum ondan ayrılır ve mezovaryum denilen kendi mezenteriyyle vücut duvarına asılır.³⁴

2.2.3 Ovaryum Histolojisi

Ovaryum; tek katlı yassı epitelden, kübik epitele kadar değişkenlik gösteren bir epitel ve epitelin hemen altındaki tunika albuginea denilen bir bağ dokusu katmanıyla çevrelenmiştir.⁴³ Peritona bakan epitelin yüzünde mikrovilluslar ve az sayıda kinosilyalar bulunur. Hücre sitoplazması da mitokondriyum ve pinositoz veziküllerinden zengindir.⁴⁴

Kesitlerde her bir ovaryumun içte medulla, dışta korteks olarak iki bölümü ayırt edilir. Bu katmanlar arasında kesin bir sınır yoktur.^{45, 46} Ovaryumun merkezi olan medulla büyük kan, lenf damarları ve sinir lifleri içerir ve gevşekçe örgü oluşturan kollajen ve elastik lifler ile fibroblastlar içeren bağ dokusundan oluşur. Foliküler atrezi sırasında granüloza hücreleri ile oositler dejenerasyona uğrarken, teka interna hücreleri etkin steroid salgı yapmayı sürdürürler. Medulla da yerleşik bu epitelooid hücrelere ‘interstisyel hücreler’ denir. Bu hücreler, kümeler oluşturmak üzere bir araya gelirler ve ‘interstisyel bezleri’ oluştururlar. İşlevlerini puberteden başlayıp menapoza kadar sürdürürler ve östrojen salgırlarlar.³⁰ Hilus hücreleri ovaryum medullasındaki diğer epitelooid tip hücrelerdir. Bu hücreler testislerdeki Leydig hücreleriyle aynı miktarda organel içeriğine ve sitoplazmik özelliğe sahiptirler. Ayrıca androjenleri salgırlarlar.^{30, 44}

Korteks, stroma ve çeşitli gelişim evrelerindeki ovaryum foliküllerinden oluşur. Stroma, kollajen ve elastik lifler, retiküler lif ağları ve iğ biçimli bağ doku hücrelerinden (fibroblastlar) yapılmıştır. Bu fibroblastlar, hormonal uyarılara diğer organların fibroblastlarından farklı yanıt verir. Korteksin bu interstisyel bağ dokusu epitel altında sıkılaşıarak tunika albuginea’yı oluşturur.^{30, 43, 44, 47}

Kortekste stroma içinde çeşitli gelişim evrelerinde foliküller yerleşmiştir. Ovaryum folikülleri, ortada iri bir germ hücresi (oosit) ile bunu çevreleyen folikül epitelinden oluşan yapılardır ve gelişimin farklı evrelerinde farklı isimler alırlar.^{26, 43}

Ovaryumun erken foliküler gelişimi, birbirleriyle oldukça koordineli çalışan, ovaryuma spesifik faktörler, lokal büyüme faktörleri, ovaryum steroid hormonları ve muhtemelen gonodotropinler aracılığıyla düzenlenir.^{48, 49}

Primordiyal folikül, gelişimin 3. ayı itibariyle ovaryumlarda görülen ilk foliküldür.⁴⁸ Erken dönemde oogonium hücrelerinin sayısı mitozla artar, bu artışla bazı hücreler primer oositleri meydana getirirler. Oositlerin pregranüloza hücreleriyle bağlantı kurması sonucu primordiyal foliküller şekillenir.⁵⁰⁻⁵³ Primordiyal folikülün oluşması sırasında, apoptozisi TNF- α uyarırken, B-hücre lemfoma 2 (Bcl-2) da germ hücrelerinin korunmasını sağlar.^{48, 54-56}

Primer folikül; pubertenin başlamasıyla, her menstrual döngüde 5- 15 arası primordiyal folikülün olgunlaşmasıyla oluşur. Büyümenin ilk işareti yassı folikül epitel hücrelerinin kübikleşmesi sonucu tek tabakalı (unilaminar) primer folikül oluşmasıdır. İlerleyen aşamalarda folikül hücrelerinin çoğalmasıyla çok tabakalı (multilaminar) primer folikül oluşur. Çoğalan folikül hücreleri de granüloza hücreleri adını alır. Granüloza hücreleri ile oosit arasında oluklu bağlantılar (neksus) oluşur. Bunlar besleyici maddelerin, iyonların ve düzenleyici moleküllerin geçişine olanak sağlar.^{30, 44, 57}

Granüloza hücreleri çoğalırken çevredeki stroma hücreleri de folikülü bağ dokusundan oluşmuş bir kılıfla sararak teka folikül katmanını oluşturur. Teka katmanı geliştikçe iki tabakaya ayrılır. İçte teka interna denilen oldukça damarlı, kübik salgı hücrelerinden oluşan kat yer alır. Bu kübik hücreler farklılaşarak steroid hormon üreten hücrelere dönüşürler. Luteinleştirici hormon (LH) reseptörü taşıyan hücreler östrojen öncülü androjenleri salgırlar. Teka interna katmanı fibroblastlar, kollajen lifler ve küçük damarlardan oluşur. Dışta bulunan kat ise teka eksternadır. İçerdiği kollajen demetler ve düz kaslarıyla daha çok bir kapsül görevi görür. Teka eksterna katmanı ile ovaryumun stroması arasındaki sınır tam olarak belirgin

olmamasına karşın teka interna ile granüloza katmanı arasındaki sınır burada bulunan bazal lamina (membrana limitans eksterna) ile oldukça iyi belirlenmiştir.

Oosit, folikül gelişimi sırasında kendi çevresinde, glikozaminoglikan ve glikoproteinlerden zengin bir katman olan zona pellusidayı (ZP) oluşturur. ZP, homojen, asidofilik, Periyodik Asit Schiff solüsyonuyla (PAS) pozitif ve oldukça iyi boyanan jel kıvamında bir yapıdır. Zona pellusida ZP1, ZP2 ve ZP3 denilen 3 farklı glikoproteinden oluşur.

Çok katmanlı primer foliküllerin gelişimi ilerledikçe granüloza hücrelerinin arasında içi sıvı dolu boşluklar oluşur ve bu boşluklar kısa sürede birbirleriyle birleşerek yarım ay şeklinde folikül antrumunu meydana getirir. Sekonder folikülün granüloza hücrelerinin çoğalması hipofizin ön lobundaki bazofil hücrelerden salınan folikül uyaran hormona (FSH) bağlıdır. FSH'nun etkisi altında granüloza hücrelerinin sayısı artar ve hücrelerarası boşluğa folikül sıvısı birikir. Bu sıvı glikozaminoglikan, proteoglikan ve hormon bağlayıcı proteinlerden zengin plazma benzeri yapıdadır. Ayrıca folikül sıvısı hormonlardan progesteron, östradiol, inhibin, follistatin ve FSH ile LH'in salınımını düzenleyen aktivin içerir.

Graaf veya preovulatuvar folikül; zamanla granüloza hücreleri yeniden düzenlenmeye başlar ve primer oosit bir miktar granüloza hücresiyle birlikte antrum boşluğu içinde bir kenara toplanır. Bu yapıya kumulus ooforus denir. Zona pellusida çevresinde gevşek yerleşmiş kübik ya da alçak boylu prizmatik granüloza hücreleri sitoplazmik uzantılarıyla oosit ile bağlantılarını sürdürmektedirler. Primer oosit'i çevreleyen bu tek sıralı granüloza hücre katmanına korona radiata denir. Diğer granüloza hücreleri poligonal şekillidirler. Oosit sitoplazmasında mitokondriyumlar

çekirdek yakınında toplanırlar. Sitoplazmada protein-lipit yapısında vitellus oluşmaya başlar. Bu evrenin sonuna doğru stromal hücreler genişlemeye başlar ve teka interna yaygın ağ oluşturmuş kapillerle beslenir.

Atretik foliküller; ovaryum içinde atretik olmuş foliküllere de bulunmaktadır. Bu foliküller; farklılaşmamış primordiyal foliküller olabileceği gibi lütealizasyonu tamamlamış korpus luteumlar da olabilirler.

Korpus luteum; Ovülasyonun gerçekleşmesi ile birlikte iç teka hücreleri ve granüloza hücrelerinin tamamı, korpus luteum olarak isimlendirilen steroid hormon salgılayan bir beze farklılaşmaya başlar. Eğer döllenme gerçekleşmemişse korpus luteum geriler. Bu olay luteoliz da olarakta bilinir. Daha sonra folikül fibrotik dokuya değişir ve bu yapıya da korpus albicans denir.^{58,59}

2.3.Kuersetin

Obeziteye bağlı oksidatif stres ve kronik enflamasyona karşı etkili farmakolojik tedaviler daha da geliştirme aşamasında olduğundan, vücudun antioksidan ve antiinflamatuvar kapasitesitelerini arttıracak doğal bileşiklerin araştırılması son zamanlarda büyük ilgi çekmektedir. Diyetle alınan antioksidanlardan olan polifenolik bileşikler kanser, koroner kalp hastalığı, ateroskleroz gibi oksidatif stres ile ilişkili birçok hastalığın patogenezinine karşı potansiyel koruyucu etkilere sahibler. Flavonoidler doğal olarak bütün bitkilerde mevcut olan, düşük molekül ağırlıklı polifenolik bileşiklerin büyük bir grubunu oluşturmaktadır. Bir flavonoid türü olan kuersetin (3,3,4,5,7-pentahidroksiflavon), genellikle şekerin aglukon ile birleşmiş glikozidik formu olup, bitkisel gıdalarda çok geniş bulunduğundan günlük diyetle değişik oranlarda alınmaktadır.^{60, 61} Kuersetinin

antienflamatuar, antikanserojenik ve antiviral, antialerjik etki gibi biyolojik fonksiyonların geniş bir yelpazesini etkilediği farklı çalışmalarda vurgulanmıştır.⁶² Ayrıca, in vitro birçok çalışmada kuersetinin antioksidan aktivitesi gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalarda kuersetinin izole sıçan adipositlerinde glikoz alımını engellediği ve epinefrine sinerjik bir etki ile de lipolizi arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte hücre proliferasyonunu azaltarak hücre döngüsünü duraklattığı, preadipozitler dahil, çeşitli hücre hatları ile yapılan in vitro deneylerde apoptoza neden olduğu da literatürde yer almıştır.⁶³⁻⁶⁷

Kuersetinin antiobezite etkileri araştırılırken, kuersetin tedavisinin preadipositlerin diferansiyasyonunu doza bağımlı inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu tür inhibisyon geniş transkripsiyon faktörleri ağı ve adipogenezisile ilgili enzimler tarafından düzenlenmektedir. Bahsi geçen bu çalışmada kuersetin tedavisinin farklı transkripsiyon faktörlerini inhibe ederek, preadipositlerin adipositlere dönüşümünü engellediği vurgulanmıştır.^{68, 69} Kuersetin adenozin monofosfat-aktive protein kinaz (AMPK) aktivasyonunu aktive ederek, substratların fosforilasyonuna neden oluyor. Fosforile edilerek inhibe olan substratlar sonuç olarak adipogenezin inhibisyonunu tetikler.⁷⁰⁻⁷² Bu konuda çok dikkat çekici diğer bir olay kuersetinin apoptotik etkisiyle ilgilidir. Kuersetinin olgun adipositlerde apoptotik aktiviteyi arttırdığı gösterilirken, kuersetin -indüklü apoptozisin kaspaz aktivasyonu ile kontrol edildiği gösterilmiştir. Kuersetinle -indüklenmiş apoptoz pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri, Bax ve preadipositlerde kaspaz-3 aktivasyonu ile ilişkilidir.⁶⁶ Kuersetinin apoptozu uyarıcı mekanizmaları mitogenle-aktive edilmiş protein kinazı (MAPK), özellikle ekstrasellüler sinyal- regülasyonlu kinazı (ERKs) içermektedir. MAPK yolağı TNF- α ve NF-kB'nin önemli aktivatörüdür ve kronik enflamasyonda anahtar rol oynar.⁷³

ERK yolağı öncelikle mitojenler ve büyüme faktörlerine karşı duyarlı olup, hücre çoğalması ve diferansiasyonunda önemli rol oynar.⁷⁴ Tümör hücre hatlarında ERK sinyalizasyonu inhibisyonunun apoptozu güçlendirdiği bildirilmiştir.⁷⁵ Bu sonuçlarla uyumlu farklı bir çalışmada ise kuersetin tedavisinin fosfo- ERK düzeylerini azalttığı bildirilmiştir.⁷² c-Jun N-terminal kinaz (JNK), MAPK'ın alt-grubunu oluşturan protein olup, enflamasyonun önemli bir düzenleyicisidir ve aynı zamanda da insülin aktivitesini etkiler. Son zamanlarda, JNK aktivasyonunun obezite ve insülin direnci ile ilişkili olduğu göstermiştir ve buna istinaden JNK inhibitörlerinin diyabet ve diğer metabolik hastalıkların tedavisinde kullanımı artmaktadır.⁷⁶⁻⁷⁸ Kuersetin tedavisinin fosforile olmuş JNK seviyelerini düşürmesi, kuersetinin antiobezite etkisini JNK yolağının inhibisyonu aracılığıyla gerçekleştirdiğini göstermektedir.⁷²

Metabolik hastalıklar yağ dokusu içinde kronik inflamasyon ile bağlantılı olduğundan kuersetinin obeziteyi antienflamatuar aktivitesi ile iyileştireceğini de açıklanmıştır. Metabolik hastalıkların tedavisinde kuersetinin gündeme gelmesi çeşitli kemokinlerin salınımını inhibe edici etkisine bağlı ortaya çıkmıştır. Enflamasyonun ileri evresi olarak kabul edilen obezite leptin seviyelerinde değişiklikler ve adipositlerden sitokin salınımı ile karakterizedir.⁷⁹ Bu durum enflamasyon sinyal iletim yolaklarının, örneğin NF-kB aktivasyonu yolağı, aktive edilmesiyle oluşur. Olaylar zincirinin devamında birçok enflamatuar proteinlerin sentezlenmesi artar.⁸⁰ Kuersetin sitokin üretimi ve fonksiyonlarını selektif biçimde etkiler. Örneğin, TNF- α ve IL-6 salınımını inhibe ederek ve aynı zamanda interlökin-10 (IL-10) salınımını uyararak antienflamatuar etki gösterir ve bu etkisini lipopolisakkaridlere bağımlı yolağı inhibe ederek azalttığı bilinmektedir.^{81, 82} Kuersetinin antienflamatuar etkilerinin birçok mekanizmayla açıklanmasına rağmen

bunlar arasında en önemli olanları adipositlerde ERK fosforilasyonunun baskılanması, makrofajlarda NF-kB aktivasyonunun inhibisyonu ile ilgilidir.^{72, 83, 84} NF-kB aktivasyonunun inhibisyonu hem NF-kB/IkB kompleksinin stabilizasyonu, hem de TNF- α dahil proenflamatuar sitokinerin baskılanmasıyla gerçekleştirilir.⁸¹ Obezite adipoz dokularda TNF- α oluşumunda artış ve adiponektin gibi antiinflamatuvar adipositokinlerin plazma konsantrasyonlarının azalması ile karakterize bir durumdur. Kuersetin tedavisi TNF- α oluşumunun ve azot oksitleri (NOx) seviyelerinin azalmasına ve adiponektin yoğunluğunun artışına neden olarak direkt yolla proenflamatuar durumu iyileştirmektedir.⁸⁵⁻⁸⁷ Birçok metabolik bozuklukta indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) üretimi proenflamatuar sitokinler tarafından uyarıldığından NOx'in plazma seviyelerindeki artış iNOS tarafından nitrik oksit (NO)'nun aşırı üretimini yansıtmaktadır.⁸⁸⁻⁹¹ Bu yüzden proenflamatuar sitokinlere bağlı iNOS üretimini inhibe eden tedavilerin metabolik sendromlardaki değişiklikleri iyileştireceği beklenmektedir. Son yapılan çalışmalarda kuersetinin obez ratlarda iNOS ekspresyonunu, NO ve TNF- α salınımını düzenleyerek, NF-kB yoluyla inhibisyonu gerçekleştirdiği ifade edilmiştir.^{82, 92} MAPK ve Toll-benzeri reseptör sinyalizasyonu NF-kB, TNF- α , IL-1 β and IL-6 gibi erken adipogenik ve inflamatuvar faktörleri uyararak adipogenezisi stimule ettiği de bilinmektedir.⁹³ Kuersetin erken adipogenezde MAPK sinyal ekspresyonu inhibe ederken, NF-kB, TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin inhibisyonuna neden olan adiponektinleri uyararak da lipid birikimini baskılar.^{94, 95}

Obezitede organ yetmezliği oksidatif stres ve enflamasyona bağlı gelişiyor.⁹⁶ Obeziteye bağlı inflamatuvar yanıtlar oksidatif stres, endoplazmik retikulum (ER) stresi, hipoksi gibi çok yönlü hücrel olaylara bağlıdır.^{97, 98} Obezitenin gelişimi ve

ilerlemesinde oksidatif stresin kritik öneme sahip olması, obezite tedavisinde antioksidanların terapötik ajan olarak kullanımı hipotezine ışık tutuyor ve antioksidanlar arasında, yan etkilerinin çok az oluşu dikkatleri polifenolik bileşiklere yönlendiriyor. Kuersetin ROT ve nitrojen bileşiklerine (RNS) karşı kuvvetli antioksidan ve radikal temizleyici özelliği bulunan doğal maddedir.⁹⁹ Serbest radikalleri ve lipit peroksidleri direkt baskıladığı, non-enzimatik antioksidanların oluşumunu dolaylı olarak arttırdığı ve in vivo koşullarda antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır.⁹⁹ Oksidatif stres ve enflamasyon göstergilerinden olan, nükleer faktörle ilgili faktör 2 (Nrf2), hemoksijenaz-1 (HO-1) ve NF-kB'nin ekspresyonunu onarması yağ dokusu üzerinde antiinflamatuvar etkilerinin desteklemektedir.¹⁰⁰ Adipoz dokularda metabolik değişimlerin düzenlenmesi ROT ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi bileşimlerin kaynağını oluşturur. Sürekli oluşan ROT superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi endojen hücresel antioksidan mekanizmalar tarafından kontrol altında tutulur. ROT üretimi ve hücresel antioksidan savunma sistemi arasında oransızlık oksidatif stres oluşumuna neden olur.¹⁰¹ Yağ hücrelerinde, aşırı ROT üretimi ER ve mitokondri fonksiyonlarını ve aynı zamanda hücre sinyal yollarını değiştirerek, dokuda enflamasyon oluşumunu uyarıyor.^{102, 103} ROT bağımlı inflamatuvar sitokinlerin oluşumu ilk basamakta TNF- α salınımıyla ilişkilidir. TNF- α insülin direncinin oluşumunda önemli bir rol oynayarak, obezite yağ dokusunda enflamasyon gelişiminde ikincil önemli mediatör işlevini görür. TNF- α NF-kB yolağını aktive ederek IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olur.^{18, 103, 104} Obezite, aynı zamanda kronik ve düşük dereceli enflamasyon gelişimine katkıda bulunan, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin artışı ile ilişkili bir

durumdur.^{85, 105} TNF- α enflamasyonu başlatarak serin/treonin kinaz fosforilasyonunu uyarır ve bu kaskad MAPK, ERK ve JNK ve NF-kB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna neden olur.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Bu proteinler indirekt yolla enflamatuar genlerin transkripsiyonunu uyararak ve peroksizom proliferasyonunu aktive eden γ reseptörünü (PPAR γ) antagonize ederek, veya doğrudan insülin reseptör substratını (IRS) azaltarak insülin sinyalizasyonu bozar ve böylece insülin direncinin gelişimine neden olur.^{77, 108} Oksidatif strese bağlı olarak NF-kB ekspresyonu artarken, kuersetin tedavisinin bu artışı baskılaması antiinflamatuvar özelliklerini doğrulamaktadır.¹⁰⁰

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Etik Kurul, Deneklerin Temini ve Deney Grupları

3.1.1. Etik Kurul Onayı

“Deneysel obezite oluşturulmuş ratlarda, Kuersetin’in ovaryum dokusu üzerine etkilerinin ışık ve elektron mikroskobunda incelenmesi” adlı çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının **2015-174** sayılı kararıyla etik kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

3.1.2. Deneklerin Temini ve Özellikleri

Çalışmada kullanılan toplam 24 adet sıçan (Sprague-Dawley) ortalama 200-300 gram ağırlığında dişi denek, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden (**ATADEM**) temin edilerek kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmanın Deney Grupları

Çalışmada, 4 ayrı grup oluşturuldu. Oluşturulan gruplar sırasıyla aşağıdaki gibi adlandırıldı.

- 1.Grup (6 hayvan) - Kontrol
- 2.Grup (6 hayvan) - Kontrol + Kuersetin
- 3.Grup (6 hayvan) - Obez
- 4.Grup (6 hayvan) - Obez + Kuersetin

Obez grup; yağlı diyet (%32.6 lipit, %43.8 kh, %23.5 protein) yedirilerek ağırlık ortalaması %40 artan hayvanlardan oluşturuldu. Kuersetin uygulanan

gruplara, 15 gün boyunca mısır yağı içinde çözdürülen 50 mg/kg dozunda kuersetin (Q4951; Sigma, SL, ABD) gavaj yolu ile verildi.

Çıkarılan her iki ovaryumdan bir tanesi histopatolojik inceleme için % 4'lük formaldehit içerisinde, diğer ovaryum ise %3'lük 0,2 M fosfat tamponlu gluteraldehit solüsyonu içerisine histoloji laboratuvarına götürüldü.

3.2. Çalışmanın Değerlendirilmesinde Kullanılan Uygulamalar

3.2.1. Işık Mikroskopik İşlemler

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında Konvansiyonel ışık mikroskobu işlemlerinin tümü gerçekleştirildi.

Tüm gruptaki sıçanlardan alınan ovaryum dokuları numalandırılarak içinde % 4'lük formaldehit olan şişelere konuldu. Hem ışık mikroskopik bulgular için hemde immünohistokimyasal boyama için aynı doku takibi yöntemi kullanılmıştır ve aşağıda anlatılan sıra ile 72 saat sonra işleme başlanılmıştır.

3.2.1.1.Doku Takip İşlemleri

Dokular akar suda 4 saat yıkandıktan sonra aşağıdaki sıra ile takip başlatılır;

1. – %70'lik Alkolde (Merck)[®] 1 gece,
2. – %80'lik Alkolde 1 saat,
3. – %96'lık Alkol'de 1 saat,
4. – %96'lık Alkolde 1 saat,
5. – %100'lük Alkolde 1 saat,

6. – %100'lük Alkolde 1 saat bekletildi.
7. Ksilende (Merck)[®]10 dakika,
8. Ksilende 10 dakika bekletildi.
9. Ksilen + boncuk parafin (Merck)[®] karışımında 60°C'lik etüvde 1 saat,
10. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 1 saat,
11. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletildi.
12. Dokular parafin bloklara gömüldü ve kesit alınması işlemlerine hazır hale getirildi.
13. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) ile aynı hücreyi içerecek 5 µm'lik seri kesitler alındı. Tüm doku blokundan 50 mikron aralıkla alınan 8 seri kesit elde edildi. Elde edilen bu seri kesitler H&E ile boyanarak aynı kesit yüzeyine düşen aynı hücrenin karakteri belirlenmiş oldu. Tüm boyamaların mikroskobik fotoğrafları, grupların değerlendirmelerinin objektif olması için, aynı ışık ayarlarında çekildi.

3.2.1.2.Hematoksilen ve Eosin Boyama İşlemi

1. Deparafinizasyon işlemi yapıldıktan sonra
2. Ksilolde (20 dak.) bekletme
3. Ksilolde (10 dak.) bekletme
4. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (5 dak.) bekletme
5. %80'lik Alkol (10 dak.) bekletme ve boyamadan önce akan suda yıkama
6. Hematoksilen boyasında (1 dak.) bekletme

7. Asit-Alkol karışımına batırılıp çıkarma
8. Eozin solüsyonunda (1 dak.) bekletme
9. Suda (1 dak.) yıkama
10. %80'lik Alkolde (10 dak.) bekletme
11. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (10 dak.) bekletme
12. Ksilol serilerinde (20 dak.) bekletme
13. Entellan ile kapatma işlemi yapıldı.

Kesitlerden Görüntü Elde Edilmesi; Gruplara ait kesitlerin fotoğraflar Olympus BH 40 marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında analiz edilerek çekildi.

3.2.2. İmmünohistokimyasal Boyama İşlemi

İmmünohistokimyasal analizler için parafine gömülen dokulardan mikrotom (Leica DSC2) ile 5 µm'lik kesitler pozitif şarjlı cam lamalar üzerine alındıktan sonra aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak NF-kB p65 boyama işlemi gerçekleştirildi. Pozitif şarjlı lamlara alınan 5 mikron kalınlığında kesitler Ventana BENCHMARK GX otomatik immünohistokimya boyama cihazına yerleştirildi. Primer antikor (NF-kB-p65 Santa Cruz, sc-8008, mouse monoclonal, 200 µg/ml,) sulandırma oranı 1/80) kullanılan immünohistokimyasal boyama protokolünde diğer tüm işlemler benzer olarak yapıldı. Cihaz tarafından aşağıdaki işlemler sırasıyla gerçekleştirildi.

1. Kesitler 75°C'de 4 dk inkübe edildi,
2. EZPrep uygulanarak 4 dk inkübe edildi,
3. Reaction Buffer ile yıkandı,

4. EZPrep uygulanarak 4 dak. inkübe edildi,

5. Reaction Buffer ile yıkandı,

6. EZPrep uygulanarak 4 dak inkübe edildi,

7. Reaction Buffer ile yıkandı,

8. Kesitler 75°C'de 4 dak inkübe edildi,

9. Reaction Buffer ile yıkandı (3 tekrar ile),

Kısa 8 dk iyileştirme:

10. Kesitler 95°C'de CC uygulanarak 8 dak inkübe edildi,

Yumuşak 30 dk iyileştirme:

10. Kesitler 100°C'de EZPrep/CC uygulanarak 30 dak inkübe edildi,

Standart 60 dk iyileştirme:

10. Kesitler 100°C'de EZPrep/CC uygulanarak 60 dak inkübe edildi,

11. Reaction Buffer ile yıkandı,

12. Kesitler 37°C'de 2 dak inkübe edildi,

13. Reaction Buffer ile yıkandı,

14. Kesitler ultraView (UV) İnhibitor (3% H₂O₂) ile 4 dak inkübe edildi.

15. Reaction Buffer ile yıkandı,

16. Kesitler Amplifier (NF-kB p65) A 'Ventana (Kat No: 5266114)' ile 8 dak inkübe edildi.

17. Reaction Buffer ile yıkandı,

18. Kesitler Amplifier B 'Ventana (Kat No: 5266114)' ile 8 dak inkübe edildi,

19. Reaction Buffer ile yıkandı,

20. Kesitler UV HRP UNIV MULT 'Ventana (Kat No: 5269806)' ile 8 dak inkübe edildi,

21. Reaction Buffer ile yıkandı (3 tekrar ile),

22. Kesitler UV DAB ve UV DAB H₂O₂ 'Ventana (Kat No: 5266157)' ile 8 dak inkübe edildi,

23. Reaction Buffer ile yıkandı,

22. Kesitler UV Copper ile 4 dak inkübe edildi,

23. Reaction Buffer ile yıkandı,

24. Kesitler Hematoksilen 'Ventana (Kat No: 5266726)' ile 8 dak inkübe edildi,

25. Reaction Buffer ile yıkandı,

26. Kesitler Bluing Reagent 'Ventana (Kat No: 5266769)' ile 4 dak inkübe edildi,

27. Reaction Buffer ile yıkandı,

28.% 99 alkol'de 2 dak bekletildi,

29.Ksilol'de 2 dak bekletildi,

30. Entellan ile kapatma yaptırıldı.

3.2.3 Transmisyon Elektron Mikroskopik İşlemler

Elde edilen ovaryum örnekleri elektron mikroskopik takip için sırasıyla;

1. %3'lük 0,2 M fosfat tamponlu gluteraldehit solüsyonunda 1saat bekletildi (+4⁰C'de),
2. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
3. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
4. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
5. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
6. Post fiksasyon 0,2 M fosfat tamponlu OsO₄ solüsyonunda 1 saat bekletildi,
7. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
8. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
9. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
10. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkandı,
11. % 35 etil alkolde 15 dakika bekletildi,
12. % 50 etil alkolde 15 dakika bekletildi,
13. % 70 etil alkolde 30 dakika bekletildi,
14. % 95 etil alkolde 20 dakika bekletildi,
15. % 100 etil alkolde 20 dakika bekletildi,
16. % 100 etil alkolde 20 dakika bekletildi,
17. % 100 etil alkolde 20 dakika bekletildi,
18. Propilen oksitde 20 dakika bekletildi,
19. Propilen oksitde 20 dakika bekletildi,
20. 1 kısım Propilen oksit + 1 kısım Aralditte 1 saat bekletildi,

21. 1 kısım Propilen oksit + 2 kısım Aralditte 1 saat bekletildi,

22. Saf Aralditte 4 saat bekleme işlemlerinden geçirildi.

Daha sonra araldit kapsüllere döküldü, parçalar kapsüllere yerleştirildi ve 1 gece desikatörde bekletildi. Ertesi gün parçalar sentralize edilerek 45°C 1 saat, 50 °C 1 saat, 55 °C 1 saat, 62 °C 48 saat bekletilerek bloklar elde edilmiş oldu.

Araldit bloklara gömülen dokulardan, bir ultramikrotom (LKB NOVA, Bromma, Sweden) yardımıyla 70–80 nm kalınlığa sahip kesitler elde edildi. Elde edilen kesitler gridlere (S 162 -PELCO) alınarak aşağıdaki diğer işlemlere geçildi.

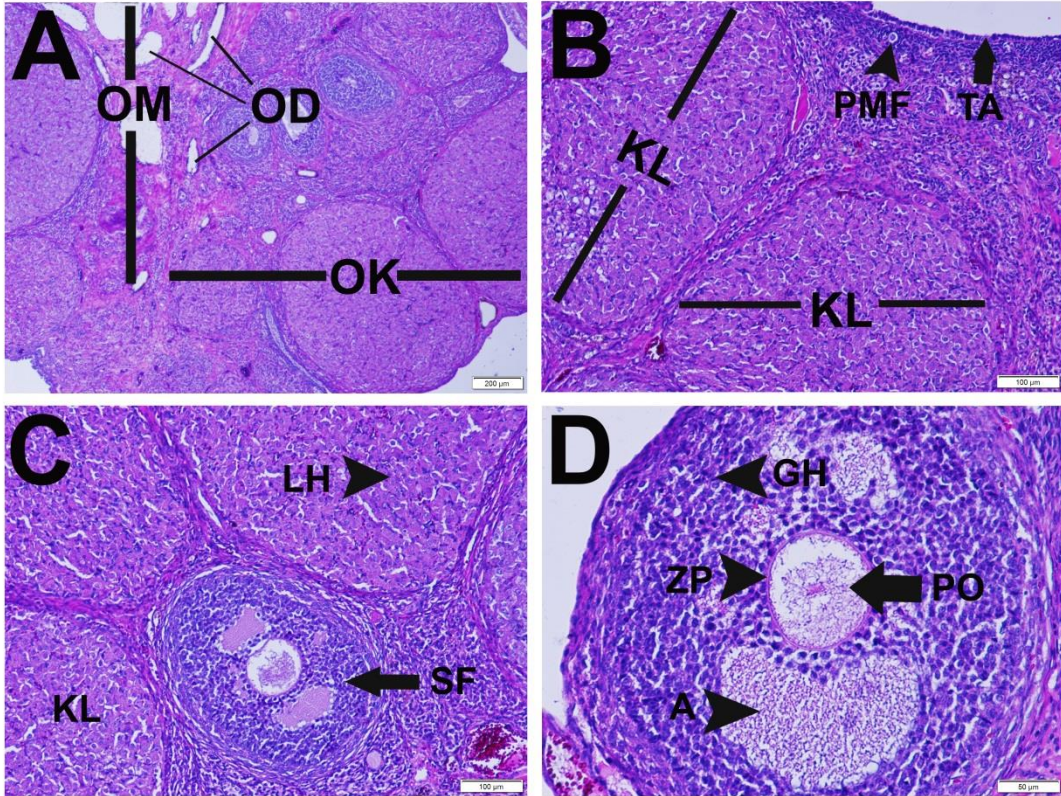
1. Gridler 30 dakika uranil asetat boyasında boyandı.
2. Distile su ile yıkama 1 dak
3. Distile su ile yıkama 1 dak
4. Distile su ile yıkama 1 dak
5. Gridler kurutma kâğıdı üzerine konularak kurutuldu.
6. Gridler 5 dakika kurşun sitrat ile boyandı.
7. Distile su ile yıkama 1 dak
8. Distile su ile yıkama 1 dak
9. Distile su ile yıkama 1 dak
10. Gridler kurutma kâğıdı üzerine konularak kurutuldu.

Yukarıda sıralanan tüm işlemler tamamlandıktan sonra, örnekler bir transmisyon elektron mikroskobu yardımıyla (100 SX Jeol, Tokyo, Japan) görüntülenerek incelenmeye hazır hale getirildi.

4. BULGULAR

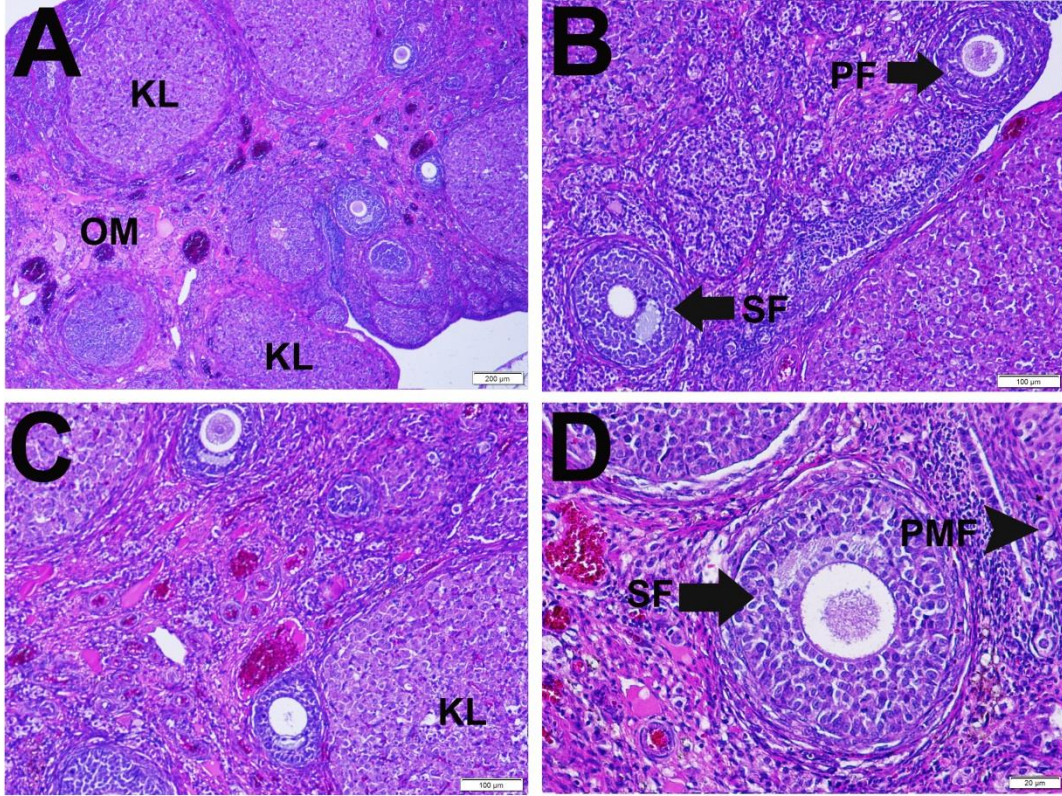
4.1. Işık Mikroskobu Bulguları

Kontrol grubuna ait preparatlar incelendiğinde ovaryumların yüzeyi tek katlı yassı epitelle sarılmaktaydı. Germinal epitelin altında, sıkı bağ dokusundan oluşan tunika albuginea iyi ayırt edilirken, korteks tabakasında primordiyal, primer ve sekonder foliküller gibi gelişimin farklı aşamasındaki birçok folikül bulunmaktaydı. Granüloza tabakasıyla birlikte teka tabakası da gelişmekte olan sekonder foliküllerde normal görünümde izlenmekteydi. Ayrıca korteks bölümünde ovule olmuş foliküllerden kalan çok miktarda korpus luteum mevcuttu. Ovaryumların medullasında bulunan arter ve venler de sağlıklı bir görünümdeydi (Şekil 4. 1.A-D).



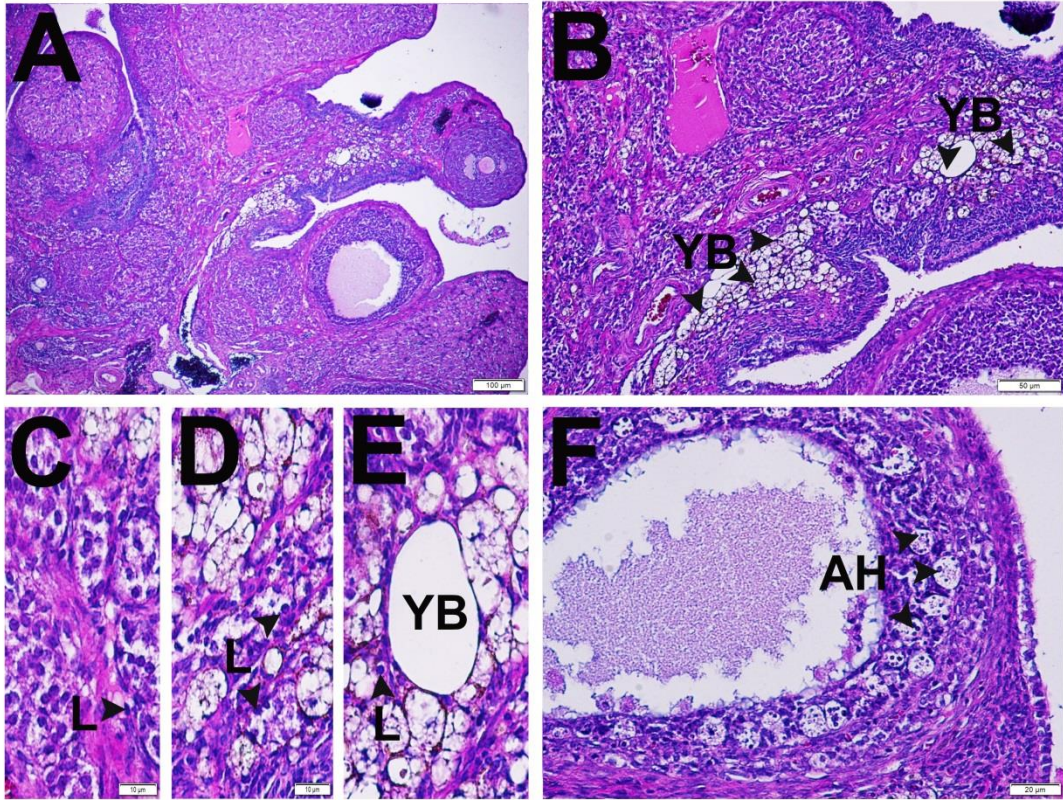
Şekil 4. 1. A-D: Kontrol grubuna kesitler; A: antrum, GH: granüloza hücresi, KL: korpus luteum, LH: luteal hücre, OD: ovaryum damarları, OK: ovaryum korteksi, OM: ovaryum medullası, PMF: primordiyal folikül, PO: primer oosit, SF: sekonder folikül, TA: tunika albuginea, ZP: zona pelisuda.

Kontrol + Kuersetin grubuna ait preparatları değerlendirdiğimizde kortekstin stromasında ve parankimasında herhangi bir patolojik duruma rastlanmamaktaydı ve genel morfolojik özellikler bakımından kontrol grubu ile benzerlik göstermekteydi (Şekil 4.2.A-D).



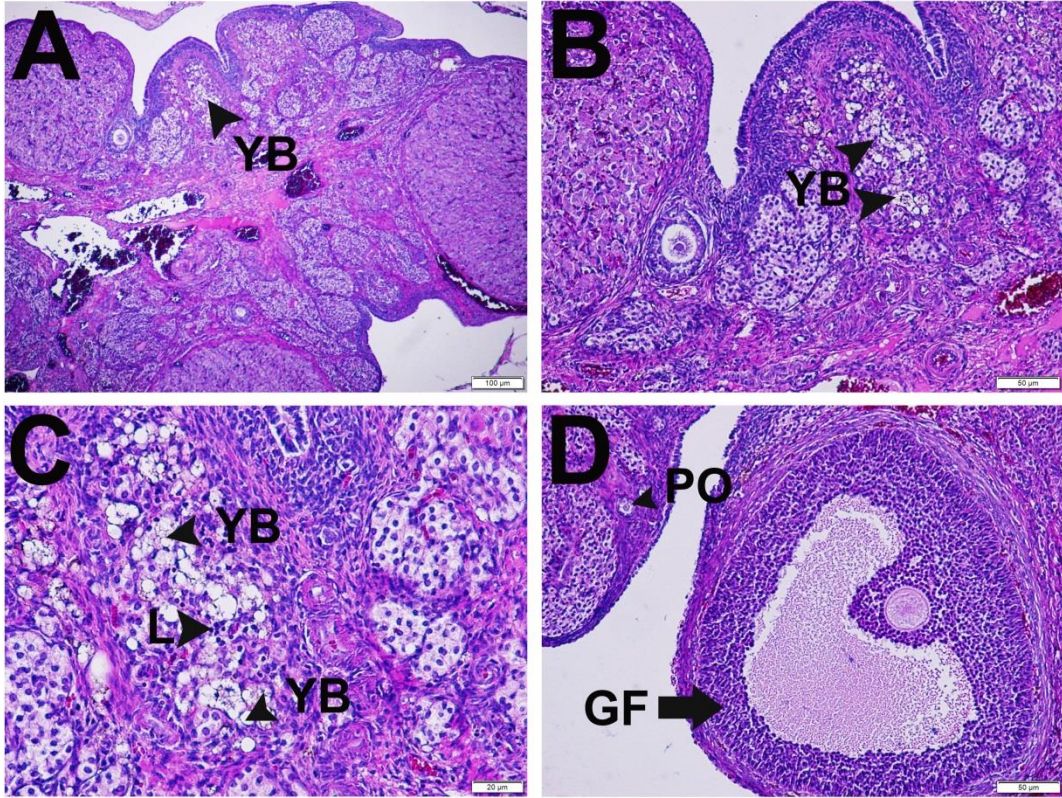
Şekil 4. 2. A-D: Kontrol + Kueretin grubuna kesitler; KL: korpus luteum, OM: ovaryum medullası, PF: primer folikül, PMF: primordiyal folikül, SF: sekonder folikül.

Obezite grubuna ait preparatlarda özellikle kortekste yağ birikimi izlenmekteydi. Ayrıca yağ birikimi alanlarında lenfatik hücreler normale göre daha fazla bulunmaktaydı. Obezite geliştirilmesi sonucu izlenen sekonder foliküllerin ve Graaf foliküllerinin granüloza hücrelerinde görülen apoptotik bulgular ve hücrelerde piknotik görünümlü nükleusların varlığı bulgularımız arasında dikkat çekiciydi. Foliküllerin antral boşluklarında granüloza hücre artıkları ile apoptotik cisimlerden oluşmuş materyal da izlenmekteydi (Şekil 4. 3. A-F).



Şekil 4. 3. A-F: Obezite grubuna ait kesitler; AH: apoptotik hücre, L: lenfatik hücre, YB: yağ birikimi.

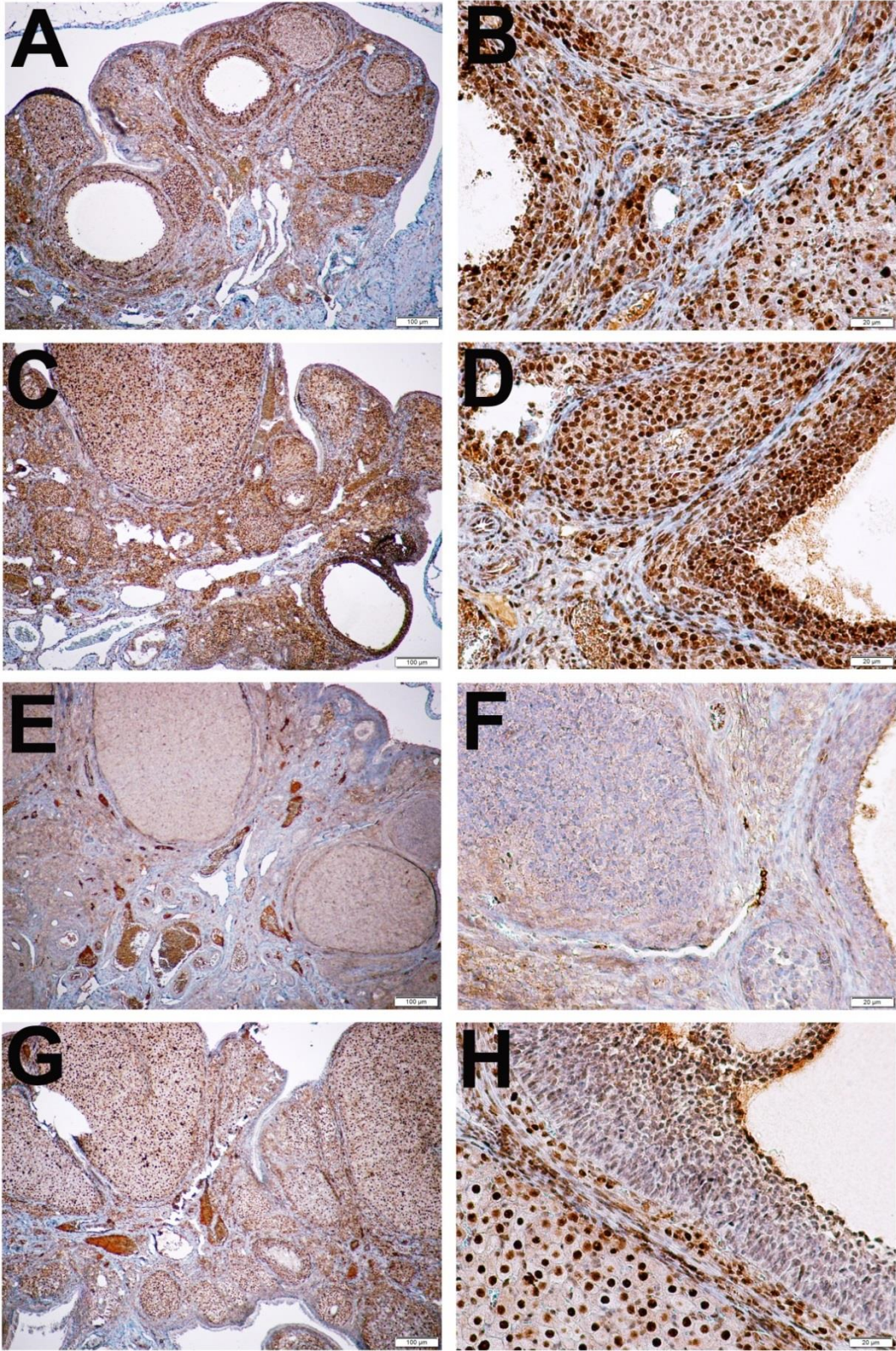
Çalışmamızın obezite + kuersetin uygulanmış grubunun bulgularına bakıldığımızda ise obezite grubunda gözlenen korteksteki yağ birikiminin bu grupta önemli derecede azaldığı, yine bu grupta yağ birikim alanlarında lenfatik hücrelerin seyrek olarak bulunduğu görülmektedir. Öte yandan obezite grubunda dikkat çeken folikül içindeki apoptotik değişimler bu grupta izlenmedi (Şekil 4. 4. A-D).



Şekil 4. 4. A-D: obezite + kuersetin grubuna ait kesitler; AH: apoptotik hücre, GF: graaf folikül. L: lenfatik hücre, PO: primer oosit, YB: yağ birikimi.

4.2. İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

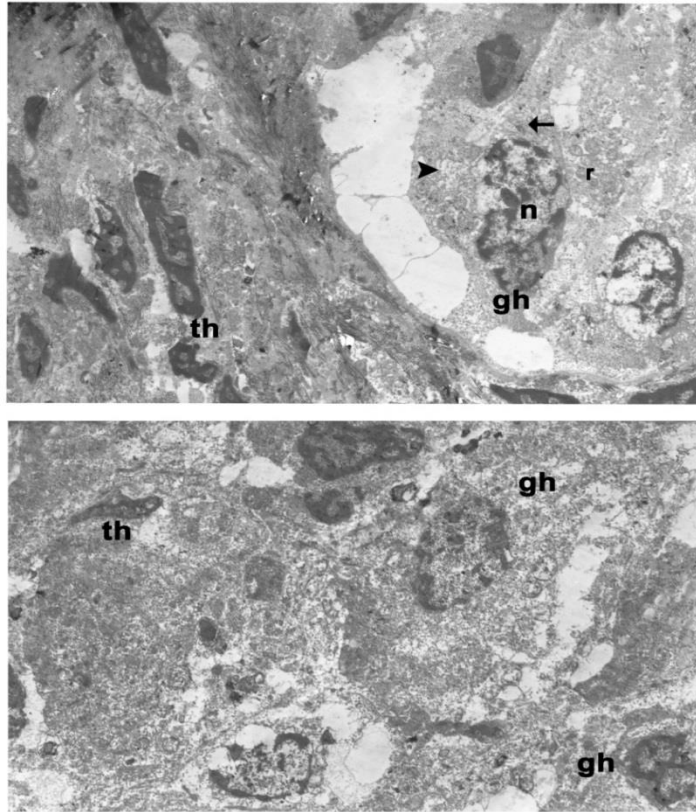
Çalışmamızın immünohistokimyasal boyama preparatları incelendiğinde kontrol ve Kontrol + kuersetin gruplarında korteks ve medulla da NF-kB immün pozitif reaksiyon gözlenmekteydi. Fakat obezite oluşturulmuş deney grubunda NF-kB immün pozitifliğin belirgin şekilde kortekste ve medulla da azaldığını tespit ettik. Kontrol gruplarıyla benzer olarak, obezite + kuersetin grubuna ait preparatlara bakıldığında da immün pozitifliğin obezite grubuna göre belirgin şekilde arttığı görülmekteydi (Şekil 4. 5).



Şekil 4. 5. NF-kB immünohistokimyasal boya kesitleri; A-B: kontrol, C-D: kontrol + kuersetin, E-F: obezite, G-H: obezite + kuersetin grubuna ait kesitler.

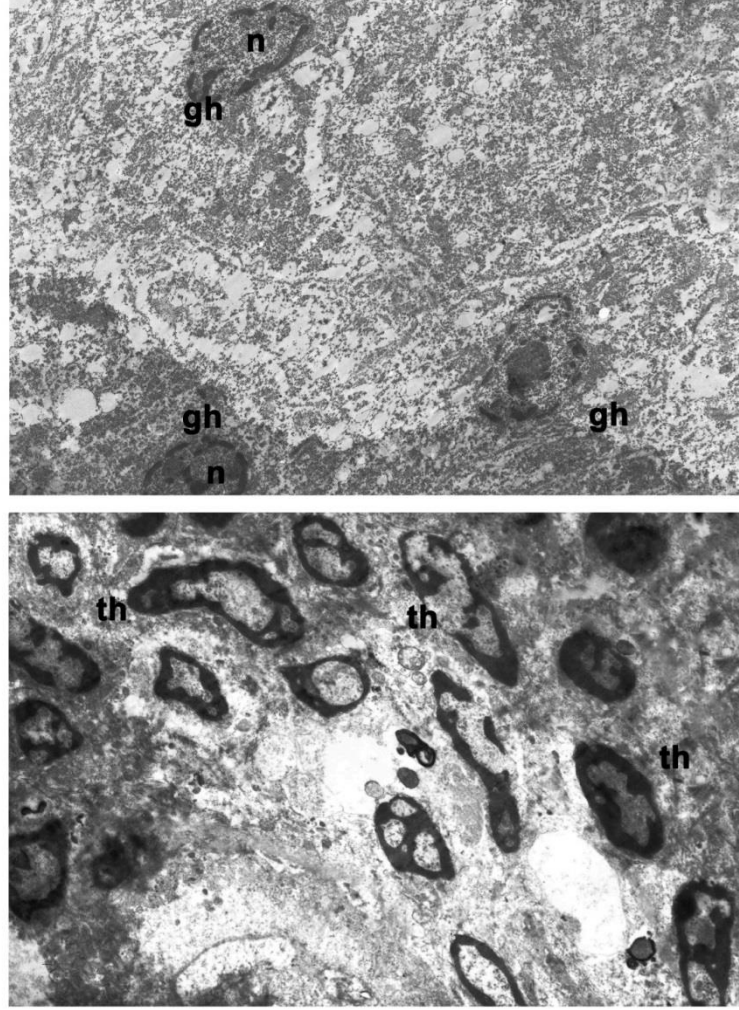
4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik incelemelerde tek katlı yassı folikül hücreleri primordial foliküllerin oositlerini çevrelemekteydi. Oositlerin sitoplazması içerisinde mitokondriler tüm alanlarda Golgi kompleksi ve lizozomlar ile birlikte normal görünümde ayırt edilmekteydi. Gelişimin daha ileriki safhalarında olan foliküllerde granüloza hücrelerindeki mitotik değişimler dikkat çekmekteydi. Bu oositlerin sitoplazmasında düz ER ve çok miktarda serbest ribozom bulunmaktaydı (Şekil 4.6). Granüloza hücrelerinin ökromatik ve çentikli bir çekirdek içinde belirgin bir çekirdekciğe sahip olduğu görülmekteydi. Teka interna tabakasındaki hücrelerde ise bol miktarda lipid damlacıkları, mitokondriler ve düz ER bulunmakla birlikte, bu hücreler steroid sentezleyen tipik hücre özelliği sergilemekteydi.



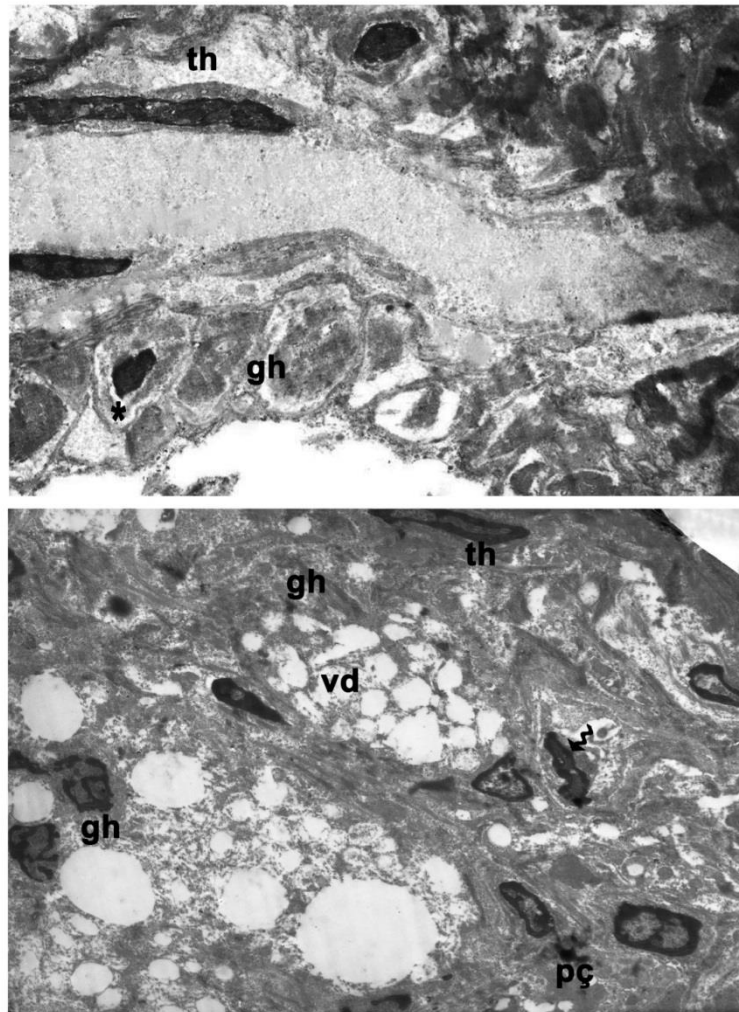
Şekil 4. 6. Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü. Büyütme: X25000. gh: granüloza hücresi, n: nukleus, ok başı: golgi kompleksi, ok: mitokondri, th: teka hücresi.

Kontrol + kuersetin grubundaki foliküllerinde bulunan hücreleri kontrol grubu ile kıyaslandığımızda bu gruptaki hücrelerin sitoplazmik ultrastrüktürel yapılarının kontrol grubuyla kıyasladığımızda önemli bir farklılık göstermediğini tespit ettik (Şekil 4.7).



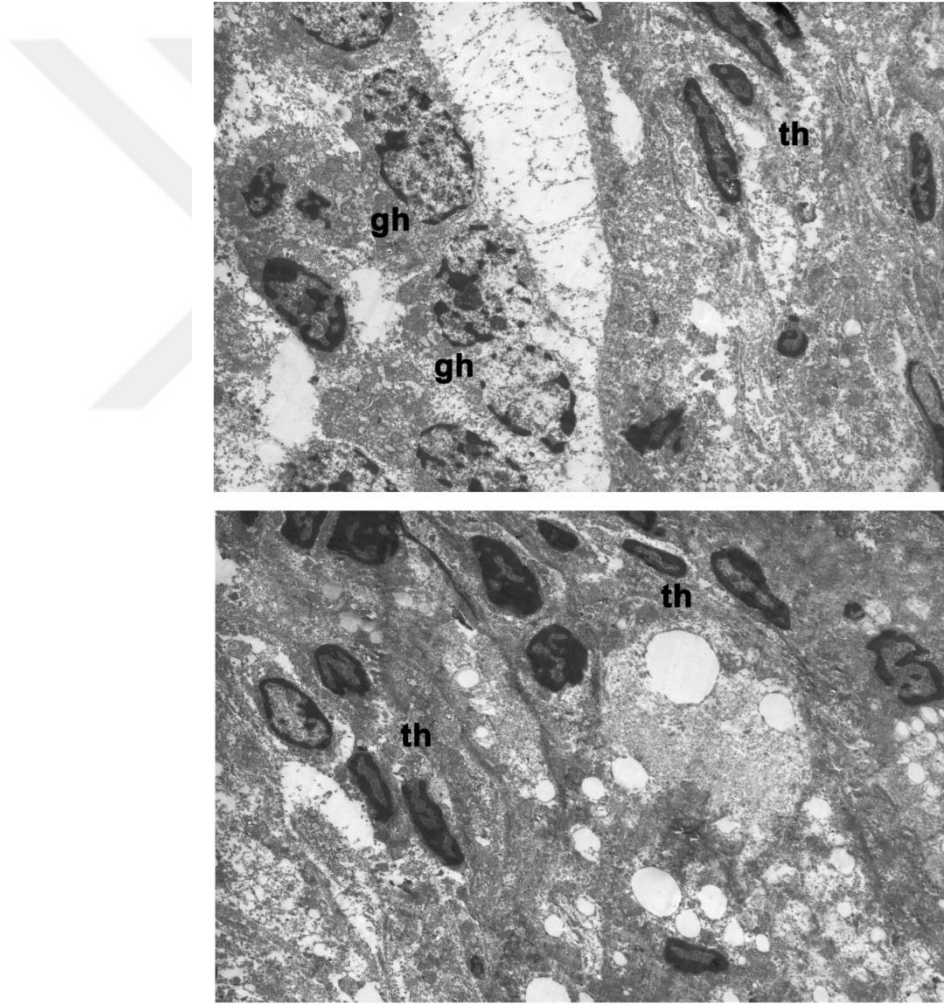
Şekil 4. 7. Kontrol + kuersetin grubuna ait elektron mikroskopik görüntü. Büyütme: X25000.
gh: granüloza hücresi, n: nukleus, th: teka hücresi.

Obezite grubuna ait folikülleri incelediğimiz zaman hücrelerde dejeneratif bozukluklar bariz bir şekilde izlenmekteydi. Foliküllerin granüloza hücrelerinde vakuolizasyonlarla birlikte apoptotik granüloza hücreleri dikkat çekmekteydi. Bu hücrelerin çekirdeklerinde kromatin materyalinin kondanse olduğu gözlemlendi. Obezite grubuna ait foliküllerin teka hücre tabakasındaki hücrelerde de granüloza hücrelerindeki gibi ultrastrüktürel değişimler görülmekteydi. Teka hücrelerinin membran yapılarının değişime uğradığı, düzensiz yapıya dönüştüğü obezite grubunda bulduğumuz dikkat çekici bulgular arasındaydı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Obezite grubuna ait elektron mikroskopik görüntü. Büyütme: X25000. Asteriks: apoptotik hücre, gh: granüloza hücresi, n: nukleus, ok: mitokondri, pç: piknotik çekirdek, th: teka hücresi, vd: vakuoler dejenerasyon.

Obezite + kuersetin grubuna ait preparatları değerlendirdiğimizde foliküllerdeki apoptotik görünümlü granüloza hücrelerinin obezite grubuna göre bariz olarak azaldığı görülmektedir. Obezite grubundaki granüloza hücrelerinin sitoplazmasında izlediğimiz vakuoler dejenerasyonlar çok az miktarda devam ederken, hücre içi organeller normal yapıda izlenmekteydi. Foliküllerinin teka tabakasındaki hücreler yer yer değişim gösterirken, genel olarak teka hücrelerinde ultrastrüktürel seviyede kontrol grubuna göre önemli bir farklılık bulunmamaktaydı (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Obezite + kuersetin grubuna ait elektron mikroskobik görüntü. Büyütme: X25000. gh: granüloza hücresi, th: teka hücresi.

5. TARTIŞMA

Obezite tüm dünyada gittikçe artmakta olan bir sağlık sorundur. DSÖ verilerine göre 1 milyardan fazla kişinin aşırı kilolu olduğu, 300 milyon kişinin ise şişmanlık kriterlerine sahip olduğu tahmin ediliyor ve obezite rakamlarındaki artış yaş, cins farklılığı göstermeksizin maalesef artmakta devam etmektedir. Kadınlar arasında obezitenin artışı da aynı zamanda birçok ülkenin endişelendiği sağlık sorunları arasında olup, gittikçe daha da önem kazanmaktadır. Kompleks bir metabolik bozukluk olan obezite, diğer sistemlerdeki değişimlerle birlikte üreme sisteminin bozuklukları ile de ilişkilidir.^{109, 110} Üreme üzerine obezitenin olumsuz etkileri, PCOS da dahil olmak üzere yumurta kalitesinin düşüşü, doğurganlığın azalması, aynı zamanda doğum defektleri ve ölü doğum riski gibi sorunlarla ilişkilidir.¹¹¹ Obez kadınlar obez olmayanlara kıyasla 3 kat daha fazla farklı derecelerde infertiliteye sahipler ve siklusları düzenli olsa bile gebelik sorunları yaşamaktalar. 20-39 yaşlar arasında gebe kalamayan infertil kadınların %29' u obezite tanısı ile takip ediliyor. Bunların yanı sıra obezite ovaryumlarda steroid hormonların ekspresyonu ve aktivitesini de değiştirerek, potansiyel olarak hormon sentezi ve metabolizmasını da etkilemektedir.¹¹² Diğer bir bakış açısından baktığımızda ise, obezite vücutta düşük de olsa sistemik enflamasyona neden olarak infertiliteyi tetiklemektedir.¹¹³ Enflamatuar mediatörler ve yolaklar ovaryum fonksiyonlarının modülasyonunda rol almaktalar ve ovaryum folikül gelişiminde, steroid hormonların yapımında, ovulasyonda ve atrezide çok önemli moleküllerdir.¹¹⁴ Bu yüzden obezitede proenflamatuar sitokinlerin salınımı ovaryum fonksiyonlarını ve doğurganlığı ileri derecede etkilemektedir.

Bizim çalışmamızda kontrol grubuna ait ovaryum dokusu incelendiğinde, dokuda bulunan foliküller normal görünümde izlenmekteydi. Kontrol grubuyla benzer olarak, kontrol ve kontrol + kuersetin grubuna ait preparatlarda da patolojik bulguya rastlanmamaktaydı. Bu grubun ovaryum dokularında gelişimin değişik evrelerinde olan hem primer oosit, hem sekonder oositler, hem de ovulasyonun simgesi olan korpus luteumlar izlenmekteydi. Kontrol gruplarındaki bulgulardan farklı olarak obezite grubunda bariz bir şekilde parankim içinde yağ dokusu birikimi tespit ettik. Yağ dokusunun biriktiği alanlarda lenfatik hücrelerin infiltrasyonu ile birlikte, obezite geliştirilen hayvanların ovaryum dokusundaki foliküllerin granüloza hücrelerinde apoptotik ve piknotik değişimler dikkat çekici bulgulardandı. Bu bulgularımız elektron mikroskopik incelemelerimizle de paralellik göstermekteydi. Obezite grubunun ovaryum dokularını elektron mikroskopik incelediğimizde folikül hücrelerinde dejeneratif bulgulara rastladık. Granüloza hücrelerindeki vakuoler dejenerasyon ve apoptotik değişimlerle birlikte teka hücrelerinde de bulunan ultrastrüktürel değişimler ışık mikroskopik bulgularımızı desteklemekteydi.

Obezitede yağ dokusunda oluşan enflamasyon, makrofajların doku içinde infiltrasyonu ve aktivasyonu ile karakterizedir. Doku içine göç etmiş makrofajlar sitokin üretimini arttırarak dokuda enflamatuvar yanıtları da şiddetlendiriyor.¹¹⁵ Makrofajların artmış aktivasyonu TNF- α , IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımının artışına neden olur.¹¹⁶ Daha sonraki aşamada kemokinler reseptörlere bağlanarak kemotaktik aktivite artışını ortaya çıkarır, makrofajların/monositin hem migrasyonunu hem de onların aktivasyonunu teşvik eder. Obezite grubunda yağ dokusu içerisinde lenfatik hücrelerin yoğunlukla görülmesi bu bulguları desteklemekteydi.

Obezite grubunda gördüğümüz değişimler sadece doku içerisine infiltrasyonla sınırlı değildi. Böyle ki, doku içerisinde bulduğumuz kistik foliküllerin granüloza hücre tabakası oldukça incelmışti ve özellikle de granüloza hücreleri arasında değişik apoptotik ve piknotik hücreler de ayırt edilmekteydi.

Folikül maturasyonu, ovulasyon gibi süreçler birçok faktörün etkisi altında olan karmaşık bir süreçtir. Oosit gelişimi ve ovulasyon dokuda tekrar yenilenme süreçleri ile birlikte bağ doku elemanlarının migrasyonu, doku mediatörleri, düzenleyici sitokin ve proteazların aktif salınımını gerektiren kompleks olaylar zinciridir. Obezite bir taraftan büyük ölçüde makrofaj fonksiyonlarını ve kısmen de lipid metabolizmasını değiştirirken, diğer taraftan da enflamasyonu attırarak interselüler sinyal yollarının da bozulmasına neden olur ve sonuç olarak doku disfonksiyonunun gelişimini sağlar.¹¹⁷ Lokal ve sistemik enflamasyon ve immün yanıt özellikle granüloza hücreleri başta olmakla birçok hücrede IL-1 β aracılı leptin yanıtının gelişimine neden olur.¹¹⁸ Hücre kültürü çalışmalarında IL-1 β estradiol sentezini inhibe ederek ve sfingomielin hidrolizini artırarak özellikle granüloza hücrelerinde apoptozu geliştirdiği bildirilmiştir.¹¹⁹ Bir başka çalışmada ise yağlı diyet uygulanmış ratların pankreatik-beta hücrelerinde apoptozis geliştiği rapor edilmiştir ve bu durumun gelişmesinde aşırı üretilen NO miktarlarının apoptoza sebebiyet verdiği vurgulanmıştır.¹²⁰ Fakat granüloza hücrelerinde obeziteye bağlı apoptozun gelişiminde NO miktarlarının değil, daha çok enflamasyonla ilgili apoptotik efektör genlerinin rolü daha çok öne sürülmektedir. Gonadotropin kaynaklı foliküler büyüme ve yaşam süresi kısmen antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-XL genlerinin ekspresyonu ile ilişkili bulunmakla birlikte, önemli derece proapoptotik Bax mRNA'nın azalmasıyla bağlantılıdır.¹²¹ Hücrenin hayatta kalma süreci karşılıklı olarak pro-apoptotik

genlerin ve farklı yolların sinyalizasyonu ile dengelenir. Hücrenin ölüm ve yaşam arasındaki dengesi birçok transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel faktörlerle kontrol edilir. Mitokondri ile olan ilişkisinden dolayı, antiapoptotik genlerin antioksidan bir etkiye sahip olduğu ve böylece oksidatif stresin neden olduğu apoptozisi baskılayabildiği bulunmuştur. Vücutta obeziteye bağlı oksidatif stresin artmasını durumunda bu genlerin ekspresyonu granüloza hücrelerindeki apoptozisi daha da arttırdığı hipotezi daha fazla kabul görmektedir ve obezite grubunda granüloza hücreleri tabakasında apoptotik hücrelerin izlenmesi de bu bilgileri desteklemektedir.

Obezite + kuersetin uygulanmış grubun ovaryum dokularını incelediğimizde doku içerisinde yağ birikiminin obezite grubuna nazaran önemli derecede azaldığını tespit ettik. Gelişmekte olan farklı foliküllerle birlikte preovulatar foliküllerde granüloza hücreleri kalınlığı normal olarak izlenmekte ve daha önce obezite grubunda izlediğimiz apoptotik hücreler bulunmamaktaydı. Obezite doku içerisinde kronik enflamasyon ile bağlantılı olduğundan, biz bu çalışmamızı kuersetinin obeziteyi antiinflamatuvar aktivitesi ile iyileştirebileceği hipotezine istinaden tasarladık. Düşük dereceli enflamasyonun seyrettiği obezite adipositlerden sitokin salınımı ile bağlıdır ve bu durum inflamatuvar sinyal yollarını aktive ederek, inflamatuvar proteinlerin salınımını artırır.¹⁰⁴ Obezitede kuersetin kullanımı enflamasyona bağlı sitokin üretimi ve fonksiyonlarını birçok yönden etkiler. Bu mekanizmalar arasında en dikkat çekenlerden biri de makrofajlarda NF-kB aktivasyonunun inhibisyonuyla ilgilidir.^{105, 106} Kuersetinin NO ve TNF- α salınımını düzenleyerek, NF-kB yolağını inhibe ettiği bildirilmiştir. NF-kB aktivasyonunun inhibisyonu bir taraftan NF-kB/I κ B kompleksinin stabilizasyonuna neden olurken,

diğer taraftan proenflamatuar sitokinlerin baskılanmasına ve buna bağlı enflamasyonun da baskılanmasına neden olur. Diğer taraftan obezitede enflamasyona bağlı oksidatif stresin gelişimi ve ilerlemesi doku yetmezliğine neden olan faktörleri daha da arttırmaktadır. Oksidatif stres obezite sürecinde kritik öneme sahip olduğundan, tedavi de dikkatimizi çeken yönlerinden biri de kuersetinin antioksidan etkilerinin de bulunması idi. Kuersetin ROT ve RNS' ne karşı kuvvetli antioksidan özelliği bulunan doğal madde olduğü için daha önce yapılan çalışmalarda antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı onaylanmış,⁹⁹ aynı zamanda NF-kB ekspresyonuna etki ederek yağ dokusu üzerinde antiinflamatuvar etki gösterdiğü vurgulanmıştır.¹⁰⁰ Nitekim kuersetin uygulanmış gruba ait ovaryum dokusu kesitlerinde de doku içerisinde adiposit birikimlerinin azalması kuersetinin antioksidan özelliklerini vurgulamaktaydı. Bu aşamada biz çalışmamızı daha da ileriye götürerek, ovaryum dokularında NF-kB ekspresyonunu göstermek için immünohistokimyasal boyamalar yaptık. Çalışmamızdaki gruplara ait dokuların immünohistokimyasal boyama preparatlarını incelediğimizde kontrol ve kontrol + kuersetin gruplarında NF-kB immün pozitif reaksiyonun fazla olduğünü tespit ettik. Fakat obezite grubunda NF-kB immün pozitifliği belirgin şekilde azalmaktaydı. Dikkat çekici bulgularımızdan bir diğeri ise obezite + kuersetin grubuna ait preparatlarda immün pozitifliğin obezite grubuna göre belirgin şekilde arttığı ve kontrol grubuna benzer olması idi.

NF-kB p65 ve p50 alt birimden oluşan bir heterodimer olarak, hemen hemen bütün hücrelerde sitoplazmada inhibitör proteini olan Ikb'ye bağlanmış şekilde inaktif formda bulunur. Sitokinler gibi çeşitli uyarılar Ikb'yi fosforilize eden protein kinazları tetikleyerek, NF-kB'nin aktifleşmesine neden olur. Aktive olmuş

NF-kB sitoplazmadan çekirdeğe geçerek çeşitli hedef genlerin aktivasyonunu sağlar.¹²² NF-kB yolağının enflamatuar olaylara yanıt olarak aktive edildiği bilindiğinden,¹²³ biz bu düşünceden yola çıkarak NF-kB pozitif immün reaktivitenin obezite grubundaki enflamatuar sinyalleri ifade edeceğini düşündük. Enflamatuar sinyaller ROT ve oksidatif stresin gelişimine neden olarak, ovaryumlarda steroid hormon sentezi ve ovulasyonu baskılar ve sonuç olarak dokuda fonksiyon yetmezliği ve infertiliteye neden olur.^{124, 125} NF-kB'nin normal etkilerine apoptozun baskılanması, hücre proliferasyonunun indüklenmesi,¹²⁶ tümör gelişimiyle bağlantılı göç eden ve invaziv hücrelerin tetiklenmesi etkisi gibi çeşitli fonksiyonlar sıralanabilir.¹²⁷ Literatürde bulunan çok farklı araştırma ve derlemeyi iyice araştırdıktan sonra şunu ifade edebiliriz ki, aslında NF-kB ve İkB proteinleri hücre döngüsü ve apoptoz üzerine etkileri bazı yolakların büyüme ve hücre ölümü üzerine etkisi şeklinde basitçe ifade edilemez. Nitekim yapılan farklı çalışmalar bu etkinin doku türü ve hücre tipine göre de değişebileceğini vurgulamaktadır. Mesela, epidermal epitelial hücreler ve değişime uğramış hücrelerle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar bu etkilerin hücre türüne göre farklılık gösterdiğini açıkça ima etmektedir. NF-kB 1 ve Rel-A'nın epidermal epitelial hücrelerde aşırı ekspresyonu gelişimi desteklemek yerine tam tersine bu hücrelerin gelişimini baskımlarken, NF-kB'nin inhibisyonu aynı hücre gruplarında hücre hiperplazisine neden oluyor.¹²⁸ Yapılan farklı diğer çalışmaların sonuç raporlarını incelediğimizde ise bu durumun zıttı olarak pek çok hücre ve doku tipi için normal büyüme ve NF-kB aktivasyonu arasındaki ilişkinin düz orantılı olduğunu görmekteyiz. Baldwin ve arkadaşları fibroblastlar üzerinde yaptıkları bir araştırmada, G0/G1 geçişi sırasında NF-kB ekspresyonunun artışı ifade etmişler.¹²⁹ FitzGerald ve arkadaşlarının yaptığı bir

diğer farklı çalışmada ise parsiyel hepatoektomi sonrasında NF-kB aktivasyonunun hepatositlerin proliferasyonunun başlangıcı ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir ve hücre proliferasyonu ile birlikte NF-kB aktivasyonunun artışı gösterilmiştir.^{130, 131} Bu çalışmalara paralel olarak, düz kas hücrelerinde proliferatif aktiviteye bağlı olarak NF-kB ekspresyonunun artışı epidermal büyüme faktörü, fibroblast epidermal büyüme faktörü, insülin-benzeri epidermal büyüme faktörü, trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü gibi birçok büyüme faktörünün indüksiyonuyla ilişkilendirilmiştir.¹³² Farelerde NF-kB sinyalizasyon yolağında etkili homozigot genlerin delesyonu NF-kB faktörlerinin normal büyüme ve hücrenin hayatta kalma süresi için gerekliliği kanıtını sağlamıştır. NF-kB faktörlerinin düzgün çalışması için gerekli c-Rel genleri susturulmuş farelerde B ve T lenfositlerin proliferasyonunda hata görülürken,¹³³ Rel-A genlerinin delesyonu hepatositlerde hücre ölümüne neden olmuştur.¹³⁴ Bu konuda daha radikal görünen en son teorilerden biri de hücreye özgün NF-kB indüksiyonu kullanıldığında NF-kB' nin aktifleşerek normal hücreleri radyoterapinin sitotoksik etkilerinden korurken, tümör hücrelerinde aynı etkiyi oluşturmayacağı hipoteziydi.¹³⁵ Bu tür koruma şeklinin normal hücrelerde etkili olup, tümör hücrelerinde ise etki göstermeyeceği öngörülerek, bahsi geçen koruma şeklinin kemoterapi yöntemlerine uygulanmasının yüksek doz veya farklı terapötik kombinasyonların kullanılmasının normal hücreler tarafından iyi tolere edilirken, tümörün ortadan kaldırılmasında daha etkili olacağı bildirilmiştir. Literatürde mevcut bu bilgilere paralel olarak bizim çalışma gruplarımızda NF-kB'nin kontrol, kontrol + kuersetin ve obezite + kuersetin gruplarında güçlü immün reaktivite göstermesi ovarium dokusunda folikül gelişimi sürecinde gördüğümüz hücre proliferasyonuna bağlı olarak geliştiği kanaatindeyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmanın sonuçları arasında; öncelikli olarak ovaryum dokusuna obezitenin verdiği zarar gösterildi. Obezite ovaryum dokusunda hafif dereceli enflamatuar etki göstererek sitokin salınımı artırdı ve ROT oluşumuna neden oldu. Kullandığımız birçok olumlu etkisi kanıtlanmış olan kuersetinin ise antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitesi ile obeziteyi iyileştirdiği kanısındayız. Ovaryum dokusu reproduktif sistem için en önemli organlardan biridir ve yapısındaki bozulmalar infertiliteyi etkileyeceğinden yapısının korunması ve hasar gelişimi durumunda çok zaman kaybetmeden onarılması gerekmektedir. Çalışmamızda kuersetinin ovaryum dokusunda olumlu etkileri gösterilmiş oldu. Yapılan çalışmada literatüre istinaden kuersetinin farklı dokularda uygulanan doz miktarından faydalanılmıştır. Fakat çalışmada kullanılan dozun ovaryum dokusunda tam bir iyileşme yapmadığı, yer yer yetersiz kaldığı görüldüğünden farklı miktarlarda yeni doz ayarlamaları denenerek tekrar düzenleme yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Baughcum AE, Chamberlin LA, Deeks CM, Powers SW, Whitaker RC. Maternal perceptions of overweight preschool children. *Pediatrics*, 2000, 106: 1380-1386.
2. Toschke AM, Koletzko B, Slikker W, Jr., Hermann M, von Kries R. Childhood obesity is associated with maternal smoking in pregnancy. *Eur J Pediatr*, 2002, 161: 445-448.
3. E. S. *Endokrinoloji*. 1 Baskı. İstanbul, Nobel Tıp kitabevleri, 2001.
4. Gedik O. Obezite ve Çevresel Faktörler. *Turk J Endocrinol Metab*, 2003, 7.
5. Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23: 365-367.
6. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, Maruyama N, Kitagawa N, Tanaka T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88: 4673-4676.
7. Tüzün M. *Obezite ve Tedavisi*. 1 Baskı. İstanbul, Mart Matbaacılık, 1999.
8. Korugan Ü, Damcı, T., Özbey, N., Özer, E.,. *Klinik Obezite*. 1 Baskı. İstanbul, Karakter Color Matbaası, 2000.
9. Himms-Hagen J. On raising energy expenditure in ob/ob mice. *Science*, 1997, 276: 1132-1133.
10. Pekcan O, gbreve, ur S. Oxygen Diffusion into Latex Films Annealed at Various Temperatures: A Fluorescence Study. *J Colloid Interface Sci*, 1999, 217: 154-159.

11. Poskitt EM. Body mass index and child obesity: are we nearing a definition? *Acta Paediatr*, 2000, 89: 507- 509.
12. Ergün A, Yardımcı, S., Akçıl, E., Yavuzer, S.,. Spor yapan ve yapmayan erkek öğrencilerde vücut yağ yüzdesi. *AÜ Tıp Mecmuası*, 1993, 46: 221-228.
13. Ersoy R, Çakır, B. Obezite. *Turkish Medical Journal*, 2007, 1: 109-111.
14. Bjorntorp P, Rosmond R. Obesity and cortisol. *Nutrition*, 2000, 16: 924-936.
15. Bjorntorp P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obes Rev*, 2001, 2: 73-86.
16. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 2006, 444: 860-867.
17. Yu R, Kim CS, Kang JH. Inflammatory components of adipose tissue as target for treatment of metabolic syndrome. *Forum Nutr*, 2009, 61: 95-103.
18. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*, 2003, 112: 1796-1808.
19. Kang JH, Goto T, Han IS, Kawada T, Kim YM, Yu R. Dietary capsaicin reduces obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis in obese mice fed a high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*, 2010, 18: 780-787.
20. Kang JH, Kim CS, Han IS, Kawada T, Yu R. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Lett*, 2007, 581: 4389-4396.
21. Yu R, Kim CS, Kwon BS, Kawada T. Mesenteric adipose tissue-derived monocyte chemoattractant protein-1 plays a crucial role in adipose tissue

macrophage migration and activation in obese mice. *Obesity (Silver Spring)*, 2006, 14: 1353-1362.

22. Gerhardt CC, Romero IA, Canello R, Camoin L, Strosberg AD. Chemokines control fat accumulation and leptin secretion by cultured human adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*, 2001, 175: 81-92.

23. Maurer M, von Stebut E. Macrophage inflammatory protein-1. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36: 1882-1886.

24. Davatelis G, Tekamp-Olson P, Wolpe SD, Hermsen K, Luedke C, Gallegos C, Coit D, Merryweather J, Cerami A. Cloning and characterization of a cDNA for murine macrophage inflammatory protein (MIP), a novel monokine with inflammatory and chemokinetic properties. *J Exp Med*, 1988, 167: 1939-1944.

25. Bondia-Pons I, Ryan L, Martinez JA. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *J Physiol Biochem*, 2012, 68: 701-711.

26. Krinke GJ. *The handbook of experimental animals The Laboratory Rat* Baskı. USA, Academic Press, 2000.

27. Liu CF, Liu C, Yao HH. Building pathways for ovary organogenesis in the mouse embryo. *Curr Top Dev Biol*, 2010, 90: 263-290.

28. Dere F. *Anatomi*. Baskı. 1989.

29. Gövsa Gökmen F. *Sistematik Anatomi*. 1 Baskı. 2004.

30. Gartner LPH, J.L. *Color Textbook of Histology*. 2 Baskı. Philadelphia, W.B. Saunders comp, 2001.

31. Richard SS. *Clinical Anatomy for Medical Students*. 1 Baskı. Little Brown, 1995.

32. Özer A. *Veteriner Özel Histoloji*. Baskı. Nobel Yayın Dağıtım, 2010.

33. Sadler TW. *Medikal Embriyoloji (Türkçe Çeviri)*. 9 Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2005: 328-340.
34. Şeftalioğlu A. *Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi*. 4 Baskı. Ankara, Alp Ofset Matbaacılık, 2003.
35. Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, Fellous M. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature*, 1990, 348: 448-450.
36. Surani MA. Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance. *Nature*, 2001, 414: 122-128.
37. Hirshfield AN. Overview of ovarian follicular development: considerations for the toxicologist. *Environ Mol Mutagen*, 1997, 29: 10-15.
38. Pepling ME. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis*, 2006, 44: 622-632.
39. Moore KLP, T.V.N. *The Developing Human: clinically oriented embryology*. 6 Baskı. Philadelphia, Saunders, 2002: 560.
40. Di George AM. *Hermaphroditism*, In Behrman RE ed. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 14 Baskı. Philadelphia, WB Saunders, 1992.
41. Motta PM, Makabe S, Nottola SA. The ultrastructure of human reproduction. I. The natural history of the female germ cell: origin, migration and differentiation inside the developing ovary. *Hum Reprod Update*, 1997, 3: 281-295.
42. Picton HM. Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology*, 2001, 55: 1193-1210.
43. Kierszenbaum AL. *Histoloji Ve Hücre Biyolojisi*. Baskı. Palme Yayıncılık, 2006.

44. Erdoğan DH, M.T.; Görgün, M.; Ilgaz. C.,. *Özel Histoloji*. Baskı. Hatipoğlu 2007.
45. Bukovsky A, Caudle MR, Svetlikova M, Upadhyaya NB. Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004, 2: 20.
46. Espey LL. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biol Reprod*, 1994, 50: 233-238.
47. Junqueira L.C. CJ. *Temel Histoloji (Türkçe Çeviri)*. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2006.
48. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod Update*, 2005, 11: 461-471.
49. Uzumcu M, Zachow R. Developmental exposure to environmental endocrine disruptors: consequences within the ovary and on female reproductive function. *Reprod Toxicol*, 2007, 23: 337-352.
50. McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*, 2000, 21: 200-214.
51. Hirshfield AN, DeSanti AM. Patterns of ovarian cell proliferation in rats during the embryonic period and the first three weeks postpartum. *Biol Reprod*, 1995, 53: 1208-1221.
52. Kezele P, Skinner MK. Regulation of ovarian primordial follicle assembly and development by estrogen and progesterone: endocrine model of follicle assembly. *Endocrinology*, 2003, 144: 3329-3337.
53. Pepling ME, Spradling AC. Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles. *Dev Biol*, 2001, 234: 339-351.

54. Marcinkiewicz JL, Balchak SK, Morrison LJ. The involvement of tumor necrosis factor-alpha (TNF) as an intraovarian regulator of oocyte apoptosis in the neonatal rat. *Front Biosci*, 2002, 7: d1997-2005.
55. Greenfeld CR, Pepling ME, Babus JK, Furth PA, Flaws JA. BAX regulates follicular endowment in mice. *Reproduction*, 2007, 133: 865-876.
56. Tingen C, Kim A, Woodruff TK. The primordial pool of follicles and nest breakdown in mammalian ovaries. *Mol Hum Reprod*, 2009, 15: 795-803.
57. Ben-Chetrit A, Gotlieb L, Wong PY, Casper RF. Ovarian response to recombinant human follicle-stimulating hormone in luteinizing hormone-depleted women: examination of the two cell, two gonadotropin theory. *Fertil Steril*, 1996, 65: 711-717.
58. AL. K. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Baskı. Palme Yayıncılık, 2006.
59. Hawkins SM, Matzuk MM. The menstrual cycle: basic biology. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1135: 10-18.
60. Moskaug JO, Carlsen H, Myhrstad M, Blomhoff R. Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods. *Mech Ageing Dev*, 2004, 125: 315-324.
61. Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr*, 2005, 81: 243S-255S.
62. Hertog MG, Hollman PC. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Eur J Clin Nutr*, 1996, 50: 63-71.
63. Strobel P, Allard C, Perez-Acle T, Calderon R, Aldunate R, Leighton F. Myricetin, quercetin and catechin-gallate inhibit glucose uptake in isolated rat adipocytes. *Biochem J*, 2005, 386: 471-478.

64. Kuppusamy UR, Das NP. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes. *Biochem Pharmacol*, 1992, 44: 1307-1315.
65. Yoshida M, Yamamoto M, Nikaido T. Quercetin arrests human leukemic T-cells in late G1 phase of the cell cycle. *Cancer Res*, 1992, 52: 6676-6681.
66. Hsu CL, Yen GC. Induction of cell apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocytes by flavonoids is associated with their antioxidant activity. *Mol Nutr Food Res*, 2006, 50: 1072-1079.
67. Liesveld JL, Abboud CN, Lu C, McNair C, Menon A, Smith A, Rosell K, Rapoport AP. Flavonoid effects on normal and leukemic cells. *Leuk Res*, 2003, 27: 517-527.
68. Banerjee SS, Feinberg MW, Watanabe M, Gray S, Haspel RL, Denkinger DJ, Kawahara R, Hauner H, Jain MK. The Kruppel-like factor KLF2 inhibits peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression and adipogenesis. *J Biol Chem*, 2003, 278: 2581-2584.
69. Neal JW, Clipstone NA. Calcineurin mediates the calcium-dependent inhibition of adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem*, 2002, 277: 49776-49781.
70. Horman S, Browne G, Krause U, Patel J, Vertommen D, Bertrand L, Lavoigne A, Hue L, Proud C, Rider M. Activation of AMP-activated protein kinase leads to the phosphorylation of elongation factor 2 and an inhibition of protein synthesis. *Curr Biol*, 2002, 12: 1419-1423.

71. Moon HS, Chung CS, Lee HG, Kim TG, Choi YJ, Cho CS. Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on lipid accumulation of 3T3-L1 cells. *Obesity (Silver Spring)*, 2007, 15: 2571-2582.
72. Ahn J, Lee H, Kim S, Park J, Ha T. The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373: 545-549.
73. Kaminska B. MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy--from molecular mechanisms to therapeutic benefits. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1754: 253-262.
74. Cobb MH. MAP kinase pathways. *Prog Biophys Mol Biol*, 1999, 71: 479-500.
75. MacKeigan JP, Collins TS, Ting JP. MEK inhibition enhances paclitaxel-induced tumor apoptosis. *J Biol Chem*, 2000, 275: 38953-38956.
76. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 2002, 420: 333-336.
77. Aguirre V, Uchida T, Yenush L, Davis R, White MF. The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J Biol Chem*, 2000, 275: 9047-9054.
78. Tuncman G, Hirosumi J, Solinas G, Chang L, Karin M, Hotamisligil GS. Functional in vivo interactions between JNK1 and JNK2 isoforms in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 10741-10746.
79. Mehta S, Farmer JA. Obesity and inflammation: a new look at an old problem. *Curr Atheroscler Rep*, 2007, 9: 134-138.

80. Sonnenberg GE, Krakower GR, Kissebah AH. A novel pathway to the manifestations of metabolic syndrome. *Obes Res*, 2004, 12: 180-186.
81. Cho SY, Park SJ, Kwon MJ, Jeong TS, Bok SH, Choi WY, Jeong WI, Ryu SY, Do SH, Lee CS, Song JC, Jeong KS. Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-kappaB pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. *Mol Cell Biochem*, 2003, 243: 153-160.
82. Comalada M, Ballester I, Bailon E, Sierra S, Xaus J, Galvez J, de Medina FS, Zarzuelo A. Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: analysis of the structure-activity relationship. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72: 1010-1021.
83. Comalada M, Camuesco D, Sierra S, Ballester I, Xaus J, Galvez J, Zarzuelo A. In vivo quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF-kappaB pathway. *Eur J Immunol*, 2005, 35: 584-592.
84. Hamalainen M, Nieminen R, Vuorela P, Heinonen M, Moilanen E. Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators Inflamm*, 2007, 2007: 45673.
85. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 1995, 95: 2409-2415.

86. Esposito K, Nappo F, Giugliano F, Di Palo C, Ciotola M, Barbieri M, Paolisso G, Giugliano D. Meal modulation of circulating interleukin 18 and adiponectin concentrations in healthy subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 2003, 78: 1135-1140.
87. Galisteo M, Sanchez M, Vera R, Gonzalez M, Anguera A, Duarte J, Zarzuelo A. A diet supplemented with husks of *Plantago ovata* reduces the development of endothelial dysfunction, hypertension, and obesity by affecting adiponectin and TNF-alpha in obese Zucker rats. *J Nutr*, 2005, 135: 2399-2404.
88. Kapur S, Marcotte B, Marette A. Mechanism of adipose tissue iNOS induction in endotoxemia. *Am J Physiol*, 1999, 276: E635-641.
89. Bedard S, Marcotte B, Marette A. Cytokines modulate glucose transport in skeletal muscle by inducing the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biochem J*, 1997, 325 (Pt 2): 487-493.
90. Yugar-Toledo JC, Tanus-Santos JE, Sabha M, Sousa MG, Cittadino M, Tacito LH, Moreno H, Jr. Uncontrolled hypertension, uncompensated type II diabetes, and smoking have different patterns of vascular dysfunction. *Chest*, 2004, 125: 823-830.
91. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res*, 2005, 51: 117-123.
92. Camuesco D, Comalada M, Rodriguez-Cabezas ME, Nieto A, Lorente MD, Concha A, Zarzuelo A, Galvez J. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an inhibition in iNOS expression. *Br J Pharmacol*, 2004, 143: 908-918.

93. Pagano E, Coso O, Calvo JC. Down-modulation of erbB2 activity is necessary but not enough in the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J Cell Biochem*, 2008, 104: 274-285.
94. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta*, 2007, 380: 24-30.
95. Kyriakis JM. Activation of the AP-1 transcription factor by inflammatory cytokines of the TNF family. *Gene Expr*, 1999, 7: 217-231.
96. Stienstra R, Duval C, Muller M, Kersten S. PPARs, Obesity, and Inflammation. *PPAR Res*, 2007, 2007: 95974.
97. Attie AD, Scherer PE. Adipocyte metabolism and obesity. *J Lipid Res*, 2009, 50 Suppl: S395-399.
98. Iyer A, Fairlie DP, Prins JB, Hammock BD, Brown L. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nat Rev Endocrinol*, 2010, 6: 71-82.
99. Nabavi SF, Nabavi SM, Mirzaei M, Moghaddam AH. Protective effect of quercetin against sodium fluoride induced oxidative stress in rat's heart. *Food Funct*, 2012, 3: 437-441.
100. Panchal SK, Poudyal H, Brown L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr*, 2012, 142: 1026-1032.
101. Rigoulet M, Yoboue ED, Devin A. Mitochondrial ROS generation and its regulation: mechanisms involved in H₂O₂ signaling. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14: 459-468.
102. Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, 2006, 440: 944-948.

103. de Ferranti S, Mozaffarian D. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin Chem*, 2008, 54: 945-955.
104. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc*, 2001, 60: 349-356.
105. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*, 2004, 92: 347-355.
106. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol*, 2001, 11: 372-377.
107. Fujishiro M, Gotoh Y, Katagiri H, Sakoda H, Ogihara T, Anai M, Onishi Y, Ono H, Abe M, Shojima N, Fukushima Y, Kikuchi M, Oka Y, Asano T. Three mitogen-activated protein kinases inhibit insulin signaling by different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*, 2003, 17: 487-497.
108. Ruan H, Pownall HJ, Lodish HF. Troglitazone antagonizes tumor necrosis factor- α -induced reprogramming of adipocyte gene expression by inhibiting the transcriptional regulatory functions of NF- κ B. *J Biol Chem*, 2003, 278: 28181-28192.
109. Rachon D, Teede H. Ovarian function and obesity--interrelationship, impact on women's reproductive lifespan and treatment options. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 316: 172-179.
110. Ogbuji QC. Obesity and reproductive performance in women. *Afr J Reprod Health*, 2010, 14: 143-151.
111. Rasmussen KM, Kjolhede CL. Maternal obesity: a problem for both mother and child. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16: 929-931.

112. Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Gambineri A. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update*, 2003, 9: 359-372.
113. Pasquali R, Gambineri A, Pagotto U. The impact of obesity on reproduction in women with polycystic ovary syndrome. *BJOG*, 2006, 113: 1148-1159.
114. Bornstein SR, Rutkowski H, Vrezas I. Cytokines and steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2004, 215: 135-141.
115. Nteeba J, Ortinau LC, Perfield JW, 2nd, Keating AF. Diet-induced obesity alters immune cell infiltration and expression of inflammatory cytokine genes in mouse ovarian and peri-ovarian adipose depot tissues. *Mol Reprod Dev*, 2013, 80: 948-958.
116. Nteeba J, Ganesan S, Keating AF. Progressive obesity alters ovarian folliculogenesis with impacts on pro-inflammatory and steroidogenic signaling in female mice. *Biol Reprod*, 2014, 91: 86.
117. Dasu MR, Jialal I. Free fatty acids in the presence of high glucose amplify monocyte inflammation via Toll-like receptors. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 300: E145-154.
118. Tobai H, Nishiya I. Nitric oxide mediates inhibitory effect of interleukin-1beta on estrogen production in human granulosa-luteal cells. *J Obstet Gynaecol Res*, 2001, 27: 53-59.
119. Donesky BW, Dias de Moura M, Tedeschi C, Hurwitz A, Adashi EY, Payne DW. Interleukin-1beta inhibits steroidogenic bioactivity in cultured rat ovarian granulosa cells by stimulation of progesterone degradation and inhibition of estrogen formation. *Biol Reprod*, 1998, 58: 1108-1116.

120. Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, Unger RH. Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 2498-2502.
121. Kugu K, Ratts VS, Piquette GN, Tilly KI, Tao XJ, Martimbeau S, Aberdeen GW, Krajewski S, Reed JC, Pepe GJ, Albrecht ED, Tilly JL. Analysis of apoptosis and expression of bcl-2 gene family members in the human and baboon ovary. *Cell Death Differ*, 1998, 5: 67-76.
122. Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 621-663.
123. Bonizzi G, Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol*, 2004, 25: 280-288.
124. Amsterdam A, Keren-Tal I, Aharoni D, Dantes A, Land-Bracha A, Rimon E, Sasson R, Hirsh L. Steroidogenesis and apoptosis in the mammalian ovary. *Steroids*, 2003, 68: 861-867.
125. Jabbour HN, Sales KJ, Catalano RD, Norman JE. Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reproduction*, 2009, 138: 903-919.
126. Joyce D, Albanese C, Steer J, Fu M, Bouzahzah B, Pestell RG. NF-kappaB and cell-cycle regulation: the cyclin connection. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2001, 12: 73-90.
127. Huang S, Pettaway CA, Uehara H, Bucana CD, Fidler IJ. Blockade of NF-kappaB activity in human prostate cancer cells is associated with suppression of angiogenesis, invasion, and metastasis. *Oncogene*, 2001, 20: 4188-4197.

128. Seitz CS, Lin Q, Deng H, Khavari PA. Alterations in NF-kappaB function in transgenic epithelial tissue demonstrate a growth inhibitory role for NF-kappaB. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 2307-2312.
129. Baldwin AS, Jr., Azizkhan JC, Jensen DE, Beg AA, Coodly LR. Induction of NF-kappa B DNA-binding activity during the G0-to-G1 transition in mouse fibroblasts. *Mol Cell Biol*, 1991, 11: 4943-4951.
130. FitzGerald MJ, Webber EM, Donovan JR, Fausto N. Rapid DNA binding by nuclear factor kappa B in hepatocytes at the start of liver regeneration. *Cell Growth Differ*, 1995, 6: 417-427.
131. Cressman DE, Greenbaum LE, Haber BA, Taub R. Rapid activation of post-hepatectomy factor/nuclear factor kappa B in hepatocytes, a primary response in the regenerating liver. *J Biol Chem*, 1994, 269: 30429-30435.
132. Obata H, Biro S, Arima N, Kaieda H, Kihara T, Eto H, Miyata M, Tanaka H. NF-kappa B is induced in the nuclei of cultured rat aortic smooth muscle cells by stimulation of various growth factors. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 224: 27-32.
133. Kontgen F, Grumont RJ, Strasser A, Metcalf D, Li R, Tarlinton D, Gerondakis S. Mice lacking the c-rel proto-oncogene exhibit defects in lymphocyte proliferation, humoral immunity, and interleukin-2 expression. *Genes Dev*, 1995, 9: 1965-1977.
134. Beg AA, Sha WC, Bronson RT, Ghosh S, Baltimore D. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B. *Nature*, 1995, 376: 167-170.

135. Burdelya LG, Krivokrysenko VI, Tallant TC, Strom E, Gleiberman AS, Gupta D, Kurnasov OV, Fort FL, Osterman AL, Didonato JA, Feinstein E, Gudkov AV. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models. *Science*, 2008, 320: 226-230.



EKLER

EK-1: ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Hilal ATILAY
Doğum Tarihi	: 28.05.1989
Doğum Yeri	: Erzurum
Medeni Hali	: Bekâr
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve embriyoloji ABD / ERZURUM
Telefon	: 0536 589 86 30
E-posta	: hilal.atilay@gmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Özel İstiklal Lisesi (2006)
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji (2011) : Atatürk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Formasyonu (2011)
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Belgesel seyretme, Kitap okuma, Tiyatro, Seyahat	

**EK-2: ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK
KURUL ONAY FORMU**



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1500114683
Konu : HADYEK Kararı.

30.11.2015

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 18.11.2015 tarihli ve 42190979-050.01.04-E.1500107085 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 27.11.2015 tarih ve 9 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 174 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.
Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 27.11.2015
Toplantı Sayısı : 9

KARAR NO 174: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Jale SELLİ'nin yürüttüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "**Deneysel Obezite Oluşturulmuş Ratlarda, Kuersetin'in Ovaryum Dokusu Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik İncelenmesi**" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 18.11.2015 tarih ve 42190979-050.01.04-E.1500107085 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Devriş ÖZDEMİR
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2314730
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2315563
E-Posta: vETFak@atauni.edu.tr

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
www.atauni.edu.tr adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=5D52735



