

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

**RATLARDA KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)**  
**UYGULAMASININ ÜREME SİSTEMİ VE ANTİOKSİDAN SİSTEM**  
**ÜZERİNE ETKİSİ**

**Evren KOÇ**  
**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**Danışman**  
**Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU**

**2011-KARS**

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

**RATLARDA KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)**  
**UYGULAMASININ ÜREME SİSTEMİ VE ANTİOKSİDAN SİSTEM**  
**ÜZERİNE ETKİSİ**

**Evren KOÇ**  
**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**Danışman**  
**Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU**

**Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir.**

**Proje No: 2010-VF-42**

**2011-KARS**

**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora programı çerçevesinde Evren KOÇ tarafından hazırlanmış olan **“Ratlarda Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) Uygulamasının Üreme Sistemi ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi”** adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonucunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca oy **birliği** ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/07/2011

Adı Soyadı

Başkan : Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Üye : Prof. Dr. Ebru BEYTUT

Üye : Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU

Üye : Doç. Dr. Cihan KAÇAR

Üye : Doç. Dr. Süleyman GÜL

imza  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü  
Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>I</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>III</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>IV</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	<b>V</b>
<b>ÖNSÖZ</b>	<b>VI</b>
<b>1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Oksidatif Stres ve Oksidan / Antioksidan Denge</b>	<b>1</b>
1.1.1. Oksidan Kaynakları	3
1.1.1.1. Endojen Oksidan Kaynakları	3
1.1.1.2. Eksojen Oksidan Kaynakları	4
1.1.2. Antioksidan Kaynakları	4
1.1.2.1. Enzimatik Antioksidanlar	4
1.1.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	6
<b>1.2. Dişi Üreme Sistemi</b>	<b>9</b>
1.2.1. Follikülogenezis ve Ovulasyon	9
1.2.2. Progesteron Hormonu	11
1.2.2.1. Progesteron Hormonunun Uterus Üzerine Etkisi	12
1.2.2.2. Progesteron Hormonunun Fallop Tüpleri Üzerine Etkisi	12
1.2.2.3. Progesteron Hormonunun Meme Bezlerine Etkisi	12

1.2.2.4. Progesteron Hormonunun Gebelik Esnasındaki Etkileri	12
1.2.3. Ratlarda Üreme Sistemi	13
1.2.4. Ratlarda Yavrunun Anne Karnındaki Gelişimi	13
<b>1.3. Üreme Siklusunda Oksidan - Antioksidan Sistem</b>	<b>16</b>
<b>1.4. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)</b>	<b>18</b>
1.4.1. CAPE'nin Antioksidan Etkileri	20
<b>1.5. Senkronizasyon</b>	<b>21</b>
<b>2. MATERYAL VE METOT</b>	<b>22</b>
<b>2.1. MATERYAL</b>	<b>22</b>
2.1.1. Hayvan Materyali	22
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Aletler	22
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler	23
<b>2.2. METOT</b>	<b>24</b>
2.2.1. Senkronizasyon Protokolü	24
2.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	24
2.2.3. Plazma Progesteron Miktarının Belirlenmesi	25
2.2.4. Biyokimyasal Analizler	27
2.2.5. Histopatolojik İncelemeler	29
2.2.6. İstatistikî Analiz	29
<b>3. BULGULAR</b>	<b>30</b>
<b>3.1. Plazma Total Antioksidan Düzeyleri</b>	<b>30</b>

3.2. Plazma Total Oksidan Düzeyleri	31
3.3. Plazma Progesteron Düzeyleri	32
3.4. Yavru Sayıları	33
3.5. Ovaryum Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri	34
3.6. Ovaryum Dokusu Total Oksidan Düzeyleri	35
3.7. Uterus Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri	36
3.8. Uterus Dokusu Total Oksidan Düzeyleri	37
3.9. Histopatolojik Bulgular	38
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>40</b>
<b>5. ÖZET</b>	<b>46</b>
<b>6. ABSTRACT</b>	<b>48</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>50</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>65</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Düzey
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Düzey
<b>CAPE</b>	: Kafeik Asit Fenetil Ester
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>TCA</b>	: Trikarboksilik Asit
<b>RNS</b>	: Reaktif Nitrojen Türleri
<b>OH<sup>·</sup></b>	: Hidroksil radikalleri
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	: Süperoksit anyonu
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>RO<sub>2</sub></b>	: Peroksil
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NO<sub>2</sub><sup>·</sup></b>	: Nitrojen dioksit
<b>ONOO<sup>·</sup></b>	: Peroksinitrit
<b>HNO<sub>2</sub></b>	: Nitroz oksit
<b>RONOO</b>	: Alkil peroksinitrat
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>eNOS</b>	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
<b>Mn-SOD</b>	: Mangan - Süperoksit dismutaz

<b>Cu-SOD</b>	: Bakır - Süperoksit dismutaz
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: Su
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>Fe</b>	: Demir
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>GSSG</b>	: Glutatyon disülfür
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	: Prostaglandin F <sub>2α</sub>
<b>CL</b>	: Corpus luteum
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>NF-B</b>	: Nükleer Faktör B
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>μl</b>	: Mikrolitre



## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa no</u>
<b>Tablo 1.1.</b> Oksidatif strese sebep olan reaktif oksijen-nitrojen türleri	2
<b>Tablo 1.2.</b> En önemli ROS kaynakları ve enzimatik savunma sistemleri	8
<b>Tablo 1.3.</b> Ratlara ait bazı fizyolojik değerler	14
<b>Tablo 1.4.</b> Dişi ratların diöstrus, proöstrus, östrus ve metöstrus boyunca üreme sistemlerindeki histolojik özelliklerin özeti	15
<b>Tablo 1.5.</b> Senkronizasyonda kullanılan başlıca ilaçlar ve hormonlar	21
<b>Tablo 2.1.</b> Deney ve kontrol gruplarının isimlendirilmesi	25
<b>Tablo 3.1.</b> Plazma Total Antioksidan Düzeyleri	30
<b>Tablo 3.2.</b> Plazma Total Oksidan Düzeyleri	31
<b>Tablo 3.3.</b> Plazma Progesteron Düzeyleri	32
<b>Tablo 3.4.</b> 11. ve 21. Günde Batındaki Yavru Sayıları	33
<b>Tablo 3.5.</b> Ovaryum Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri	34
<b>Tablo 3.6.</b> Ovaryum Dokusu Total Oksidan Düzeyleri	35
<b>Tablo 3.7.</b> Uterus Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri	36
<b>Tablo 3.8.</b> Uterus Dokusu Total Oksidan Düzeyleri	37

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1.1. Organizmada oksidasyona sebep olan kaynaklar	4
Şekil 1.2. Okside ve redükte glutatyon oluşmasında glutatyon peroksidazın rolü	5
Şekil 1.3. Doğal tokoferollerin yapısı	6
Şekil 1.4. Organizmadaki antioksidan kaynaklar	7
Şekil 1.5. Hücrelerdeki oksidatif ve antioksidatif sistemlerin basitleştirilmiş şeması	9
Şekil 1.6. Follikül gelişim aşamaları, ovulasyon ve corpus luteum oluşumu	11
Şekil 1.7. CAPE'nin kimyasal yapısı	20
Şekil 2.1. Progesteron standart eğrisi	26
Şekil 3.1. Karaciğer dokusu	38
Şekil 3.2. Bağırsak dokusu	39

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa no</u></b>
<b>Grafik 3.1.</b> Plazma Total Antioksidan Düzeyleri	30
<b>Grafik 3.2.</b> Plazma Total Oksidan Düzeyleri	31
<b>Grafik 3.3.</b> Plazma Progesteron Düzeyleri	32
<b>Grafik 3.4.</b> 11. ve 21. Günde Batındaki Yavru Sayıları	33
<b>Grafik 3.5.</b> Ovaryum Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri	34
<b>Grafik 3.6.</b> Ovaryum Dokusu Total Oksidan Düzeyleri	35
<b>Grafik 3.7.</b> Uterus Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri	36
<b>Grafik 3.8.</b> Uterus Dokusu Total Oksidan Düzeyleri	37

## ÖNSÖZ

Gebelik, erkek üreme hücresi spermatozoonun dişi üreme hücresi oosit ile birleşerek zigot adı verilen yeni bir canlı oluşturmasıyla başlayan ve embriyo ve fötüs gelişimi ile devam eden süreç olarak kabul edilir (32).

Gebelik sürecinde, üreme sisteminde meydana gelen ard arda bir dizi olaydan artmış lipid peroksidasyonu ve azalmış antioksidan mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmektedir (85). Serbest radikallerin zararlı etkileri iyi biliniyor olmasına rağmen, bu ajanlar hücre fonksiyonlarının kontrolünde olumlu etkiler de oluşturabilmektedirler (25). Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'un diğer hücresel alanlardan farklı olarak, üreme sisteminde çeşitli pozitif etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (4, 102). Trofoblast proliferasyonu, plasentadaki mitokondrial aktivite, lipoproteinlerdeki artış ve uterus içeriğinde görülen kütleli artışın, normal metabolik süreçte düşük seviyede oluşan lipid peroksidasyonunun gebelik sürecinde yükselmesine neden olduğu bildirilmektedir (85).

Serbest radikaller folliküler sıvı, hidrosalpingeal sıvı ve periton sıvısındaki miktarları sayesinde oosit, sperm ve embriyoyu doğrudan etkileyebilmektedir. Bu mikro çevrede oosit kalitesi, sperm oosit etkileşimi, implantasyon ve erken embriyo gelişimi üzerine direkt bir etkiye sahiptir. Oksidatif stres, başarılı bir gebelik oluşumu için önemli olan implantasyon ve erken embriyo gelişimini etkilemektedir (4). Hidrojen peroksit ve lipid artışı luteal hücrelerde antigonadotropik ve luteolitik etki yaratırlar (10, 43). Yine oksijen radikalleri ve hidrojen peroksit corpus luteumda steroid hormon biyosentezini düzenlemektedirler (25). Reaktif oksijen türlerinin steroidogenezis üzerine inhibitör etkisi vardır (113). Yani luteal hücreler üreme siklusu esnasında aşırı progesteron üretimi ve siklus sonunda regresyon esnasında da progesteron sentezinin inhibisyonunda reaktif oksijen türlerini kullanmaktadırlar (25).

Follikülogenezis, luteolizis, corpus luteum regresyonu, ovulasyon ve implantasyon olaylarında ROS'da artış meydana geldiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmekle

birlikte (38, 42, 71, 118) bu artışın olumlu/olumsuz etkiye sahip olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Normal biyolojik süreçlerde yavaş gelişen ve zararlı etkileri önemsenmeyen ROS, üreme ile ilgili olaylarda aşırı derecede yüksek reaktif moleküller olabilmektedirler (102). Oksijen radikalleri ovaryumda önemli fizyolojik etkilere sahip olmalarına rağmen, bu zararlı ajanların yıllarca düzenli olarak üretilmeleri nedeniyle antioksidan sistemin azaldığı durumlarda ovaryum için risk teşkil edebilmektedir (17). Lutealiziste, oksidatif strese bağlı olarak oluşan luteal faz yetersizliğinin önlenmesinde antioksidan takviyesinin yararlı olduğu ve gebelik oranını artırdığı bildirilmektedir (29).

Antioksidanlar, organizmayı ROS'un zararlı etkilerinden koruyan önemli bir savunma sistemidir (113). Son yıllarda yapılan çalışmalar (74, 80, 94, 101) propolis maddesinin aktif bir bileşeni olan Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in de önemli bir antioksidan olduğunu göstermektedir. CAPE çeşitli bitkisel kaynaklardan elde edilen (122) ve bal arısı propolisinin de aktif bileşeni olan (47, 125), antioksidatif (68, 81), antiinflatuar (1, 28, 76, 93) ve antikanserojenik bir maddedir (26, 58, 86, 89). Propolis bal arıları tarafından kovanda üretilen doğal bir üründür. Çeşitli bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuklarından işçi arılar tarafından toplanıp kovanda biriktirilen propolisin antiseptik, antibakteriyal, antiinflatuar, immünmodülatör, antioksidan, antimutajenik ve sitotoksik etkileri bilimsel çalışmalarda kanıtlanmıştır (20, 28, 58). Kökenini propolis bileşeninden alan CAPE antioksidan etkinliğini nükleik asit sentezini artırıp hasarı azaltarak ve Trikarboksilik Asit Siklusu (TCA)'nu aktif tutarak sağlamaktadır (120). Çeşitli durumlarda uygulanan CAPE'nin oksidatif hasarı azalttığına dair pek çok veri vardır (28, 94, 101). Yapılan bir araştırmada (12) gentamisin sebep olduğu nefrotoksisitenin şiddetinin CAPE uygulamasıyla azaldığı, bu koruyucu etkinliğini de nefrotoksisite sonucu oluşan oksidan enzim aktivitesini azaltıp, antioksidan enzim aktivitesini artırarak gösterdiği bildirilmektedir. Başka bir araştırmada (69) ise testislerde torsiyon/detorsiyon uygulaması sonucu oluşan hasarın, CAPE uygulamasıyla antioksidan enzim aktivitesini artırmak suretiyle azaldığı belirtilmektedir.

Yapılan bu tez çalışmasıyla da bir antioksidan olan CAPE'nin gebelik döneminde yavru sayısı ile uterus, ovaryum ve kandaki oksidan/antioksidan ve progesteron düzeyleri üzerine etkileri saptanmaya çalışılmıştır.

Bu tez konusunun belirlenmesinde ve tezin yürütülmesinde bana her zaman yön ve destek veren, çalışmam süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve aynı zamanda akademik gelişimimde büyük emeği geçen danışman hocam Doç. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU'na, çalışmamın her aşamasında çalışmamı takip eden ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ebru BEYTUT'a, Fizyoloji Anabilim Dalı'nın diğer öğretim elemanlarına, laboratuvar çalışmalarına verdiği destekler için Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ'ye, histopatolojik değerlendirmelerdeki desteklerinden dolayı Prof. Dr. Enver BEYTUT'a, çalışmama maddi destek sağlayan Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığı'na ve eğitimimin her aşamasında maddi-manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

## 1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

### 1.1. Oksidatif Stres ve Oksidan / Antioksidan Denge

Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulundurmaları nedeniyle diğer bileşiklerden farklı kimyasal bileşiklerdir (107). Bu eşlenmemiş elektron nedeniyle kararsız yapıda bulunan serbest radikal molekülü, kararlı hale geçebilmek için elektronunu başka bir elektron ile eşleştirmesi gerekmektedir. Bu nedenle de serbest radikaller oldukça aktif moleküllerdir (61). Biyolojik sistemler serbest radikallere endojen ya da iyonize radyasyon gibi dış etkenlerden dolayı maruz kalabilirler (107). Serbest radikaller ya da reaktif oksijen türleri (ROS) önemli zararlı etkilere sahiptirler ve moleküllerde oluşan metabolik süreçler üzerinde oksidatif strese neden olurlar (21). Süperoksit radikali ve diğer ROS hücre solunumu esnasında ve aynı zamanda çeşitli uyaranlara karşı yanıt olarak oluşmaktadır. Serbest radikaller oksidatif fosforilasyon, ürik asit metabolizması ve prostaglandin sentezi gibi devamlı süreçlerin sonucu olarak vücutta sürekli artış göstermektedirler (33). Oksidatif stres, ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi yüksek reaktif moleküllerin aşırı üretilmeleri ya da ortadan kaldırılmalarının yetersiz olması şeklinde tanımlanmaktadır (61). Prooksidanlar ve antioksidanlar arasında bir dengesizlik söz konusu olduğu zaman oksidatif stres meydana gelmektedir (4). Oksidatif strese yol açan reaktif oksijen türleri olarak hidroksil radikalleri (OH<sup>•</sup>), süperoksit anyonu (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve peroksil (RO<sub>2</sub>) gibi türleri sayabiliriz (4, 61, 113). Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit (NO), nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub><sup>•</sup>), peroksinitrit (ONOO<sup>•</sup>), nitröz oksit (HNO<sub>2</sub>), alkil peroksinitrat (RONOO<sup>•</sup>)'tır (61) (Tablo 1.1). Bu radikallerin bazıları serbest formda bulunabilir ve çeşitli doku bileşenleriyle etkileşime girerek daha sonra çeşitli fonksiyon bozukluklarına neden olabilirler (67). O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenaz (COX) gibi farklı oksidazlar ve hatta ATP sentezi için gerekli olan normal oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondriyal elektron taşıma zinciri gibi bazı durumlarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığıyla bir oksijenini kaybetmesi sonucunda üretilmektedir. Normal şartlarda O<sub>2</sub><sup>•-</sup> antioksidan savunma mekanizmaları aracılığıyla hızlı bir şekilde ortadan kaldırılmaktadır. O<sub>2</sub><sup>•-</sup> mitokondride mangan süperoksit

dismütaz (Mn-SOD) ve sitozolde de bakır süperoksit dismutaz (Cu-SOD) aracılığıyla  $H_2O_2$ 'ye dönüştürülmektedir.  $H_2O_2$  de mitokondride GSH-Px, lizozomda CAT tarafından su ( $H_2O$ ) ve oksijen ( $O_2$ )'e dönüştürülür. Ayrıca demir (Fe), bakır (Cu) gibi elementlerin varlığında  $H_2O_2$ 'den reaktif  $OH^\cdot$  radikalleri oluşturulabilir (61). Böylece prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki kompleks etkileşim sayesinde hücre içi homeostaz sağlanmaktadır (4).

**Tablo 1.1.** Oksidatif strese sebep olan reaktif oksijen-nitrojen türleri

Reaktif Oksijen Türleri	Reaktif Nitrojen Türleri
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hidroksil radikalleri (<math>OH^\cdot</math>)</li> <li>- Süperoksit anyonu (<math>O_2^\cdot</math>)</li> <li>- Hidrojen peroksit (<math>H_2O_2</math>)</li> <li>- Peroksil (<math>RO_2</math>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nitrik oksit (NO)</li> <li>- Nitrojen dioksit (<math>NO_2^\cdot</math>)</li> <li>- Peroksinitrit (<math>ONOO^\cdot</math>)</li> <li>- Nitröz oksit (<math>HNO_2</math>)</li> <li>- Alkil peroksinitrat (RONOO)</li> </ul>

Hücrelerde antioksidan etki gösteren pek çok savunma sistemi vardır. Bunların başlıcaları SOD, CAT, GSH, GSH-Px ve melatonin gibi bazı enzim ve hormonlardan oluşmaktadır. Ayrıca mitokondrial elektron transport sisteminde elektron taşıyıcısı olarak çalışan Vitamin E,  $\beta$  karoten, vitamin C ve koenzim Q gibi antioksidanlarda bu sisteme serbest radikal tutucusu olarak destek olmaktadır. Serbest radikaller ve hücrel antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin serbest radikaller lehine yön değiştirmesinin oksidatif stres gelişmesine neden olduğu bilinmektedir (33).

ROS üretimi hücre metabolizmasının normal bir süreci olup, kanser, AIDS, diyabet gibi birçok hastalık etmenine bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin azalması sonucunda birikim göstermektedirler (59). Oksidanlar, çeşitli sitozolik enzim sistemlerinin yanı sıra peroksizomlar ve mitokondride de normal hücrel metabolizma sonucunda üretilmektedirler. Buna ek olarak birçok dış etken de ROS



üretimini tetikleyebilmektedir. CAT, SOD ve GSH-Px'i içeren enzimatik ve enzimatik olmayan karmaşık bir antioksidan savunma sistemi fizyolojik hemostazı korumak için ROS seviyesini düzenlerler. ROS; DNA, proteinler ve lipidler gibi canlı molekülleri bozarak hücrelerde hasara ve işlev bozukluğuna neden olmaktadır (40, 113). Süperoksit üretimi enzimatik olmadığı için yüksek metabolizma hızından dolayı ROS üretimi daha fazla olmaktadır. Bu etkilerinin yanı sıra ROS düzeylerindeki bir artış, aynı zamanda redoksa duyarlı özel sinyal yollarını aktive edebilecek bir gerilim sinyali oluşturabilirler. Bir kez aktive olan bu sinyal yollarının da zarar verici ya da koruyucu fonksiyonları olabilir (Tablo 1.2) (40).

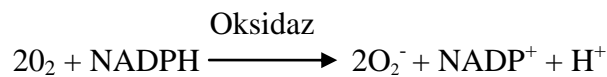
### 1.1.1. Oksidan Kaynakları

#### 1.1.1.1. Endojen Oksidan Kaynakları

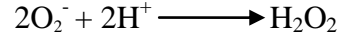
**Mitokondri:** Mitokondride aşırı kalsiyum yükü ve mitokondri iç zar geçirgenlik değişikliğine bağlı olarak mitokondri ROS üretimi artış göstermektedir (70).

**Peroksizomlar:** Peroksizomlar çok önemli hücre içi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağıdır. Peroksizomlardaki aminoasit oksidaz, ürat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden bol miktarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimine neden olurlar. Ancak peroksizomlarda, hidrojen peroksidin suya ayrışmasını katalizleyen CAT enziminin aktivitesi de çok yüksek olduğundan peroksizomlardan sitozole ne kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> geçtiği bilinmemektedir (121).

**NADPH oksidaz:** Bunlardan, reaktif oksijen metabolitlerinin artan miktarlarda açığa çıkışı bir oksidazın hızlı aktivasyonu sonucu gelişir. Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH), NADPH oksidaz tarafından okside edildiği reaksiyonda oksijen de süperoksit iyonuna redükte edilir (65).

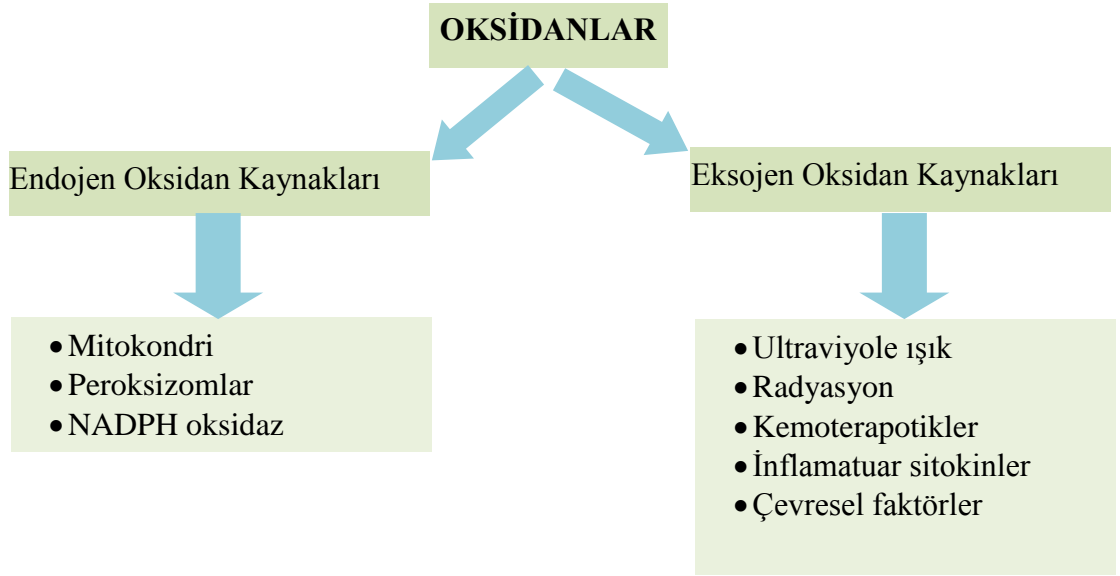


Daha sonra süperoksit iyonu, dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit'e dönüştürülür (65).



### 1.1.1.2. Eksojen Oksidan Kaynakları

Ultraviyole ışık, radyasyon, kemoterapotikler, inflamatuvar sitokinler ve çevresel faktörler gibi etkenlerdir (40).

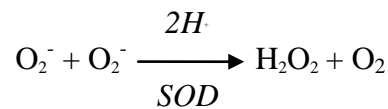


Şekil 1.1. Organizmada oksidasyona sebep olan kaynaklar

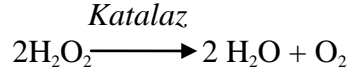
### 1.1.2. Antioksidan Kaynakları

#### 1.1.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

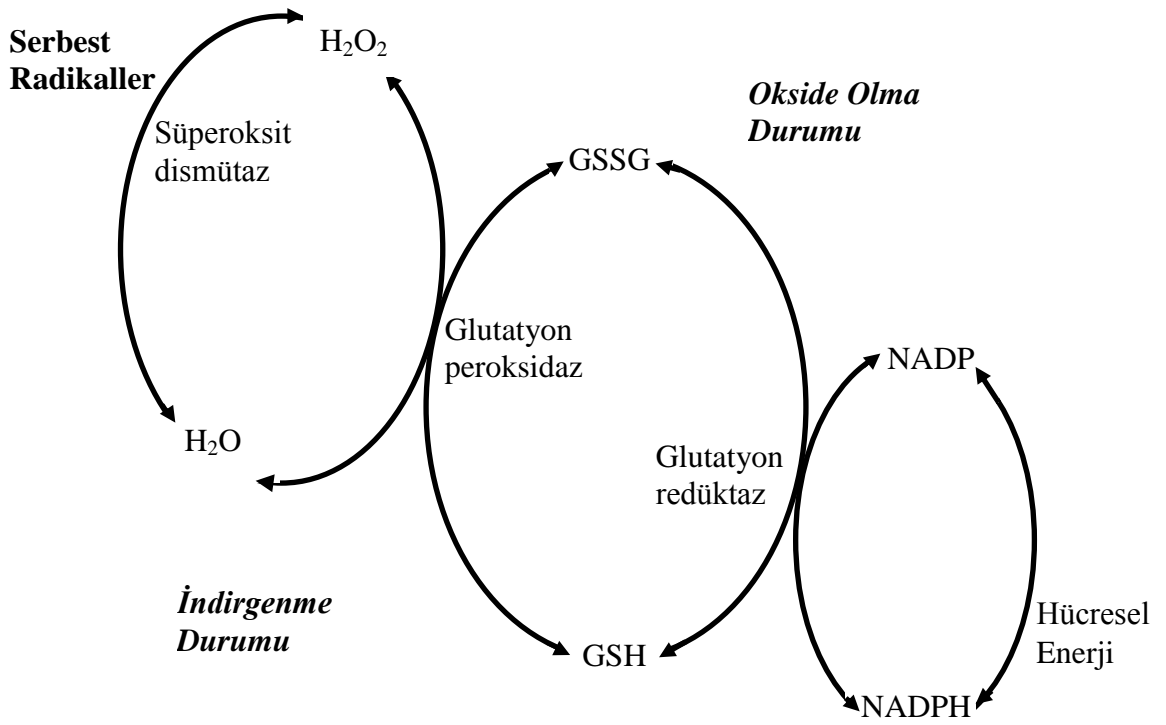
**Süperoksit dismutaz (SOD):** Süperoksit anyonundan ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijen oluşmasını sağlamaktadırlar (73).



**Katalaz (CAT):** Hücrelerde özellikle peroksizomlar içerisinde üretilmektedirler ve SOD aktivitesi sonucu meydana gelen hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'i su ve oksijene dönüştürmektedir (88).



**Glutasyon peroksidaz (GPx):** Glutasyon (GSH), GSH-Px tarafından okside olarak glutasyon disülfür (GSSG)'e dönüşürken  $H_2O_2$ 'de suya indirgenmektedir. Her bir hücrede belirli miktarda bulunan GSH,  $H_2O_2$ 'ye karşı koruma sağlamak için tekrar redükte duruma (GSH) dönüşmektedir. Glutasyon redüktaz, GSSG'yi GSH'a dönüştürmek için NADPH'ın oksidasyonundan oluşan elektronları kullanmaktadır (Şekil 1.2) (119).



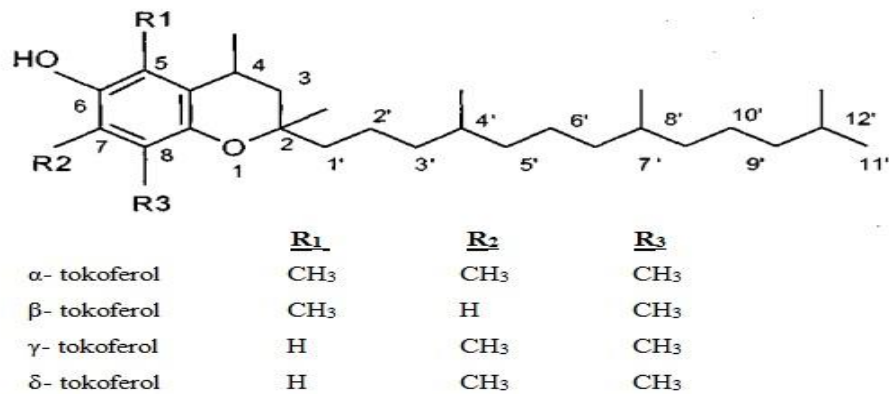
**Şekil 1.2.** Okside ve redükte glutasyon oluşmasında glutasyon peroksidazın rolü (119)

### 1.1.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

**Glutasyon (GSH):** Detoksifikasyon enzimlerinin en önemli grubunu oluşturmaktadır (51) ve oksidatif stres sonucu oluşabilecek hücre hasarının önlenmesinde önemli rol oynamaktadır (105). Bütün ökaryotik türler birçok sitozolik ve membrana bağlı GSH izoenzim türlerine sahiptirler. Bu GSH türlerinin her biri katalitik özelliklerinin yanı sıra katalitik olmayan özelliklere de sahip olabilirler. Membrana bağlı enzimler mikrozomal GST ve lökotrien C4 sentetaz olarak ikiye ayrılırken, sitozolik enzimler 5 gruba ayrılmaktadır (alfa, mü, pi, sigma ve teta GSH). GSH ekspresyonu yaşa, cinsiyete, dokuya ve türe göre farklılık gösterdiği gibi ROS üretimine bağlı olarak artış/azalış da gösterebilmektedir. Oksidatif stres sonucu hücrede üretilen karbonil ve peroksit gibi toksik metabolik ürünler GSH üretimini uyarmaktadır. Pi GSH sınıfı insan tümör hücreleri ve insan tümörlerinin birçoğunda önemli artış göstermektedir (51).

### Vitaminler:

**Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol):** E vitamini yağda çözünebilir özellikte olup hücre membranlarını serbest radikal aracılı peroksidatif hasardan koruyan önemli bir antioksidandır. E vitamininin en etkin şekli  $\alpha$ -tokoferoldür ve membrana bağlıdır.  $\alpha$ -tokoferolün fenolik çekirdeği membran yüzeyinde antioksidan olarak etki ederken, yan zincirindeki metil grupları, membran yağ asitlerinin çifte bağlarınca oluşturulmuş ceplere girerek membranı stabilize etmektedir (Şekil 1.3) (96).

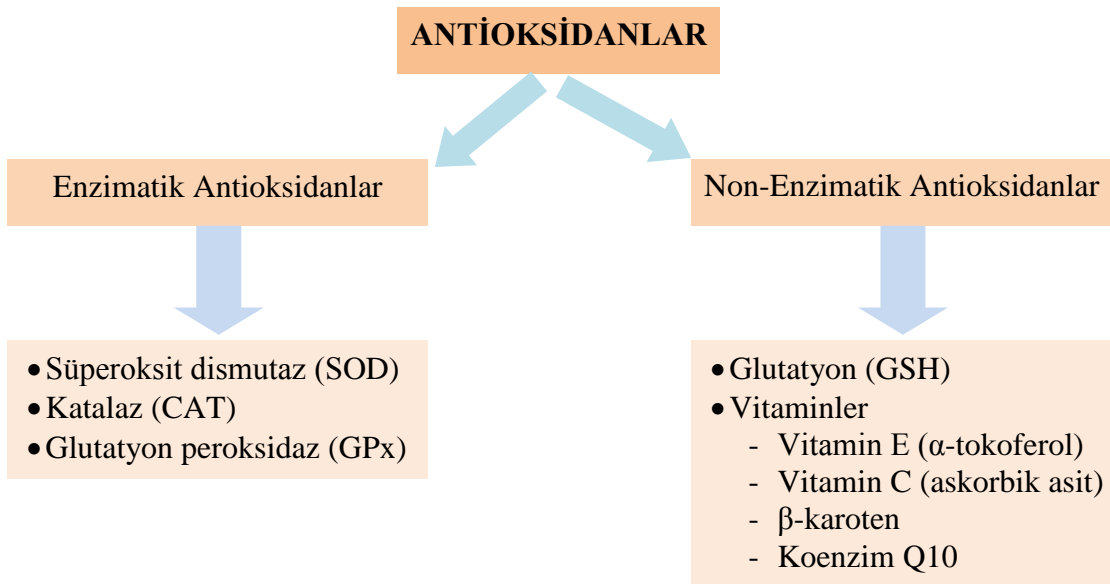


Şekil 1.3. Doğal tokoferollerin yapısı (96)

**Vitamin C (Askorbik asit):** Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Suda çözünür. Lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipidleri oksidasyona karşı korur. Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur. Bu nedenden dolayı serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir (121).

**Beta-karoten:** Vitamin A'nın ön maddesidir. Yağda çözünür. Serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyona girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikallerin oluşumunu önleyerek antioksidan görevi gördüğü saptanmıştır (121).

**Koenzim Q10:** Yağda çözünebilen bir antioksidandır ve yüksek konsantrasyonlarda  $O_2^-$ 'yi ortadan kaldırarak endotelial fonksiyon bozukluğunu düzeltir (61).

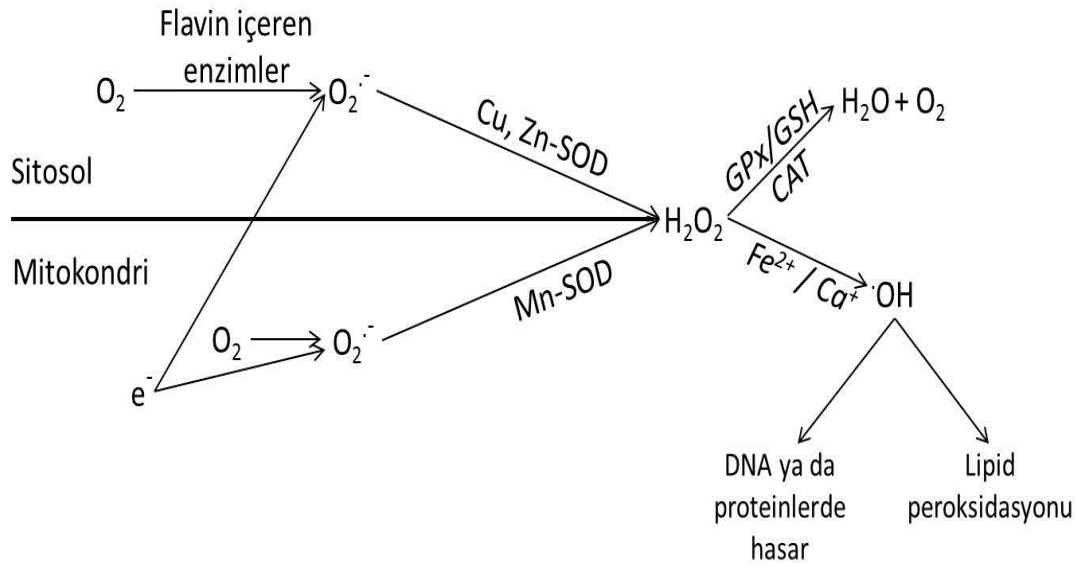


**Şekil 1.4.** Organizmadaki antioksidan kaynaklar

**Tablo 1.2.** En önemli ROS kaynakları ve enzimatik savunma sistemleri (88)

ROS molekülü	Başlıca kaynakları	Enzimatik savunma sistemleri	Ürünler
Süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ )	1- Elektron taşıma zincirinden elektronların kaçması		
	2- Aktive olan fagositler	Süperoksit dismutaz (SOD)	$H_2O_2 + O_2$
	3- Ksantin oksidaz		
	4- Flavoenzimler		
Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )	1- SOD aracılığıyla $O_2^{\cdot-}$	Glutasyon peroksidaz (GPx)	$H_2O + GSSG$
	2- NADPH-oksidadz	Katalaz (CAT)	$H_2O + O_2$
	3- Glikoz oksidaz		
	4- Ksantin oksidaz		
Hidroksil radikali ( $\cdot OH$ )	1- Geçiş metalleri (Fe, Cu) aracılığıyla $O_2^{\cdot-}$ ve $H_2O_2$		
Nitrik oksit (NO)	Nitrik oksit sentezi	Glutasyon	GSNO (S-nitrozo glutasyon)

Süperoksit, hücrelerde özellikle solunum zincirlerindeki elektron kaçaklarından dolayı sitosolde ve mitokondride önemli miktarlarda üretilmektedir. Süperoksit kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz aracılığıyla hidrojen peroksit ve oksijene dönüşmektedir. Hidrojen peroksit ise ya çeşitli enzimler aracılığıyla (GSH-Px, GSH, CAT) su ve oksijene dönüştürülerek etkisiz hale getirilir ya da geçiş metalleri ( $Fe^{2+}$ ,  $Ca^+$ ) aracılığıyla aşırı reaktif hidroksil radikaline dönüşerek lipid peroksidasyonuna, DNA veya proteinlerde hasarlara neden olabilirler (Şekil 1.5) (88).



**Şekil 1.5.** Hücrelerdeki oksidatif ve antioksidatif sistemlerin basitleştirilmiş şeması (88)

## 1.2. Dişi Üreme Sistemi

### 1.2.1. Follikülogenezis ve Ovulasyon

Folikül gelişmesi menarstan menopoza kadar periyodik olarak devam eden bir olaydır (37). Her bir yumurta tek sıralı granuloza hücreleriyle kuşatılmış halde bulunur ve primordiyal follikül olarak adlandırılır. Pubertaya kadar granuloza hücrelerinden salgılanan oosit menstruasyonunu inhibe edici faktör ovumun primordiyal halde kalmasına yardımcı olurlar. Puberte sonrasında ön hipofizden salgılanan FSH ve LH'ya bağlı olarak her iki over folliküllerle birlikte büyümeye başlamaktadır. Ovumun büyümesiyle birlikte follikül çapı 2-3 kat artmakta ve folliküle yeni granuloza tabakaları da eklenerek yapı primer follikül özelliği kazanmaktadır (49).

FSH ve LH artışı devam ederse bir grup primer follikülün büyümesi hızlanmakta ve bu hormonlar sayesinde granuloza hücre tabakasının bölünmesi sağlanarak pek çok granuloza hücre tabakası oluşturulmaktadır. Bunun yanı sıra ovaryum interstisyel hücrelerinden kaynaklanan iç hücreleri, granuloza hücre tabakalarının etrafında teka

adı verilen yeni bir hücre tabakası oluşturur. Bu tabaka teka interna ve teka eksterna olarak iki alt birimden oluşur. Teka interna tabakasındaki hücreler granuloza hücrelerine benzer şekilde epiteloid özellik gösterir ve steroid hormonların salgılanmasından sorumludur. Teka eksterna ise ileri derecede damarlanmış, bağ dokusundan bir kapsül şeklindedir (49).

### **Antral folliküller**

Granulozada en üst düzeyde farklılaşma oranı ile antral folliküller; en fazla östradiol üreten, sağlıklı oosit barındırma ihtimali en yüksek olan folliküllerdir. Sistemik dolaşıma da geçen östradiol, negatif geri bildirim etkisiyle FSH'ı azaltmaya başladığında, sadece en fazla FSH reseptörüne sahip olan baskın follikül hayatta kalabilecektir. FSH reseptörleri yeterli olmayan antral folliküller ise küçülmeye gidecektir. Yine bu aşamada FSH ve östradiolün etkisiyle granuloza hücrelerinde LH reseptörü sentezi de başlamaktadır. Normalde siklus ortasına kadar follikül sıvısında LH bulunmaz, erken LH yükselmesi androjen düzeylerini artırmakta, granuloza hücrelerinde mitotik süreci baskılamakta ve sonuç olarak follikülü küçülmeye götürmektedir (19).

### **Preovulatuvar follikül**

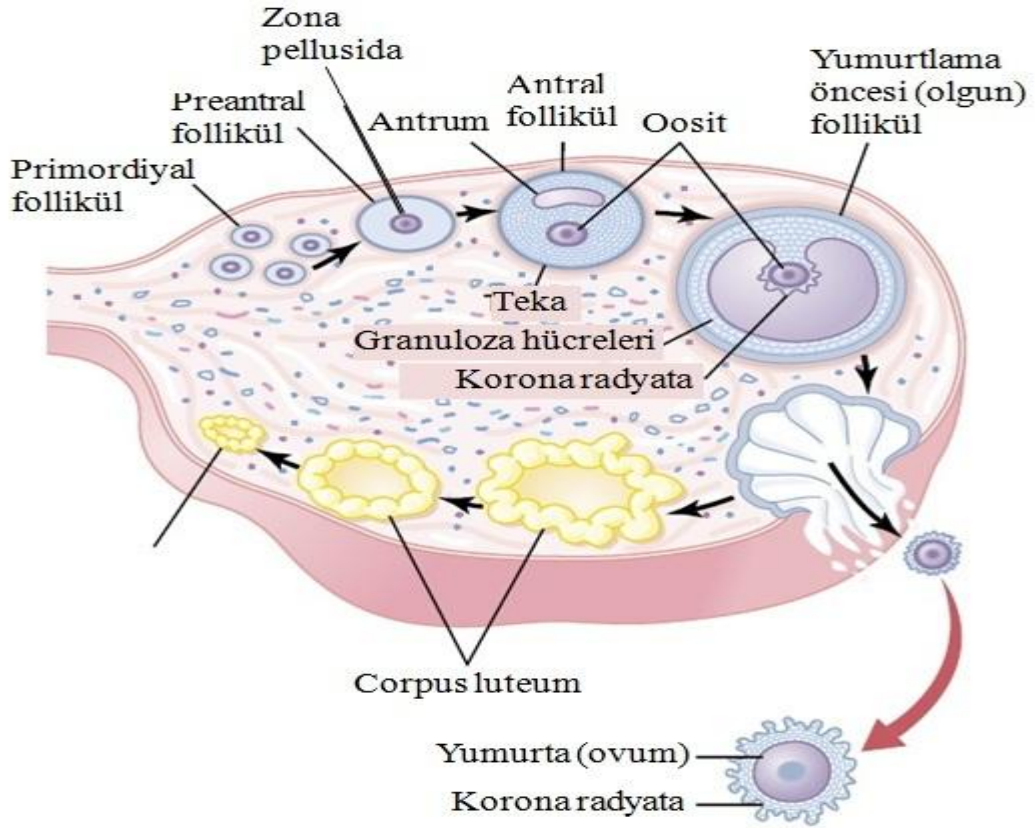
Ovulasyondan hemen önceki dönem olup, granuloza hücreleri büyümekte, teka tabakasında damarlaşma artmakta ve oositin mayozu tekrar başlamaktadır. Geç folliküler fazda östrojen hızlı bir artış göstermekte, bunu LH ani artışı takip etmektedir. LH etkisiyle progesteron üretimi de yükselmekte, luteal faza geçiş süreci başlamaktadır (19).

### **Ovulasyon**

LH artışından 10-12 saat, östradiol artışından 24-36 saat sonra yumurtlama gerçekleşir. LH ani artışı oositteki mayoz bölünmenin yeniden başlamasını,



granulozanın luteinizasyonunu, follikülde progesteron ve prostaglandinlerin sentezini uyarır. Progesteron ve prostaglandinler, follikül duvarının yırtılmasından sorumlu başta plazmin olmak üzere birçok proteolitik enzimin aktivitesini artırır. Follikül duvarındaki kollajenin sindirimiyle, follikül duvarının yırtılması ve ovulasyon gerçekleşir (Şekil 1.6) (19).



**Şekil 1.6.** Follikül gelişim aşamaları, ovulasyon ve corpus luteum oluşumu (49).

### 1.2.2. Progesteron Hormonu

Steroid yapılı bir hormon olup, başlıca overlerden alınan kolesterolden, az miktarda da asetil koenzim-A'dan sentez edilir. Kanda önemli miktarda plazma albümini ve pregesteron taşıyıcı globülinlerle taşınır. Salgılandıktan kısa bir süre sonra tümüyle, progesteron etkisi olmayan diğer steroidlere yıkılır. En önemli son yıkım ürünü pregnanedioldür. Orijinal progesteronun yaklaşık % 10'u idrarla bu şekilde atılır (49).

### **1.2.2.1. Progesteron Hormonunun Uterus Üzerine Etkisi**

Kadın cinsel döngüsünün ikinci yarısında uterus endometriyumunda sekresyonla ilgili değişimleri başlatarak, uterusu döllenmiş yumurtanın implantasyonuna hazırlamaktır. Ayrıca uterus kasılmalarının şiddetini ve sıklığını azaltıcı etkiye sahiptir. Bu şekilde implante ovumun atılması engellenir (49).

### **1.2.2.2. Progesteron Hormonunun Fallop Tüpleri Üzerine Etkisi**

Fallop tüplerini döşeyen mukozada, sekresyonla ilgili değişimleri başlatır. Salgı sıvısı, döllenmeden sonra bölünmeler geçirerek fallop tüpünde ilerleyen ovumun implantasyondan önce beslenmesi için gereklidir (49).

### **1.2.2.3. Progesteron Hormonunun Meme Bezlerine Etkisi**

Alveol hücrelerinin proliferasyonu ile memelerdeki lobül ve alveollerin gelişimini hızlandırır. Böylece memeler büyüyerek salgılayıcı bir hal kazanırlar (49).

### **1.2.2.4. Progesteron Hormonunun Gebelik Esnasındaki Etkileri**

Gebelik için çok önemli ve gerekli bir hormondur. Gebeliğin başlangıcında corpus luteumdan orta miktarlarda, daha sonra plasenta tarafından aşırı miktarlarda salgılanır. Progesteronun salgı hızı, gebelik ilerledikçe yaklaşık 10 kat artış göstermektedir. Gebeliğin devamı yönünden etkileri:

- 1- Uterus endometriyumunda desidual hücrelerin gelişmesine neden olur. Bu hücreler embriyonun erken evrelerde beslenmesine yardımcı olur.
- 2- Gebe uterusu kasılabilirliği azaltır. Bu şekilde spontan düşüklere yol açan uterus kasılmalarını engeller.

- 3- İmplantasyondan önce, annenin uterus ve fallop kanallarındaki salgılarını özgül olarak artırarak morula ve blastosistlerin gelişmesi için gerekli olan uygun besin maddelerini sağlar (49).

### **1.2.3. Ratlarda Üreme Sistemi**

Ratlar cinsel olgunluğa (seksüel olgunluğa ulaştığı ve ikinci eşey karakterlerinin ilk olarak görüldüğü döneme) yaklaşık 50±10 günler arasında ulaşırlar (6). Puberta yaşı ratlarda soy, beslenme ve çevre koşullarına göre farklılık göstermektedir (6, 108). Leptin düzeyindeki artışla birlikte puberta uyarılmaktadır. Dışide pubertayla beraber vajina açılmakta ve proöstrus gözlenmektedir. Doğumdan 33-42 gün sonra vajina kanalı açılmakta ve bir hafta sonra da östrus siklusu başlamaktadır (Tablo 1.3) (108).

Ratlar mevsime bağlı olmayan poliöstrik hayvanlardır. Postpartum dönem de dahil olmak üzere yaşlanana kadar yıl boyu östrus gösterirler. Seksüel siklus 4-5 gün sürmektedir (6, 108). Siklus boyunca proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evreleri görülmektedir. Proöstrus 12 saat sürmekte ve bu evrenin sonunda dişi erkeği kabul etmeye başlamaktadır. Vajinal sitolojide çekirdekli epitel hücreleri görülmektedir. Östrus evresi 9-15 saat sürmekte, bu esnada dişi erkeği kabul etmeye devam etmekte ve lordosis gözlenmektedir. Sitolojiye hakim olan hücre tipi çekirdekli hücrelerdir (%75). Geri kalanını (%25) kornifiye hücreler oluşturmaktadır. Metöstrus 21 saat sürer ve artık dişi erkeği kabul etmez. Çekirdekli ve kornifiye hücrelerle beraber çok sayıda akyuvar görülmektedir. Diöstrus 57 saat sürmekte ve vajinal sitolojide lökositler görülmektedir (Tablo 1.4) (108).

### **1.2.4. Ratlarda Yavrunun Anne Karnındaki Gelişimi**

Erkek ve dişi pronükleusların birleşmelerinden önceki faza *singami* denilmektedir. Singami sonrasındaki tek hücreli embriyo, “zigot evresi” olarak adlandırılmaktadır. İleriki safhaları, 2, 4, 8, 16 blastomerli evrelere sahip embriyolar izlemektedir. Sonraki safhalar ise; morula, kompakt morula, erken blastosist ve şişmiş blastosist ve

iç hücre kitlesinin zona pellisudadan dışarı çıkması olarak adlandırılan sarkmış blastosisit devreleridir. Sarkmış olan iç hücre kitlesi rahimde uterus duvarına yerleşmektedir. Bu olay implantantasyon olarak tanımlanmaktadır (6).

**Tablo 1.3.** Ratlara ait bazı fizyolojik değerler (108).

Erişkin vücut ağırlığı (dişi)	200-300 g	Erişkin vücut ağırlığı (erkek)	300-500 g
Yaşam süresi	2.5-3.5 yıl	Siklus uzunluğu	4-5 gün
Gebelik süresi	21-23 gün	Yavru sayısı	6-12
Gıda tüketimi	5-6 g/100 g CA/gün	Su tüketimi	10-12 ml/100 g CA/gün
Kalp atım sayısı	250-500/dak	Kan basıncı	84-134/ 60-68 mmHg
Kan volümü	54-70 ml/kg	Hematokrit	% 36-57
Hemoglobin (Hb)	11-18 g/dl	İdrar miktarı	5.5 ml/24 saat
İdrar	pH 7.3-8.5	İdrarın özgül ağırlığı	1040-1070
Eritrosit sayısı (RBC)	5-10 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	Ortalama alyuvar hacmi (MCV)	46.0-65.0 fl
Lökosit sayısı (WBC)	3-17 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	Nötrofil	% 9-34
Lenfosit	% 65-85	Eozinofil	% 0-6
Monosit	% 0-5	Bazofil	% 0-1.5
Trombosit sayısı (PLT)	500-1300 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	Oksijen tüketimi (250 g CA için)	0.68-1.10 ml/g/saat

**Tablo 1.4.** Dişi ratların diöstrus, proöstrus, östrus ve metöstrus boyunca üreme sistemlerindeki histolojik özelliklerin özeti (126).

	Vajina	Uterus	Ovaryum
<b>Diöstrus</b>	Değişken lökosit infiltrasyonları ile birlikte en düşük seviyede epitel ile tanımlanmaya başlar. Daha sonra lökosit infiltrasyonlarında azalma ile birlikte epitel proliferasyonu ve kalınlaşması (belirgin bir stratum granulosum yoktur) vardır.	Küçük, vasküler olmayan, dar lümen şeklinde. Silindirik epitel ile kaplıdır. Başlangıçta mitoz az fakat faz sırasında bazı artışlar vardır. Yalnızca bazen dejenere hücreler vardır. Stromal ödem bu aşamanın sonunda vardır.	Geniş corpus luteum. İyi bir biçimde vakuoller oluşabilir. Fibröz doku merkezi boşluktadır.
<b>Proöstrus</b>	Mitotik aktivite görülür. Nadiren polimorflar vardır. Az miktarda dejenerasyon veya deskuamasyon. Stratum granulosumun oluşumu, yüzey mukoid tabakasının ve stratum corneumun gittikçe gelişmesi. Bu aşamanın sonunda, tamamen boynuz şeklindedir ve genellikle yüzey mukoid tabakasında mukoid hücrelerin deskuamasyonu görülür.	Epitelyum kübikten silindire döner. Epitelyum hücrelerinde mitoz vardır, az dejenerasyon görülür ya da hiç görülmez ve az derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu vardır. Özellikle aşamanın sonuna doğru genişleme vardır.	Corpus luteum çoğu zaman dejeneredir. Sitoplazmik vakuoller genellikle mevcuttur. Merkezi boşlukta Fibröz doku proliferasyonu vardır.
<b>Östrus</b>	Boynuz yapıları ve yüzey mukozası daha fazla dökülmektedir. Epitelin yüksekliğinde azalma görülmekte ve hücre kalıntıları mevcuttur. Mitotik aktivitenin azalmaktadır. Artarak ilerleyen lökosit infiltrasyonu mevcuttur.	Genellikle önce bezlerde epitelyum hücrelerini önemli derecede dejenerasyon / nekrozu ile belirlenen östrusun başlaması. Mitotik aktivitenin kaybolması. Lökosit infiltrasyonu. Genişleme geç östrusa kadar devam edebilir.	Genellikle dejenere corpus luteum vardır. Bazofilik hücre sitoplazması, sıvı dolu merkezi kavite ve fibröz doku bulunmayan bazı küçük corpus luteumlar.
<b>Metöstrus</b>	Boynuz tabakasının neredeyse tamamen kopmasıyla başlar (genellikle kalıntılar lümene atılır). Stratum granulosumun ve üst germinativumun kaybolması ile devam eden deskuamasyon.	endometriyal epitelyum hücrelerinin devam eden dejenerasyonu. Mitotik aktivitenin tekrar başlaması: mitotik aktivite ve dejenerasyon birlikte görülür.	corpus luteum sıvı bir kavite içerebilir. Diöstrustakinden daha küçüktür. Hafif bazofilik hücreler vardır. Genellikle fibröz dokudan yoksundur.

### 1.3. Üreme Siklusunda Oksidan-Antioksidan Sistem

Serbest radikallerin üreme sisteminde önemli rolleri vardır (4). Ovaryumda ROS üretiminin meydana geldiği birçok kaynak bulunmaktadır. Hem corpus luteum hem de folliküllerde makrofajlar ve nötrofiller en belirgin ROS kaynaklarıdır (114). Luteolizis esnasında önemli oranda hidrojen peroksit ve lipid peroksidaz oluşmaktadır ve bunların oluşumu da askorbik asit ve  $\alpha$ -tokoferolün azalmasına bağlıdır (10). Luteal askorbik asit azalması LH ve Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) ile ilişkilidir. Bu olay farklı mekanizmalarla oluşmaktadır. LH ve  $PGF_{2\alpha}$  askorbik asit salınımını uyarmaktadır. Bu da muhtemelen reaktif oksijen üretimi ve hücre yapısındaki değişikliklerden dolayı meydana gelmektedir (83). Gonadotropinler ve ovaryum steroid hormonların yanı sıra sitokinler ve büyüme faktörleri gibi birçok lokal faktör de ovaryum fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynamaktadır (113). Puberte ve gonadotropin stimülasyonu sonrası ROS'a karşı yüksek koruma kapasitesi sağlamak için steroid seviyelerinde artış meydana gelmektedir. Cinsel olgunlaşma esnasında ovaryum GST izoenzim seviyelerinde meydana gelen mikron ( $\mu$ ) düzeyindeki bir artış, gonadotropik hormonların dolaylı ya da doğrudan etkileri sonucunda meydana gelmektedir (118). Süperoksit radikalleri dahil reaktif oksijen türlerinin steroidogenezis üzerinde inhibitör etkisi vardır (113). Peroksidaz aktivitesi östrus evresinde diğer evrelere göre en fazla artışı göstermektedir (2). Menstrual siklus esnasında GSH-Px aktivitesinin östrus esnasında diöstrus, proöstrus ve metöstrus evrelerine göre daha yüksek olduğu, ayrıca gebelik esnasındaki GSH-Px aktivitesinin de östrus evresine göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir (98). Yine menstrual siklusun farklı evrelerinde ovaryumunda, oositlerin olgunlaşması ve gelişmesi esnasında oksidatif strese bağlı apoptozisi önlemek amacıyla (118) alfa, pi, mü ve mikrozomal GST ekspresyonlarında steroid hormon üretimiyle paralellik gösteren artış meydana gelmektedir (100). Gebelik esnasında lökositlerde üretilen süperoksit oranındaki artış oksidatif strese katkıda bulunmaktadır (39).

Follikülogeneziste ovaryum follikül içerisindeki prooksidan/antioksidan denge önemli rol oynamaktadır (95). SOD; folliküler gelişim esnasında mitokondride steroidogenezise bağlı olarak üretilen süperoksit radikallerinden granuloza hücreleri

ve teka interna hücrelerinin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Çünkü süperoksit radikalleri normal metabolizma ve steroidogenezis neticesinde mitokondrial elektron taşıma sisteminde üretilmektedir (113).

Ovulasyon mekanizması inflamasyon olayı ile yakından ilişkilidir (23, 38). Ovulasyon esnasında ovulatór folliküllerde vazodilatasyon, hiperemi, ödem ve kan damarlarında artış gözlenmektedir. Bazofiller ve diğer lökosit çeşitleri graff folliküllerinin etrafında birikim gösterirler (38). Ovaryumun antioksidan kapasitesi, bir canlılık ifade etmektedir ve endokrin düzenleyici olarak rol oynamaktadır (10).

Luteal hücre ölümü bütün memelilerde üreme sürecinin düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Luteal ölümlerin ana sebeplerinden biri  $PGF_{2\alpha}$  olarak bilinir ancak hala  $PGF_{2\alpha}$ 'nın luteal gen transkripsiyonundaki etkileri tam olarak araştırılmamıştır. Luteolizisin artan oksijen radikal üretimi ve azalan progesteron sentezi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (42). Makrofajlar tarafından üretilen reaktif oksijen türleri luteal hücreler tarafından progesteron üretilmesini etkilemektedir (110). Ovaryumlarda corpus luteum (CL) tarafından ovulasyon sonrasında üretilen progesteron, gebelik oluşumu ve devamlılığı için gereklidir. CL regresyonu; CL fonksiyonunda gerileme ve miktarında azalma olarak tanımlanır. CL regresyonu fonksiyonel ve yapısal luteolizis olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. Yapısal luteolizis CL'un yapısal olarak gerilemesi olarak tanımlanır ve luteal hücrelerin ve kan damarlarının yokluğu gibi yapısal değişiklikleri içermektedir. Fonksiyonel luteolizis ise progesteron üretiminin azalması ile karakterizedir. Progesteron üretimindeki hızlı düşüş sonraki üreme döngüsünde folliküler büyüme için önemlidir (113). Ayrıca corpus luteum regresyonu esnasında ROS üretimi arttığı için diöstrus esnasında GSH içeriğinin azalması da luteolizisin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır (118). Yapılan bir araştırmada (10) akut LH uygulaması sonucunda orta luteal fazda, üretilen vitamin C düzeylerinde maksimum 4 saat kadar geçici bir azalma meydana geldiği, luteal vitamin A düzeylerinin değişmediği, vitamin E düzeylerinin LH uygulamasından 24 saat sonra belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir. Regresyon esnasında luteal dokuda süperoksit, hidrojen peroksit ve lipid peroksidaz oluşmaktadır. Rejenere olan corpus luteumda oksijen radikallerinin

hücresel kökeni çoğunlukla burada bulunan ya da dışarıdan infiltre olan lökositler özellikle de nötrofillerdir. Reaktif oksijen türleri aynı zamanda ovulasyon esnasında follikül içerisinde ve corpus luteum içerisinde de üretilebilir ancak en önemli üretim yerleri lökositlerdir (17).

Normal gebelikte, blastosist implantasyonunun erken safhasının inflamasyon olayı tarafından kontrol edildiği düşünülmektedir (71). Preimplantasyon fazında ve erken gebelikte, endometrial lökosit sayısında belirgin bir artış olur. Bu aşamada endometrial stromal hücrelerin %40'ını lökositler oluşturur. Lökositler tüm uterus boyunca bir dağılım gösterebilir bile yıkımlanma veya desidualizasyon bölgesinde özellikle bir birikim göstermezler. Makrofajlar uterus dokusunda bulunan lökositlerin %20'sini oluştururlar ve endometrial proliferasyon, farklılaşma ve yıkımlanma aşamalarında bölgede bulunurlar. Bununla beraber makrofajlar desidualizasyonun ve trofoblast invazyonunun olduğu bölgelerde belirgin bir artış göstermektedirler. Bu hücreler büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve proteazların bir kaynağını oluştururlar. Fetal-plasental etkileşimde önemli rol oynarlar ve dokuların yeniden şekillenmesi için bir mikroçevre oluştururlar (63).

#### **1.4. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)**

Bal arıları tarafından çeşitli bitkisel kaynaklardan toplanan reçineli bir maddenin genel adı olan Propolis, flavonoidler, steroller, vitaminler, amino asitler, ketonlar, fenolik aldehitler, fenolik asit ve onların esterleri ile polifenoller gibi biyokimyasal bileşenler bakımından oldukça zengindir (44).

Propolis insanoğlu tarafından binlerce yıldır tedavi amaçlı olarak kullanılmış, iyileştirici rollerinin iyice anlaşılmasından sonra yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Arılar propolisi milyonlarca, insanlarsa binlerce yıldır kullanmaktadır. İnsanlık için bu reçinemsî yapının keşfedilen yararları henüz çok az bilinmektedir. Propolis geçmiş dönemlerden beri çeşitli amaçlarda özellikle tıpta kullanılmaktadır. Eski yunan yazıtları bu maddeyi iltihaplanan yaralar ve çürükler için kür olarak tanımlarken Roma'da yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın yapımında

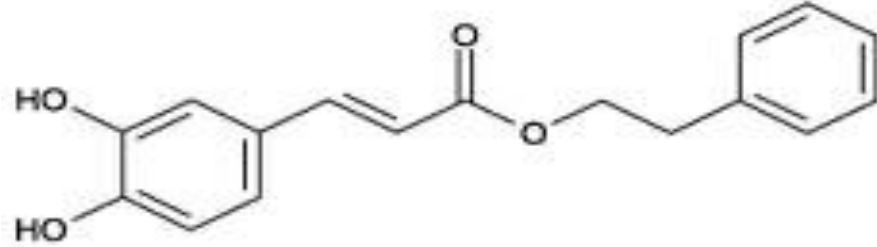


pratisyenler tarafından kullanılmaktadır. İbranice eski vasiyetnamelerde tzori olarak geçmektedir ve terapötik özellikleri ile anılmaktadır. Avrupa'daki 12 yy kayıtları propolisin medikal preparatlarının ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahseder. Son yıllarda artan bir şekilde dünyanın değişik ülkelerinde sağlıklı içecek sınıfında ve günlük birkaç dozda alınabilecek kapsül ve tablet formlarında piyasaya sunulmakta ve bu geniş spektrumlu biyolojik etkileri nedeniyle halk tarafından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Propolisin içinde 300'den daha fazla bileşen tespit edilmiştir. Molekül ağırlığı 284.31 gr/mol olan bu ürünün formülü  $C_{17}H_{16}O_4$  olarak kaydedilmiştir. Etil asetat, dimetilsülfoksit (DMSO) ve etanolde tamamen çözünmektedir (78).

Propolisin en önemli bileşenleri Kafeik Asit ve CAPE'dir (47). Bunların antikanserojen (52, 123), antiinflamatuvar (78, 79), antioksidan (31, 48) özellikleri pekçok araştırmacı tarafından açıkça ortaya konmuştur. Ancak CAPE'nin bu etkinliklerinin daha iyi olduğu ve bunun sebebinin de CAPE'nin membranları rahatlıkla geçmesine fırsat verecek fenil ve polihidrokarbon zinciri ile birlikte taşıdığı iki adet hidroksil grubuna (OH) bağlıdır (27). CAPE'nin büyük oranda kalsiyum (Ca) ile uyarılan sitokrom C salınımını önleyerek mitokondrial koruyucu özelliği dolayısıyla antioksidan etkinlik ve inflamasyon öncesi sitokinlerin salınımını önleyerek de antiinflamatuvar nitelik gösterdiği bildirilmiştir (106). Araştırmacılar (1, 18) CAPE uygulamasının karaciğer ve mide kültür hücrelerinde MDA düzeylerini düşürerek, DNA hasarından hücrelerin korunduğunu ve böylece hücresele antioksidan enzim düzeylerinin yüksek kaldığını bildirmektedir. CAPE'nin antiinflamatuvar etkisini, COX ve lipooksijenaz enzim aktivitesini baskılayarak ve ayrıca  $PGE_2$  salınımını düşürüp, COX'ın uyarılabilir izoformlarının baskılanması yoluyla gösterildiği bildirilmektedir (22).

CAPE yapıca flavonoidlere benzer ve iki halkasal yapı içerir. Bu halkasal yapılardan bir tanesinde iki adet hidroksil grubu taşımaktadır (Şekil 1.7) (69, 87). Hidroksil grupları sayesinde redoks reaksiyonlarında aktif rol oynayarak koruyucu özellik göstermektedir (91). CAPE çok düşük konsantrasyonlarda bile reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırarak organizmada lipooksijenaz inhibitörü (1-50  $\mu$ M) ya da

nükleer faktör B (NF-B) inaktivatörü (90 $\mu$ M) olarak etkinlik göstermektedir (55). Yine 10  $\mu$ mol/kg konsantrasyonda ksantin-ksantin oksidaz sistemini ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellediği bildirilmektedir (69, 109).



**Şekil 1.7.** CAPE'nin kimyasal yapısı (87).

#### **1.4.1. CAPE'nin Antioksidan Etkileri**

CAPE antioksidan özellikleri birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuş, koruyucu etkinliğini hasarlı dokuda glikoliz ve pentoz fosfat yolunun bütünlüğünü koruyarak gerçekleştiren, bir antioksidandır. Bu etkinliğini, nükleik asit sentezini artırıp hasarı azaltarak ve sitrik asit siklusunu da daha aktif tutarak sağlamaktadır (120, 128). Yapılan araştırmalarda (12, 127) CAPE uygulaması sonucunda oksidatif hasarın düştüğü bildirilmektedir. Kadmiyum uygulaması yapılan bir araştırmada artmış malondialdehit (MDA) düzeylerinin CAPE uygulamasına bağlı olarak düşüş gösterdiği bildirilmiştir (81). Parlakpınar ve ark.'da (94) ratlarda akut böbrek toksisitesine karşı CAPE'nin MDA ve NO düzeylerini belirgin biçimde azalttığını, SOD, CAT ve GSH düzeylerini artırdığını tespit etmişlerdir. Yine, kolestatik karaciğer hasarına karşı i.p. CAPE uygulamasının GSH düzeyini artırdığı (28) ve başka bir çalışmada da, CCl<sub>4</sub> ile birlikte CAPE verilmesinin antioksidan enzim düzeyini artırdığı gösterilmiştir (74). Aynı şekilde Rezzani ve ark. (101) ratlarda siklosporin A ile indüklenen kardiyotoksositeye karşı CAPE uygulamasının sitokrom-c-oksidad aktivitesini yükselttiğini ve reaktif oksijen türlerinin üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Lipopolisakkarit (LPS) uygulamasına bağlı olarak artmış MDA seviyelerinin, LPS ile birlikte CAPE uygulaması neticesinde düştüğü saptanmıştır (68). Glutamatın uyardığı ve hücreyi tehdit eden iskemik hasar sonucu oluşan serebellar nöron ölümüne karşı, CAPE'nin nöroprotektif olarak çalıştığı bildirilmiştir

(125). Doğan, tavşanların ovaryum dokularında torsiyon/detorsiyon uygulaması sonucunda meydana gelen bozulmaların CAPE uygulamasıyla azaldığını tespit etmiştir (31).

Yapılan literatür taramalarında CAPE'nin dişi üreme sistemi üzerine etkileri ile ilgili sınırlı miktarda bilgiye rastlanmıştır. Yapılan bir çalışmada ovaryum hasarı sonucu azalan antioksidan enzim düzeyinin CAPE uygulamasına bağlı olarak artmaya başladığı bildirilmiştir (64). CAPE'nin flor toksisitesine karşı etkin bir antioksidan olarak çalıştığına dair bildirilen veriler, bu özelliğini hücresele LPO düzeyini düşürerek ve antioksidan seviyelerini yükselterek sağladığını göstermektedir (48).

### 1.5. Senkronizasyon

*In vitro* embriyo üretimi, intrauterin tohumlama, gamet intrafallopian transfer, *in vitro* üretilen embriyo ya da oositlerin dondurulması, embriyo transferi, nükleer transfer, intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu gibi biyoteknolojik ve deneysel çalışmalar çok sayıda oosit ve embriyo kullanımını gerektirir. Bu amaçla senkronizasyon, birçok evcil ve laboratuvar hayvanlarında başarıyla uygulanmaktadır (103). Senkronizasyonun temel amacı belirlenen bir zamanda bir hayvandan elde edilen kullanılabilir oosit ya da embriyoların sayısını artırmak olarak belirtilmektedir (117). Farelerde folliküler gelişmeyi uyarmak ve ovulasyonu oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan çeşitli ilaçlar ve hormonlar Tablo 1.5' de verilmiştir (72, 117).

**Tablo 1.5.** Senkronizasyonda kullanılan başlıca ilaçlar ve hormonlar (72, 117).

Hipofiz kökenli gonadotropinler	<ul style="list-style-type: none"><li>• FSH (Follicle Stimulating Hormone)</li><li>• LH (Luteinizing Hormone) ve HMG (Human Menopausal Gonadotropin)</li></ul>
Plasental kökenli gonadotropinler	<ul style="list-style-type: none"><li>• PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin)</li><li>• hCG (Human Chorionic Gonadotropin),</li></ul>
Sentetik preparatlar	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hipofizer ekstraktlar</li><li>• GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone)</li><li>• Clomiphene citrate</li><li>• Difeniletilen</li></ul>

## **2. MATERYAL VE METOT**

### **2.1. MATERYAL**

#### **2.1.1. Hayvan Materyali**

Bu çalışmada, Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilen 3-4 aylık ve 200-250 gr ağırlığındaki 32 adet dişi Sprague–Dawley rat kullanıldı. Hayvanlar deney süresi boyunca normal oda ısısında (20-25 °C), 12/12 saat gece/gündüz periyodunda bulunduruldu ve *ad libitum* olarak beslendi. Çalışmayla ilgili olarak Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan çalışma izni alındı (Karar Sayı No: 2010-10).

#### **2.1.2. Çalışmada Kullanılan Aletler**

- Spektrofotometre (PowerWave XS, BioTek, Instruments, USA)
- Etüv (Labart, DHG-9140A, South Korea)
- Homojenizatör
- Vorteks (IKA, Works Inc, USA)
- Soğutmalı santrifüj (Helius, Germany )
- Hassas terazi (Precisa, 205A SCS, Switzerland)
- Çalkalayıcı (Heidolph promax 2020, Germany )
- pH metre (Orion, 420 A, USA)
- Derin dondurucu( Arçelik, 2560, Turkey)
- Buzdolabı ( Arçelik, Turkey)

- Ayarlanabilir otomatik pipetler (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl, Ependorf, Varipette, Germany)
- Işık mikroskobu (Olympus BX51, Japan)

### **2.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler**

- Buserelin (Receptal, INTERVET, İstanbul, Turkey)
- FSH (Puregon, ORGANON, İstanbul, Turkey)
- hCG (Pregnyl, ORGANON, İstanbul, Turkey)
- Ethanol (Merck)
- Rat kafesi
- Rat yemi
- Vakumlu ve EDTA'lı kan alma tüpleri ve iğneleri (MN -2138M )
- 1.5 ml'lik ependorf mikro santrifüj tüpleri
- Otomatik pipet uçları
- 10 ml'lik cam ve polyetilen santrifüj tüpleri
- CAPE (Bu çalışmada kullanılan CAPE Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sabri Ulukanlı'nın Organik Kimya laboratuvarında sentezlenmiştir)
- TAS (Total Antioksidan Status) Kiti (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Türkiye)
- TOS (Total Oksidan Status) Kiti (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Türkiye)
- Progesteron Kiti (Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit, Wuhan, Çin)

## 2.2. METOT

### 2.2.1. Senkronizasyon Protokolü

Ratlarda senkronizasyon sağlamak amacıyla 20 mg/kg kas içi GnRH agonisti olan buserelin (Receptal<sup>®</sup>, Intervet, İstanbul, Türkiye) uygulaması yapıldıktan 24 saat sonra intraperitoneal (i.p) 5 IU FSH (Puregon<sup>®</sup>, Organon, İstanbul, Türkiye) ve takiben, 48 saat sonra ise subkutan (s.c.) olarak 5 IU hCG (Pregnyl<sup>®</sup>, Organon, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı (13).

### 2.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada kullanılan 32 rat iki kontrol iki deney grubu olacak şekilde ayrıldı. Deneme ve kontrol grupları iki aşamalı uygulama yapılacak şekilde oluşturuldu:

- İlk aşamada, CAPE 1 (C1) (n=8) grubuna senkronizasyondan 10 gün önce başlanarak gebeliğin 11. gününe kadar 10 mg/kg/gün oral yolla CAPE uygulandı (76).
- İkinci aşamada, CAPE 2 (C2) (n=8) grubuna senkronizasyondan 10 gün önce başlanarak gebeliğin 21. gününe kadar 10 mg/kg/gün oral yolla CAPE uygulandı (76).
- KONTROL 1 (K1) (n=8) ve KONTROL 2 (K2) (n=8) gruplarına bu dönem boyunca uygun şartlarda tutuldu ve deneme grupları ile aynı dönemde erkek ratlarla kafese alındı (Tablo 2.1 ).

Senkronizasyon protokolünü takiben vajinal smear uygulanarak hayvanların östrus gösterip göstermedikleri tespit edildi. Vajinal smear yönteminde giemsa boyama yöntemi kullanıldı. Mikroskopik incelemede keratinize süperfisiyel hücreler %70-80 Asidofili %80-90, lökositler (-) ve çekirdekli süperfisiyel hücreler %25 oranında tespit edildi. Daha sonra erkek ve dişi ratlar iki dişi-bir erkek rat olacak şekilde bir araya getirilerek çiftleştirildi. Erkek ve dişi ratlar 24 saat süreyle aynı kafeste tutuldu

ve daha sonra ayrı kafeslere alındı. Erkek ratlardan ayrıldığı gün gebeliğin 1. günü olarak kabul edildi. Gebeliğin 11. gününde C1 ve K1 grupları, 21. gününde ise C2 ve K2 grupları kesilerek batındaki yavru sayıları kaydedildi, kan, ovaryum ve uterus örnekleri alındı. CAPE uygulamasının zararlı etkileri olup olmadığını belirlemek amacıyla da histopatolojik inceleme için karaciğer ve bağırsak numuneleri alındı. İntrakardiyal yolla EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri +4 °C 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek plazmalar ve metotlara uygun olarak hazırlanan homojenatlar polietilen tüplere konularak laboratuvar işlemlerine kadar -20 °C'de saklandı.

**Tablo 2.1.** Deney ve kontrol gruplarının isimlendirilmesi.

<b>GRUPLAR</b>	
<b>DENEME</b>	<b>KONTROL</b>
10 mg/kg/gün oral yolla CAPE uygulanan gruplar	
<b>CAPE 1</b> (n=8) (11. gün) Senkronizasyondan 10 gün önce başlanarak gebeliğin 11. gününe kadar CAPE uygulaması	<b>KONTROL 1</b> (n=8) (11. gün)
<b>CAPE 2</b> (n=8) (21. gün) Senkronizasyondan 10 gün önce başlanarak gebeliğin 21. gününe kadar CAPE uygulaması	<b>KONTROL 2</b> (n=8) (21. gün)

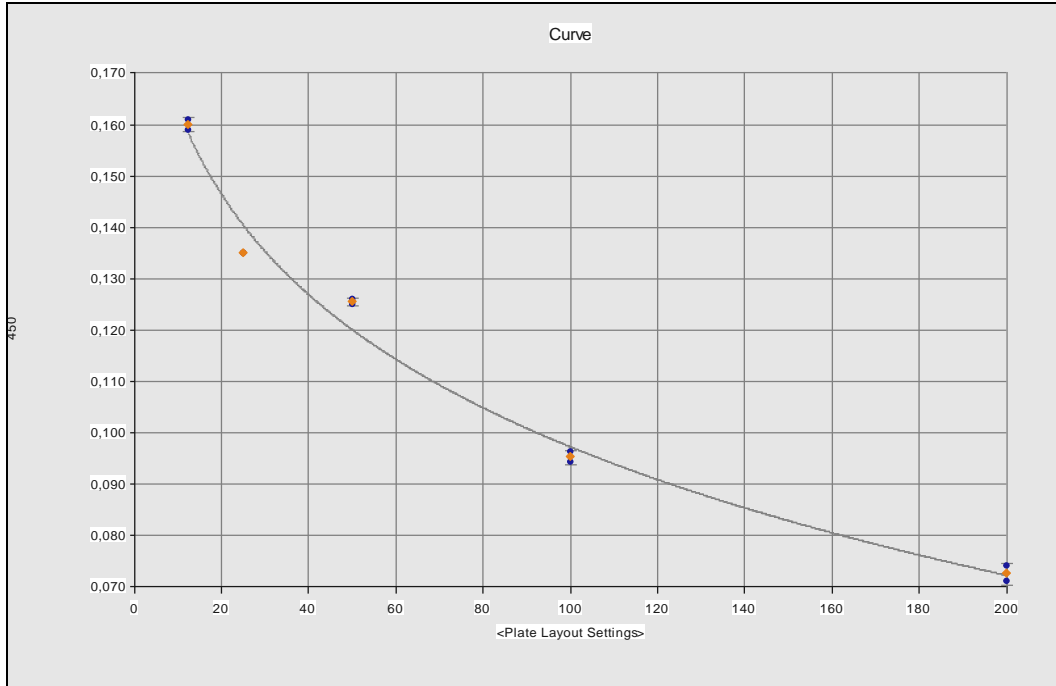
### 2.2.3. Plazma Progesteron Miktarının Belirlenmesi

Testler Uscn Life Science Inc. (Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit, Wuhan, Çin)'de belirtildiği gibi yapıldı.

#### **Metot**

- 1- Mikroplate de standartların, körün ve numunelerin konulacağı kuyucuklar belirlenir. Standart için 5 kuyucuk ve kör için de 1 kuyucuk seçilir. Kuyucuklara standart, kör ve numunelerden 50'şer µl ilave edilir ve plak hafifçe çalkalanır. Plate'in üzeri kapatılır ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilir.
- 2- Daha sonra kuyucuklara 350'şer µl yıkama solusyonu ilave edilerek plate 3 defa yıkanır.

- 3- Her kuyucuğa 100'er µl Reaktif B solusyonu ilave edilir, plağın üzeri kapatılır ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edilir.
- 4- Plak ikinci etapdaki gibi 5 defa yıkanır.
- 5- Her kuyucuğa 90 µl substrat solusyonu ilave edilir. Plağın üzeri kapatılarak 37 °C'de 15-25 dakika inkubasyona bırakılır, ancak sürenin 30 dakikayı geçmemesi gerekir. Plağın ışıktan korunması gerekir. Substrat solusyonu eklenince kuyucuklardaki sıvı kısmın rengi maviye dönüşür.
- 6- Her kuyucuğa 50 µl stop solusyon ilave edilir. Stop solusyon ilave edilince kuyucuklardaki sıvı kısım sarı renk alır. Plate'in kenarlarından tutularak hafifçe çalkalanır.
- 7- Plağın altında su damlacığı ve parmak izi kalmayacak şekilde temizlenir ve spektrofotometrede 450 nm'de ölçüm yapılır.



Şekil 2.1. Progesteron standart eğrisi (ng/ml).



## 2.2.4. Biyokimyasal Analizler

### Plazma ve Doku Antioksidan ve Oksidan düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve dokulardaki antioksidan ve oksidan miktarı Total Antioksidant Status (TAS) Assay Kit ve Total Oksidant Status (TOS) Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (36).

### Total Antioksidan Düzeylerinin (TAS) Belirlenmesi

#### Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif 1: Test tamponu

Reaktif 2: Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] radikal solüsyonu

Standart 1 (Stn 1): 0.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu

Standart 2 (Stn 2): 1.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu

#### Metot

	Absorbans 1 (660 nm)	Absorbans 2 (660 nm)
Stn1	500 µl reaktif 1 + 30 µl standart 1 Standart 1'in ilk absorbansı	Stn 1 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon
Stn 2	500 µl reaktif 1 + 30 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbansı	Stn 2 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon
Örn 1	500 µl reaktif 1 + 30 µl örnek Örneğin ilk absorbansı	Ör 1 + 75 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon

## Sonuçların hesaplanması

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})]}{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]} \times 20$$

$\Delta$  Standart 1'in absorbanansı = (Std 1'in ikinci absorbanansı - Std 1'in ilk absorbanansı)

$\Delta$  Standart 2'nin absorbanansı = (Std 2'in ikinci absorbanansı - Std 2'in ilk absorbanansı)

$\Delta$  Örneğin absorbanansı = (Örneğin ikinci absorbanansı - Örneğin ilk absorbanansı)

## Total Oksidan Düzeylerinin (TOS) Belirlenmesi

### Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif 1: Test tamponu

Reaktif 2: Prokromojen solüsyonu

Standart 1 (Stn 1): Kör solüsyonu (deiyonize su)

Standart 2 (Stn 2): Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Equiv./L)

### Metot

	Absorbans 1 (530 nm)	Absorbans 2 (530 nm)
Stn 2	500 µl reaktif 1 + 75 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbanansı	Stn 2 + 25 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon
Örn 1	500 µl reaktif 1 + 75 µl örnek Örneğin ilk absorbanansı	Ör 1 + 25 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon

## Sonuçların hesaplanması

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta\text{Abs Örne})}{(\Delta\text{Abs Std2})} \times 20 \text{ (Std 2 değeri)}$$

$\Delta\text{Abs Örne}$  = Örneğin ikinci absorbansı – örneğin ilk absorbansı

$\Delta\text{Abs Std2}$  = Standart 2'nin ikinci absorbansı – standart 2'nin ilk absorbansı

Std 2 değeri = 20  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Equiv./L}$

### 2.2.5. Histopatolojik İncelemeler

Deney süresi sonunda hayvanlardan alınan karaciğer ve bağırsak doku örnekleri % 10'luk formaldehit solüsyonuna alınarak 48 saat süreyle tespit işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlanarak 5  $\mu$  kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler hematoksilin ve eozin boyama metoduna göre boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51, JAPAN) incelendi.

### 2.2.6. İstatistik Analiz

İstatistik hesaplamalarda t-testi kullanılarak deneme gruplarının kontrol gruplarına göre değişimleri kıyaslandı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) olarak belirlendi ve  $p < 0.05$  istatistiksel farklılığı gösterdi.

Tüm hesaplamalar SPSS (16.0-2010) paket programı kullanılarak yapıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Plazma Total Antioksidan Düzeyleri

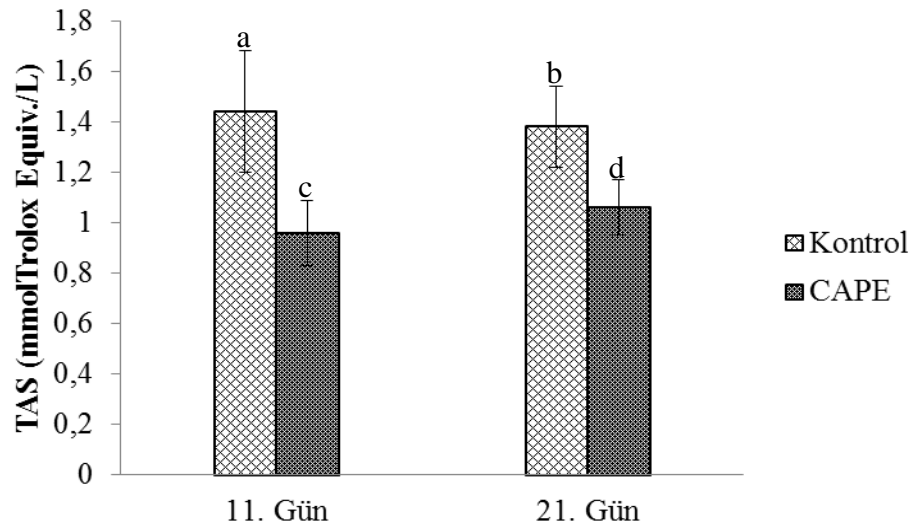
Grupların plazma Total Antioksidan Düzeylerinde belirlenen değişimler Tablo 3.1 ve Grafik 3.1’de gösterilmiştir.

Plazma Total Antioksidan Düzeyleri gruplara göre kıyaslama yapıldığında, kontrol grubunun TAS düzeylerinin CAPE uygulanan gruba göre 11. ve 21. günlerde istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.001$ ). Gruplar kendi içinde günlere göre kıyaslama yapıldığında, 11. güne göre 21. günde meydana gelen değişikliğin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

**Tablo 3.1.** Plazma Total Antioksidan Düzeyleri (mmolTrolox Equiv./L)

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm SD$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm SD$
11. Gün	$1.44 \pm 0.24^a$	$0.96 \pm 0.13^c$
21. Gün	$1.38 \pm 0.16^b$	$1.06 \pm 0.11^d$

<sup>a-c</sup>, <sup>b-d</sup>:  $p < 0.001$ , <sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p > 0.05$



**Grafik 3.1.** Plazma Total Antioksidan Düzeyleri

<sup>a-c</sup>, <sup>b-d</sup>:  $p < 0.001$ , <sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p > 0.05$

### 3.2. Plazma Total Oksidan Düzeyleri

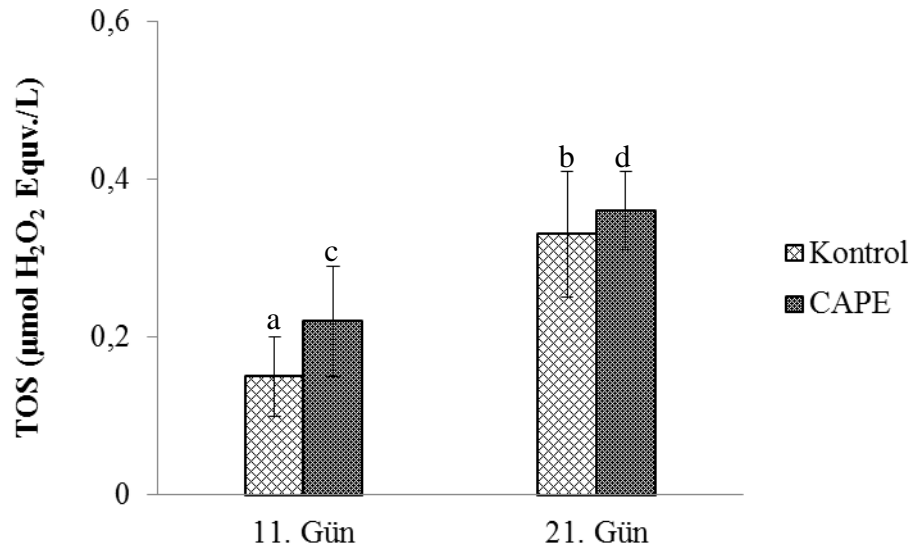
Grupların plazma Total Oksidan Düzeylerinde belirlenen değişimler Tablo 3.2 ve Grafik 3.2’de verilmiştir.

Plazma Total Oksidan Düzeyleri gruplara göre kıyaslandığında, CAPE uygulanan grubun TOS düzeylerinin kontrol grubuna göre 11. günde istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olduğu ( $p<0.05$ ), 21. günde tespit edilen değişikliğin istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Plazma Total Oksidan Düzeyleri grupların kendi içinde günlere göre kıyaslandığında, iki grubun da 21. günde 11. güne göre TOS düzeylerinin istatistiksel olarak oldukça yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

**Tablo 3.2.** Plazma Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equv./L)

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm \text{SD}$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm \text{SD}$
11. Gün	$0.15 \pm 0.05^a$	$0.22 \pm 0.07^c$
21. Gün	$0.33 \pm 0.08^b$	$0.36 \pm 0.05^d$

<sup>b-d</sup>:  $p>0.05$ , <sup>a-c</sup>:  $p<0.05$ , <sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.001$



**Grafik 3.2.** Plazma Total Oksidan Düzeyleri

<sup>b-d</sup>:  $p>0.05$ , <sup>a-c</sup>:  $p<0.05$ , <sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.001$

### 3.3. Plazma Progesteron Düzeyleri

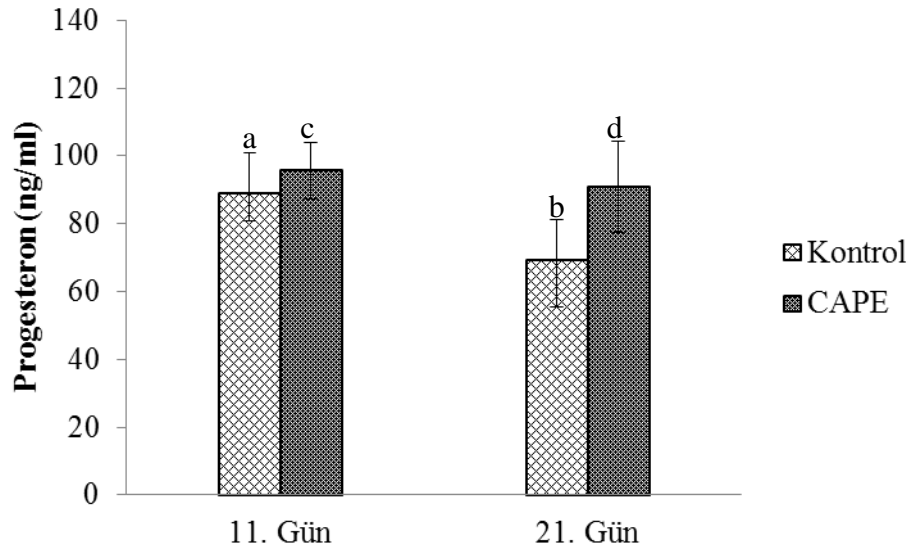
Kontrol ve CAPE uygulanan gruplardaki progesteron düzeylerine ait belirlenen değişimler Tablo 3.3 ve Grafik 3.3’de verilmiştir.

Plazma progesteron düzeyleri gruplara göre kıyaslandığında, CAPE uygulanan grubun kontrol grubuna göre progesteron düzeylerinin 21. günde istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Gruplar kendi içinde günlere göre kıyaslandığında kontrol grubunun plazma progesteron düzeyinin 21. günde 11. güne göre istatistiksel olarak önemli bir düşüş gösterdiği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). CAPE grubunda ise 11. gün ile 21. gün arasında progesteron düzeyi açısından istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir.

**Tablo 3.3.** Plazma Progesteron Düzeyleri (ng/ml)

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm SD$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm SD$
11. Gün	88.95 $\pm$ 11.90 <sup>a</sup>	95.58 $\pm$ 8.20 <sup>c</sup>
21. Gün	69.01 $\pm$ 12.10 <sup>b</sup>	90.88 $\pm$ 13.60 <sup>d</sup>

<sup>a-b</sup>, <sup>b-d</sup>:  $p<0.05$ , <sup>a-c</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p>0.05$



**Grafik 3.3.** Plazma Progesteron Düzeyleri

<sup>a-b</sup>, <sup>b-d</sup>:  $p<0.05$ , <sup>a-c</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p>0.05$

### 3.4. Yavru Sayıları

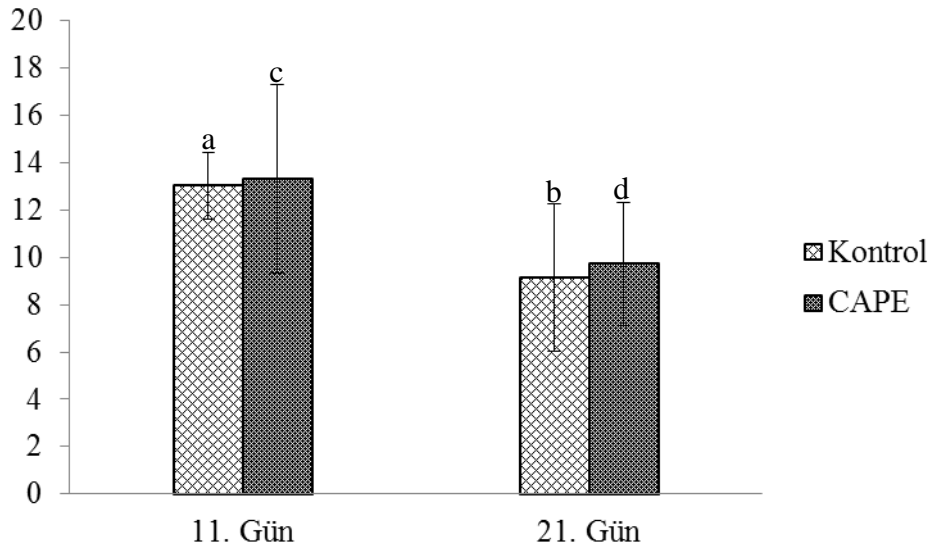
Bu çalışmada kontrol ve CAPE uygulanan gruplardaki hayvanların batın yavru sayılarında tespit edilen farklılıklar Tablo 3.4 ve Grafik 3.4’de gösterilmiştir.

Deney süresi boyunca CAPE uygulanan gruplar ve kontrol gruplarındaki hayvanların batındaki yavru sayıları arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlemlenmemiştir. Günlere göre kıyaslama yapıldığında kontrol ve CAPE gruplarında 11. güne göre 21. gündeki yavru sayılarındaki düşüş istatistiksel olarak oldukça önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ )

**Tablo 3.4.** 11. ve 21. Günde Batındaki Yavru Sayıları

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm SD$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm SD$
11. Gün	$13 \pm 1.41^a$	$13.29 \pm 1.80^c$
21. Gün	$9.14 \pm 2.79^b$	$9.71 \pm 1.87^d$

<sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.01$ , <sup>a-c</sup>, <sup>b-d</sup>:  $p>0.05$



**Grafik 3.4.** 11. ve 21. Günde Batındaki Yavru Sayıları

<sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.01$ , <sup>a-c</sup>, <sup>b-d</sup>:  $p>0.05$

### 3.5. Ovaryum Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri

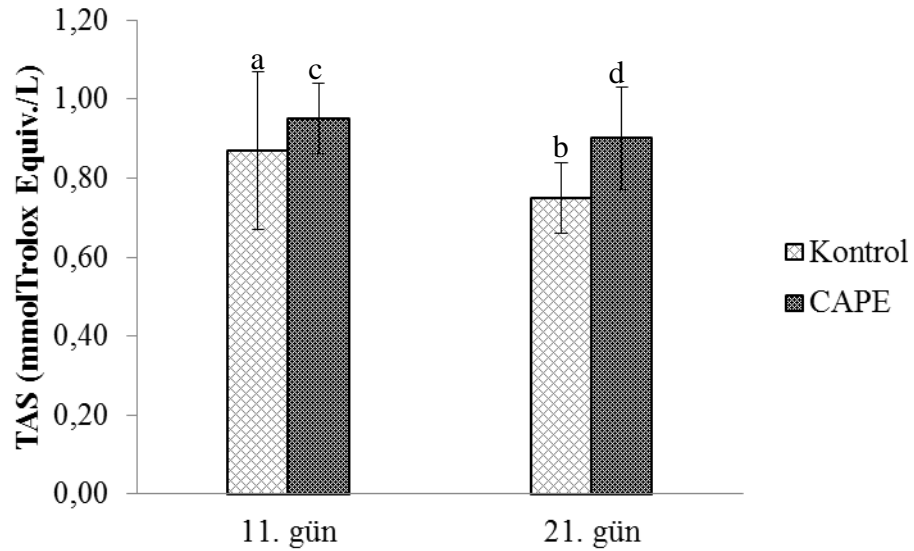
Ovaryum dokusu TAS düzeylerinde belirlenen değişimler Tablo 3.5 ve Grafik 3.5’de gösterildiği gibidir.

Ovaryum Dokusu Total Antioksidan düzeyleri gruplara göre değerlendirildiğinde CAPE grubunun TAS düzeyinin 11. günde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. CAPE grubunun TAS düzeyinin kontrol grubuna göre 21. günde istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Ovaryum dokusu Total Antioksidan düzeyleri günlere göre karşılaştırıldığında kontrol ve CAPE gruplarının 21. günde TAS düzeylerinde 11. günde meydana gelen değişikliğin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

**Tablo 3.5.** Ovaryum Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri (mmolTrolox Equiv./L)

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm SD$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm SD$
11. Gün	$0.87 \pm 0.20^a$	$0.95 \pm 0.09^c$
21. Gün	$0.75 \pm 0.09^b$	$0.90 \pm 0.13^d$

<sup>b-d</sup>:  $p < 0.05$ , <sup>a-c</sup>, <sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p > 0.05$



**Grafik 3.5.** Ovaryum Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri

<sup>b-d</sup>:  $p < 0.05$ , <sup>a-c</sup>, <sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p > 0.05$



### 3.6. Ovaryum Dokusu Total Oksidan Düzeyleri

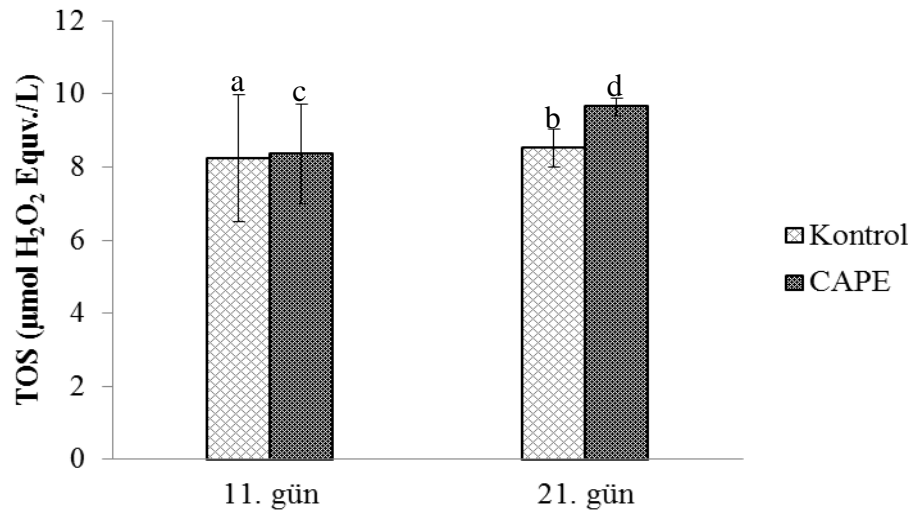
Kontrol ve CAPE uygulanan gruplardaki ovaryum dokusundaki TOS düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Tablo 3.6 ve Grafik 3.6'de gösterilmiştir.

Ovaryum dokusu Total Oksidan düzeylerinde gruplara göre kıyaslandığında, 11. günde kontrol ve CAPE grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi. CAPE grubunda kontrol grubuna göre 21. gündeki TOS düzeylerinin istatistiksel olarak oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.001$ ). Ovaryum dokusu Total Oksidan düzeyleri grupların kendi içinde günlere göre karşılaştırıldığında kontrol grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmemiştir. CAPE grubunda ise 21. günde 11. güne göre istatistiksel olarak önemli bir yükselme belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 3.6.** Ovaryum Dokusu Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equv./L)

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm \text{SD}$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm \text{SD}$
11. Gün	$8.24 \pm 1.73^a$	$8.35 \pm 1.37^c$
21. Gün	$8.52 \pm 0.51^b$	$9.65 \pm 0.24^d$

<sup>a-b</sup>, <sup>a-c</sup>:  $p > 0.05$ , <sup>b-d</sup>:  $p < 0.001$ , <sup>c-d</sup>:  $p < 0.05$



**Grafik 3.6.** Ovaryum Dokusu Total Oksidan Düzeyleri

<sup>a-b</sup>, <sup>a-c</sup>:  $p > 0.05$ , <sup>b-d</sup>:  $p < 0.001$ , <sup>c-d</sup>:  $p < 0.05$

### 3.7. Uterus Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri

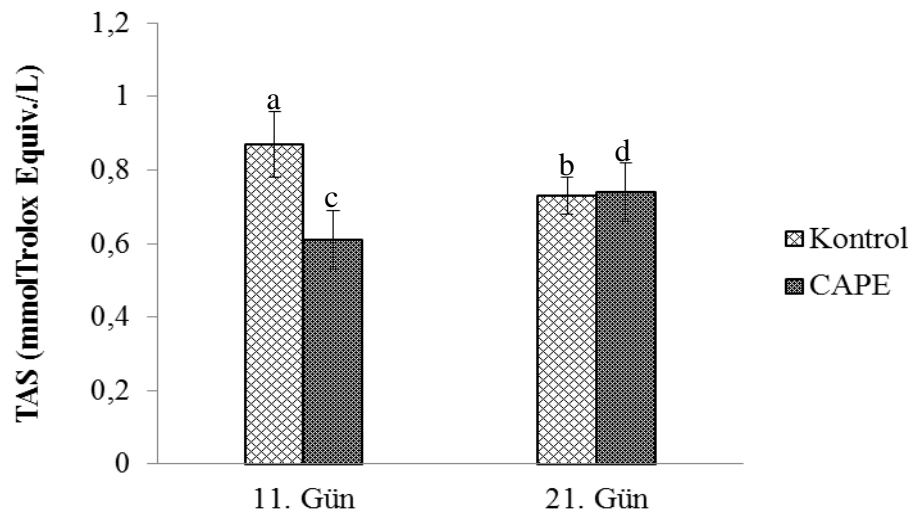
Uterus dokusu TAS düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Tablo 3.7 ve Grafik 3.7'de gösterilmiştir.

Uterus dokusunda TAS seviyesinde meydana gelen değişiklikler gruplara göre karşılaştırıldığında 11. günde CAPE grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düşüş tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Kontrol grubu ile CAPE grubu arasındaki TAS düzeylerinde 21. günde belirlenen farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Uterus dokusu Total Antioksidan Düzeyleri günlere göre kıyaslandığında kontrol grubu TAS düzeyleri 21. günde 11. güne göre istatistiksel olarak önemli oranda düşüş göstermiştir ( $p<0.01$ ). CAPE grubunda ise 21. günde 11. güne göre TAS düzeyinde istatistiksel olarak oldukça önemli artış tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ).

**Tablo 3.7.** Uterus Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri (mmolTrolox Equiv./L)

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm SD$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm SD$
11. Gün	$0.87 \pm 0.09^a$	$0.61 \pm 0.08^c$
21. Gün	$0.73 \pm 0.05^b$	$0.74 \pm 0.08^d$

<sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.01$ , <sup>a-c</sup>:  $p<0.001$ , <sup>b-d</sup>:  $p>0.05$



**Grafik 3.7.** Uterus Dokusu Total Antioksidan Düzeyleri

<sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.01$ , <sup>a-c</sup>:  $p<0.001$ , <sup>b-d</sup>:  $p>0.05$

### 3.8. Uterus Dokusu Total Oksidan Düzeyleri

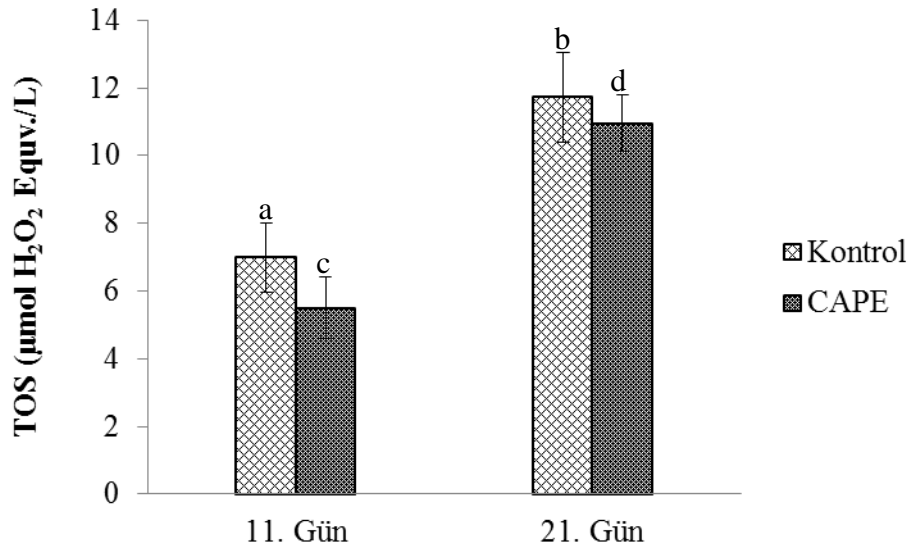
Uterus dokusu Total Oksidan düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Tablo 3.8 ve Grafik 3.8’de verilmiştir.

Uterus dokusu Total Oksidan düzeylerinin gruplara göre kıyaslanması yapıldığında 11. günde kontrol grubunun TOS düzeylerinin CAPE grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ( $p<0.01$ ), 21. günde ise gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Grupların TOS düzeyleri kendi içlerinde günlere göre kıyaslandığında her iki grupta da 21. günde 11. güne göre istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edildi ( $p<0.001$ ).

**Tablo 3.8.** Uterus Dokusu Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equv./L}$ )

	GRUPLAR	
	Kontrol (n=16) $\bar{X} \pm \text{SD}$	CAPE (n=16) $\bar{X} \pm \text{SD}$
11. Gün	$6.99 \pm 1.01^a$	$5.49 \pm 0.91^c$
21. Gün	$11.73 \pm 1.33^b$	$10.95 \pm 0.83^d$

<sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.001$ , <sup>a-c</sup>:  $p<0.01$ , <sup>b-d</sup>:  $p>0.05$

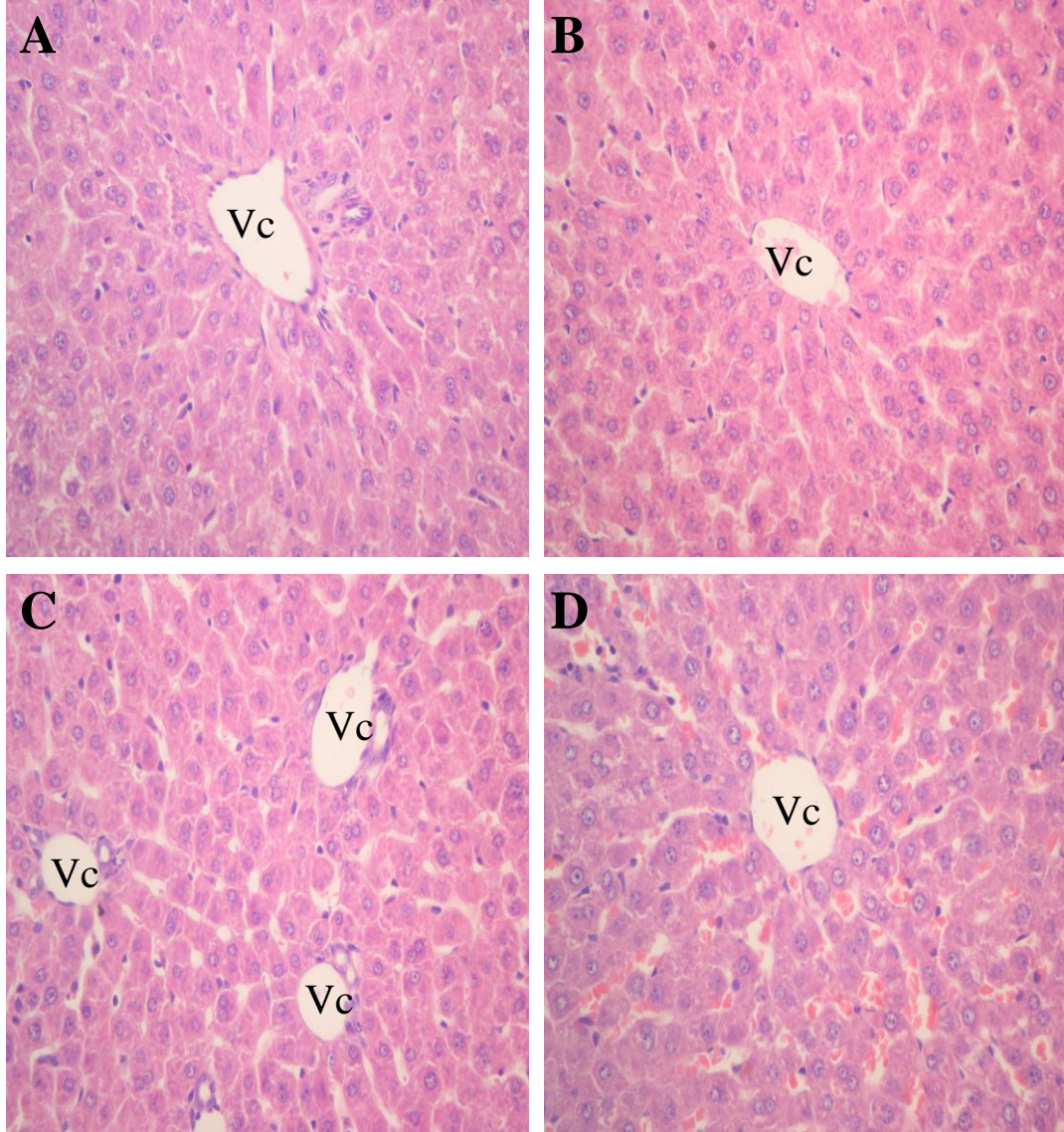


**Grafik 3.8.** Uterus Dokusu Total Oksidan Düzeyleri

<sup>a-b</sup>, <sup>c-d</sup>:  $p<0.001$ , <sup>a-c</sup>:  $p<0.01$ , <sup>b-d</sup>:  $p>0.05$

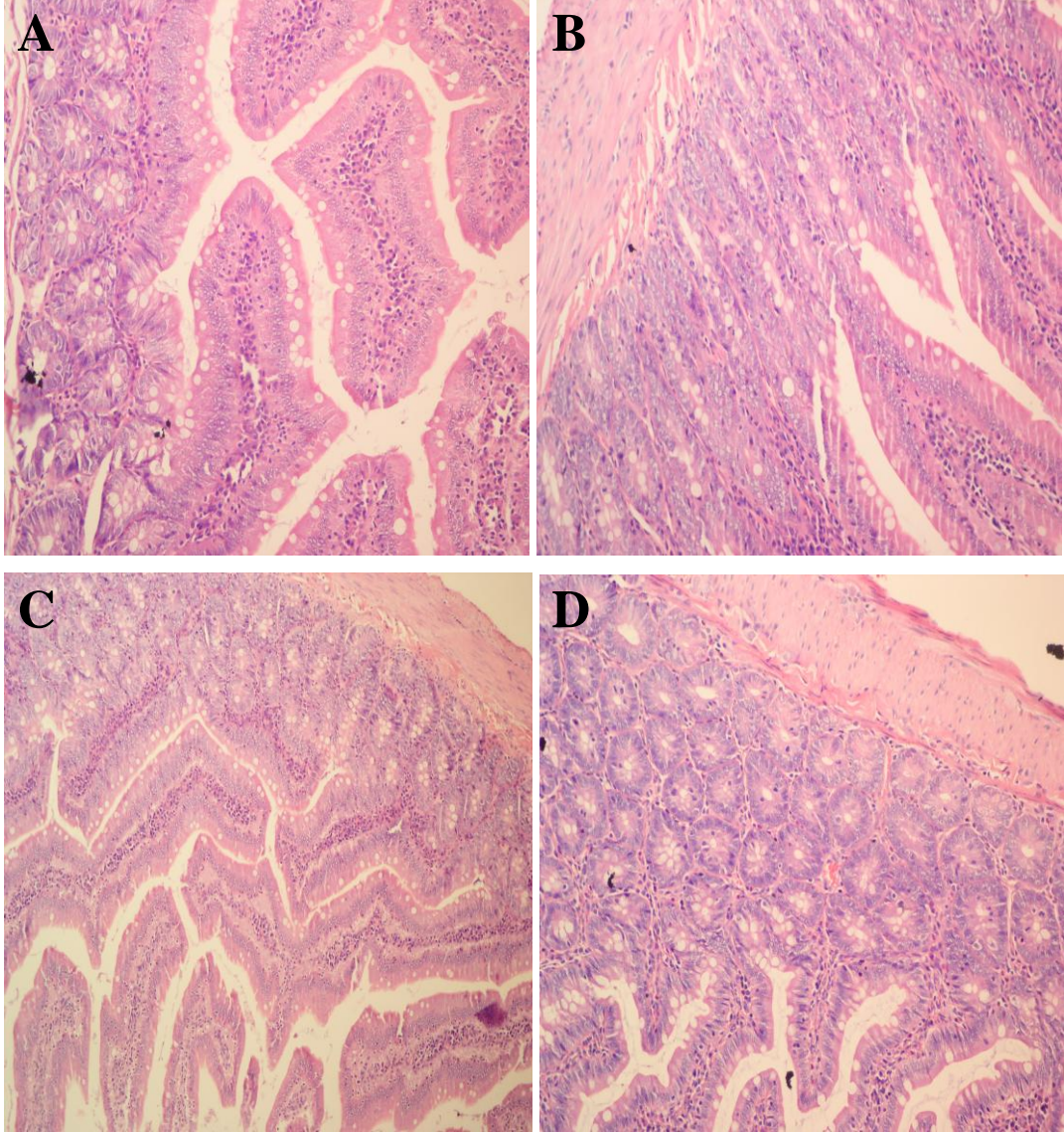
### 3.9. Histopatolojik Bulgular

**Karaciğer dokusu:** Karaciğer dokusundan elde edilen histolojik kesitlerde kontrol grubu ve CAPE uygulanan gruplarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Kontrol ve CAPE gruplarında hepatositlerin ve sinozoidal yapının normal görünümde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** Karaciğer dokusu histolojik kesiti. A) Kontrol Grubu (11. gün) B) CAPE Uygulanan Grup (11. gün) C) Kontrol Grubu (21. gün) D) CAPE Uygulanan Grup (21. gün). H-E, 40X. (Vc: Vena centralis).

**Bağırsak dokusu:** Bağırsak dokusundan elde edilen histolojik kesitlerde de karaciğer dokusunda olduğu gibi herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Villus epitelleri ve bağ dokuda normal histolojik görünüm izlenmiştir (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Bağırsak dokusu histolojik kesiti. A) Kontrol Grubu (11. gün) (H-E, 40X). B) CAPE Uygulanan Grup (11. gün) (H-E, 20X). C) Kontrol Grubu (21. gün) (H-E, 20X). D) CAPE Uygulanan Grup (21. gün) (H-E,40X).

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gebelik döneminde oksidatif strese bağlı yavru ölümlerini önlemek ve gebeliği sürdürmek, oksidan sistemin baskılanıp antioksidan sistemin kuvvetlendirilmesine bağlıdır (100). Antioksidanların üreme döneminde uygulanmasının üreme bozukluğu, büyüme geriliği ve hepatik metabolizma değişikliklerine karşı etkili olduğu pekçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Steroid hormonlar ve üremeyle ilişkili diğer hormonlar hücrel redoks döngüsünden etkilenirler. Lipid peroksidasyon azalmasının ve antioksidatif enzim aktivitelerindeki artışın hormon aktivitelerini yükselttiği bilinmektedir (60). Antioksidan düzeylerinde meydana gelen azalmanın uterus implantasyon bozukluğuna ve embriyo atımına neden olduğu bildirilmiştir. (122) Diğer taraftan artmış oksidan düzeylerine bağlı olarak da antioksidan seviyelerinin artışına ait veriler bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada (9) östrus evresindeki ratlara H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasına bağlı olarak uterus glutatyon peroksidaz ve MnSOD aktivitelerinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca gebeliğin çeşitli dönemlerine ait bazı veriler gebeliğin ilk trimesterinde artmış antioksidan düzeylerinin ikinci ve üçüncü trimesterler için değişmediği ve bazende azaldığını göstermektedir. Al-Gubory ve ark. (7) gebeliğin 15. ve 40. gününe kadar koyunların corpus luteumundaki ZnSOD, GSH-Px ve GST enzim aktivitelerinde önemli artış meydana geldiği, 40. günden 128. güne kadar da sabit kaldığını bildirmektedir.

Gebelik öncesi dönemde ve gebelik esnasında makrofajlar ve nötrofiller önemli ROS kaynaklarıdır (114). Özellikle preimplantasyon ve gebeliğin ilk dönemlerinde endometriyal dokuda lökosit sayısında önemli artış meydana gelmektedir (63). Normal olarak lökosit sayısının artması ROS üretiminin de artışına sebep olmaktadır, ancak gebelik esnasında ROS artışına paralel olarak antioksidan savunma enzimleri de artış göstermektedir. Kaya ve ark., (66) gebelik sırasında ve doğumdan sonra hem lipid peroksidasyonunda hemde antioksidan seviyelerinde gebe olmayanlara oranla artış meydana geldiğini ayrıca, doğumdan sonra lipid peroksidasyon aktivitesinin, gebelik dönemine oranla daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Diğer taraftan Behne ve Wolters'da (14) gebelerde plazma GSH-Px aktivitesinin gebe olmayanlara göre daha

düşük olduğunu bildirmektedir. Yine başka araştırmalarda da (24, 46) gebelik esnasında antioksidan enzim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Loverro ve ark. (74) gebelik esnasında lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığını, antioksidan enzim aktivitesinin değişmediğini belirtmektedir. Sugino (113) yaptığı çalışmada lipid peroksit düzeyinin gebeliğin ilk yarısında fazla değişmediğini, gebeliğin ikinci yarısında artmaya başladığını ve gebeliğin sonlarında pik düzeye ulaştığını, antioksidan düzeyinin ise gebeliğin ilk yarısında yükseldiğini ikinci yarısında önemli oranda düştüğünü bildirmiştir. Flavonoidlerin endometrial hücre kültüründe iyi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tutucusu olarak çalışmaları dolayısıyla oksidanların oluşturduğu hasarı azaltıcı etkinliklerinin gebelik sürecini güçlendirebileceği bildirilmektedir (34). Ayrıca deneysel diabetik gebelik oluşturulmuş ratlarda flavonoidlerin, fetal malformasyonu önleyici ve oksidatif stresi azaltıcı etkisi de bildirilmektedir (90). Estany ve ark. (34) gebelik döneminde flavonoidlerin antioksidan etkinliklerini araştırdıkları çalışmada özellikle endometriyumda flavonoidlerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tutucusu olarak çalıştığını bildirmiştir. Ouali ve ark. (90) bir flavonoid olan hesperidinin’de gebelik döneminde antioksidan etkinliği sayesinde embriyoyu oksidatif stresten koruduğunu tespit etmiştir. Diğer taraftan Florek ve ark. (41) gebelik döneminde ratlarda flavonoidlerin antioksidan düzeyini yükseltici etkisinin olmadığını belirtmektedir. Araştırmacılar (66, 113) gebeliğin sonlandırılmasının uterus ve plazmada artmış ROS ürünlerinin ve kaynaklarının önemli aktiviteye sahip olduğunu bildirmektedir. Sunulan bu çalışmada da gebeliğin ortasında ve sonunda düşmüş TAS düzeylerinin CAPE uygulamasının progesteron sentezini destekleyici etkisiyle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan gebeliğin 21. gününde tespit edilen TOS düzeyindeki artış, oksidanların doğumu kolaylaştırıcı etkileri nedeniyle oluşmuş prenatal yükselişe bağlanabilir.

Tüm omurgalılarda gebeliğin başlangıcında corpus luteumdan ve gebelik esnasında da plasentadan salgılanan progesteron gebelik süresince de artan miktarlarda salınmaya devam eder (49). Reaktif oksijen türlerinin ve lökosit fonksiyonunun corpus luteumdaki steroid hormon sentezinin başlıca düzenleyicileri olduğu bildirilmektedir (25). Steroid hormon biyosentezinde ROS’nin artışının hormon salınımını azalttığı, düşüşünün ise hormon salınımını yükselttiği bildirilmektedir

(113). Gebeliğin oluşmadığı durumlarda progesteron sentezinin inhibisyonu için lökosit artışına gereksinim duyulduğu ve bunun için gerekli ROS'nin kaynağının da T lenfositler olduğu düşünülmektedir. Suzuki ve ark. (114) yaptıkları çalışmada ovulasyondan sonra, corpus luteumda artmış T lenfosit miktarının progesteron sentezinde gerileme ile birlikte regresyonu sağladığını bildirmişlerdir. Östrus siklusunun sonunda oluşan gebelik ve plasenta şekillenmesi ile birlikte östrojen ve progesteron gibi steroid hormonların seviyesinde meydana gelen artışın antioksidan düzeylerinde de gebeliğin ilk döneminde yükselmeye neden olduğu bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada (98) östrus siklusu ile ilgili cinsiyet hormonlarında meydana gelen değişikliklerin özellikle GSH-Px aktivitesindeki artıştan etkilendiği bildirilmiştir. Bu çalışmamızda, plazma progesteron düzeylerinin CAPE uygulanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Bu yükseliş, CAPE'nin serbest radikal tutucu antioksidan etkinliği ile, progesteron oluşum aşamalarında luteal hücreleri ve plasentayı koruyarak progesteron düzeyini yükseltip, yavru sayısında bir değişiklik oluşturmamakla birlikte yavru canlılığını sürdürmeye destek olucu etkinliği nedeniyle olabilir.

Çeşitli antioksidan uygulamalarının ovaryum ve uterus dokusunda antioksidan sistemi kuvvetlendirici etkinlikleri dolayısıyla doğan yavru sayısını ve yavruların canlı ağırlığını artırarak ve embriyonik ölümler ile ölü doğan yavru sayısını azaltmak şeklinde bir etkinlik gösterdikleri bildirilmektedir (11, 35, 50). Araştırmacılar (84, 92) flavonoid türevlerinin gebelik esnasında yavru gelişimi üzerine maternal sitokin düzeyini düşürerek immun aktivasyonu baskılamaları dolayısıyla, yavru gelişimi üzerine olumlu etkiler gösterdiklerini bildirmektedir. Gebelik esnasında flavonoidlerin kullanımının yavru gelişimi ve doğumdan sonraki büyümesi üzerine de olumlu etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (62). Zabielski ve ark. (129) gebelik döneminde annenin diyetine katılan flavonoid ve çeşitli antioksidanları içeren biyoaktif besin maddelerinin yavruların anne karnındaki gelişimi ve doğumdan sonraki canlı kalma oranları üzerine olumlu etkiler gösterdiğini bildirmektedir. Benzer şekilde, Iyare ve Adegoke (57) etki mekanizması flavonoidlere benzeyen *Hibiscus sabdariffa*'nın gebelik esnasında tüketilmesinin gebeliği desteklediğini ve rat yavrularının puberteye ulaşma zamanını azalttığını bildirmektedir. Diğer taraftan



Maia ve ark. (77) polifenol içeren bitkisel beslenmenin gebelik esnasında yavru sayısı, canlı ağırlığı ve canlılığı üzerine etkisinin olmadığını ve implantasyonun gecikmesine sebep olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da kontrol CAPE gruplarında hem 11. gün hem de 21. günlerde yavru sayıları açısından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir.

Sitokinler, büyüme faktörleri ve eikosanoidler gibi pek çok lokal faktörün ovaryum fonksiyonlarının düzenlenmesine katıldığına dair çalışmalar vardır (15, 16). ROS oluşması ve ovaryumdaki SOD sayesinde ROS'un ve SOD'un ovaryum fonksiyonlarında lokal düzenleyiciler olarak çalışması ihtimali üzerinde durulmaktadır (15). Sugino yaptığı çalışmada (113) ROS ve antioksidan sistemin üreme fizyolojisi, ovulasyon ve corpus luteum fonksiyonu üzerine etkileri olduğunu bildirmektedir. Süperoksit radikallerinin rat luteal hücrelerinde progesteron üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (111). Ovaryumda antioksidan düzeylerinin düşmesi ve lipid peroksidasyon düzeylerinin yükselmesi progesteron düzeylerinde düşmeye ve hem gebeliğin hem de folliküler siklusun durdurulmasına yardımcı olur. SOD ve lipid peroksidasyon seviyelerinin corpus luteum fonksiyonlarıyla direkt ilişkili olduğunu gösteren Sugino ve ark. (112) hCG tarafından uyarılan luteal Cu-Zn-SOD ekspresyonunun gebeliğin oluşmasında ve luteal hücrelerin bütünlüğünün korunmasında önemli olduğunu bildirmiştir. Ovaryumda hem folliküler gerileme hem de corpus luteumun gerilemesi üzerine ROS'un kaynağı olarak makrofajlar ve nötrofiller gösterilmektedir. Bunun dışında steroidojenik hücrelerin de potansiyel ROS kaynağı oldukları ve bu yolla oluşan reaktif oksijenin normal hücresel metabolizmanın sonucu olarak meydana geldiği düşünülmektedir. Iranloye ve Owokunle (56) *Garcinia kola* tohum ekstraktlarından elde edilen flavonoidlerin de ovaryum dokusunda antioksidan düzeylerini yükselterek gebelikte implantasyon ve gebeliğin devamını sağlayan uterus salgılarının kuvvetlendiricisi olarak etkinlik gösterdiğini bildirmiştir. Diğer taraftan başka bir çalışmada (5) bir flavonoid türü olan artemisinin içeren *Artemisia annua* ekstaktının kullanımının gebelik esnasında hem ovaryum hem de uterus salgılarını olumsuz etkileyebileceği ve yavru hayatını tehdit edebileceği bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da, gebeliğin sonunda ovaryum dokusu Total Oksidan-Antioksidan Düzeylerinde CAPE grubunda kontrol

grubuna göre tespit edilen istatistiksel önemliliğin, doğumun başlamasıyla birlikte meydana gelen hormonal değişimler sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Uterus dokusu ve kornu uterideki endometrial sıvının embriyonun beslenmesini sağlayıcı ve böylece canlılığını sürdürücü etkinliği bilinmektedir (49). İntrauterin sıvı yetmezliğinin fetal büyüme ve metabolizmada azalmaya sebep olabileceği ve ileriki yaşlarda bazı hastalıklar için risk oluşturabileceği söylenmektedir (115). Oksidatif stres oosit ve embriyoda hasara neden olabilmekte ve antioksidanlar bu zararlı etkilere karşı önemli rol oynamaktadır (3). Dışardan verilen antioksidanların yavrunun beslenme ortamı ve canlılığı üzerine artırıcı bir etkinliğe sahip olduğu pekçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (82, 110). Hughes ve ark. (54) gebelik esnasında annenin diyetine katılan polifenol içerikli besinlerin ve bitkisel östrojenlerin (flavonoid) gebelik süresini, intrauterin beslenme ortamını desteklediğini ve doğumda yavru ağırlığını artırdığını bildirmektedir. Benzer şekilde araştırmacılar (30, 45, 82, 112) glutaredoksin, melatonin gibi antioksidanların ve bazı steroid hormonların uterus sıvısını artırıcı ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkilerini bildirmektedir. Al-Gubory ve ark. (8) endometriumdaki antioksidan enzimlerin aktivitelerinin düzenlenmesinde ovaryan steroid hormonların rolünün belirlenmesini amaçladıkları çalışmada progesteron uygulamasına bağlı olarak Mn-SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinde değişiklik olmadığı, östrojen uygulamasının endometrial dokuda Cu-SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Sekiba ve Yoshioka (104) plasental dokuda gebeliğin erken safhalarında lipid peroksidasyonunun artış gösterdiğini gebeliğin ilerleyen safhalarında ise düştüğünü, SOD aktivitesinin ise tam tersi bir durum gösterdiğini bunun sebebinin de gebeliğin erken dönemlerinde plasentadaki oksijen gereksiniminin gebeliğin ilerleyen dönemlerine oranla daha düşük olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar (99) amnion sıvısında artmış sitokin düzeyinin yavrunun doğumunu sağlayıcı nitelikte olduğunu bildirmektedir. Dışarıdan verilen antioksidan nitelikli substratların steroid hormonların düzeyini yükselterek endometrial beslenme ortamını kuvvetlendirici ve dolayısıyla embriyo için uygun bir yaşam alanı oluşturucu etkinliğe sahip olduğu bildirilmektedir (8). Bizim çalışmamızda, CAPE uygulamasının uterus dokusunda Total Antioksidan Düzeylerini arttırıcı bir etkinlik

göstermediği, ancak Total Oksidan Düzeylerini kontrol grubuna göre azalttığı tespit edildi. Bu durumun, CAPE uygulamasının etki alanı olarak plasentayı kullanarak progesteron salınımını artırıcı nitelik göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

CAPE ile ilgili olarak birçok doku ve organda araştırma yapılmış, CAPE'nin herhangi olumsuz bir etkisi bildirilmemiştir. Lee ve ark. (74) CCl<sub>4</sub> uygulamasının hepatositlerde ve hepatik kordonlarda oluşturduğu dejenerasyonlarla birlikte fokal nekroz alanlarının CAPE uygulaması ile şiddetinin azaldığını tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada (97), sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlara ait prefrontal korteks örneklerinde belirlenen, moleküler tabakada vakuolizasyon, nöroglial hücre infiltrasyonu ve piknotik hücrelerin CAPE uygulaması ile büyük oranda azaldığı belirtilmiştir. Parlakpınar ve ark.'da (94) gentamisin (GEN) uygulamasıyla oluşan tübüler nekrozların CAPE uygulamasıyla şiddetinin azaldığını belirtmişlerdir. Mevcut çalışmada da gebelik öncesi ve gebelik süresince 10 mg/kg/gün dozunda oral olarak CAPE uygulanan hayvanların karaciğer ve bağırsak dokularının histopatolojik incelemelerinde herhangi bir olumsuz bulguya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, gebelik döneminde CAPE uygulamasının oksidan-antioksidan dengeye destek olduğu, serbest radikal tutucu etkileri nedeniyle luteal hücreleri ve plasentayı koruyarak progesteron düzeyini ve yavru canlılığını sürdürdüğü, uterus dokusunda antioksidan sistem üzerine etki göstermediği, ancak ovaryum dokusunda hormonal değişimlere bağlı olarak oksidan-antioksidan dengeyi değiştirdiği ve bu etkinliği ile doğumu kolaylaştırdığı düşünülmektedir.

## 5. ÖZET

### **RATLARDA KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE) UYGULAMASININ ÜREME SİSTEMİ VE ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ**

Bu çalışmada, Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) uygulamasının ratlarda yavru sayısı, ovaryum, uterus dokuları ile plazma total oksidan/antioksidan düzeyleri ve plazma progesteron düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, 32 adet Sprague–Dawley cinsi rat kullanıldı. Hayvanlar 2 deney ve 2 kontrol olmak üzere, her grupta 8 rat bulunan 4 gruba ayrıldı. Gruplar CAPE 1, KONTROL 1, CAPE 2 ve KONTROL 2 şeklinde oluşturuldu. CAPE 1 ve CAPE 2 gruplarına gebelikten 10 gün önce başlanarak 10 mg/kg/gün CAPE içme suyu içinde verildi. KONTROL 1 ve KONTROL 2 gruplarına ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Deneme gruplarının 10 günlük CAPE uygulamasının sonunda tüm grupların östrusu senkronize edildi. Senkronizasyon sağlamak amacıyla 20 mg/kg kas içi GnRH agonisti olan buserelin uygulaması yapıldıktan 24 saat sonra intraperitoneal 5 IU FSH ve takiben, 48 saat sonra ise subkutan olarak 5 IU hCG enjeksiyonu yapıldı. CAPE 1 ve KONTROL 1 grupları gebeliğin 11. gününde, CAPE 2 ve KONTROL 2 grupları ise gebeliğin 21. gününde dekapite edilerek yavru sayıları tespit edildi. İntrakardiyal yolla EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı ve doku örnekleri ise naylon poşetlerde -20 °C'de saklandı. Histolojik inceleme için alınan karaciğer ve bağırsak doku örnekleri ise %10'luk formaldehit solusyonunda tespit edildi.

Plazma Total Antioksidan Düzeyleri gruplara göre kıyaslama yapıldığında, kontrol grubunun TAS düzeylerinin CAPE uygulanan gruba göre 11. ve 21. günlerde istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.001$ ). Plazma Total Oksidan düzeyleri gruplara göre kıyaslandığında, CAPE uygulanan grubun TOS düzeylerinin kontrol grubuna göre 11. günde istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Plazma progesteron düzeyleri gruplara göre kıyaslandığında,

CAPE uygulanan grubun kontrol grubuna göre progesteron düzeylerinin 21. günde istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Deney süresi boyunca CAPE uygulanan gruplar ve kontrol gruplarındaki hayvanların batındaki yavru sayıları arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ovaryum Dokusu Total Antioksidan düzeyleri gruplara göre değerlendirildiğinde CAPE grubunun TAS düzeyinin 11. günde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. 21. günde CAPE grubunun TAS düzeyinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Ovaryum dokusu Total Oksidan düzeylerinde gruplara göre kıyaslandığında, 11. günde kontrol ve CAPE grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi. TOS düzeylerinin 21. günde CAPE grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Uterus dokusunda TAS seviyesinde meydana gelen değişiklikler gruplara göre karşılaştırıldığında 11. günde CAPE grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düşüş tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Kontrol grubu ile CAPE grubu arasındaki TAS düzeylerinde belirlenen farklılık 21. günde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Uterus dokusu Total Oksidan düzeylerinin gruplara göre kıyaslanması yapıldığında 11. günde kontrol grubunun TOS düzeylerinin CAPE grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ( $p<0.01$ ), 21. günde ise gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Karaciğer ve bağırsak dokularında yapılan histopatolojik incelemede bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak, CAPE uygulaması gebelik döneminde serbest radikal oluşumu üzerine plazma ve dokuda önemli bir değişikliğe sebep olmazken, yavru canlılığının sürdürülmesi ve gebeliğin sonlandırılmasında etki gösterebileceği kanaatine varılmıştır.

## 6. ABSTRACT

### **EFFECT OF CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER (CAPE) APPLICATION ON REPRODUCTIVE SYSTEM AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN RATS**

In this study, the effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE ) application on the number of offsprings, the level of plasma total oxidant and antioxidants in ovarium and uterus tissues and the level of plasma progesterone have been studied in rats.

For this purpose, 32 Sprague-Dawley rats were used. Animals were divided into 4 groups in which 2 experiment and 2 control. In each group had 8 rats. Groups were designed as CAPE 1, CONTROL 1, CAPE 2 and CONTROL 2. CAPE 1 and CAPE 2 groups were given 10 mg/kg/day CAPE in their drinking water, starting before 10 day of pregnancy. CONTROL 1 and CONTROL 2 were not made any applications. At the end of 10 day of CAPE applications in the experimental groups, östrus of all groups were synchronised. In order to provide superovulation, after 24 hours performing intramuscular buserelin, which has 20 mg/kg GnRH agonist, intraperitoneally 5 IU FSH and after 48 hours subkutan 5 IU hCG were injected. The number of offsprings were determined after decapitating CAPE 1 and CONTROL 1 groups at the 11<sup>th</sup> day of pregnancy and CAPE 2 and CONTROL 2 groups at the 21<sup>st</sup> day of pregnancy. Blood samples were taken into EDTA tubes through intracardial method and tissue samples were taken in plastic pouches that stored in -20°C. Kidney and instestine tissue samples collected for histological analyses were fixed in 10% phosphate buffered formaldehyde solution.

It was found that TAS levels of the control group were statistically higher than the the CAPE applied group on the 11<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days of pregnancy ( $p < 0.001$ ). When oxidation rates were compared according to groups, it was found that TOS level of the CAPE applied group were statistically higher than the control group on the 11<sup>th</sup> day ( $p < 0.005$ ). If groups were compared, progesterone levels of the CAPE applied group were statistically higher than the control group on the 21<sup>st</sup> day of pregnancy

( $p < 0.005$ ). During the experiment, no statistical differences were found among the offsprings in uterus of the CAPE applied and the control groups.

When the level of TAS in ovarium tissue were evaluated according to the groups, it was found that TAS level of the CAPE group was not statistically important on the 11<sup>th</sup> day. On the other hand, TAS level of the CAPE group was statistically higher than the control group on the 21<sup>st</sup> day of pregnancy ( $p < 0.05$ ). If the level of TOS in ovarium tissue were compared according to the groups, no statistically importance were determined on the 11<sup>th</sup> day of pregnancy. In contrast, the level of TOS in ovarium tissue in the CAPE group higher than the control group on the 21<sup>st</sup> day of pregnancy ( $p < 0.05$ ). When the changes of the TAS level in uterus tissue was compared with in groups, a statistically important decrease in the CAPE group was found on the 11<sup>th</sup> day ( $p < 0.001$ ). No statistically important differences were found in the TAS levels of the CAPE applied and the control groups on the 21<sup>st</sup> day of pregnancy. When comparison of the TOS levels of uterus tissue was made according to the groups, it was found that TOS levels of the control group was statistically higher than the CAPE group on the 11<sup>th</sup> day of pregnancy ( $p < 0.01$ ). There were not statistical differences in terms of the TOS levels among the groups on the 21<sup>st</sup> day of pregnancy. No changes were found in the histopathological analyses of the liver and instetine tissues.

In conclusion, while CAPE application on the formation of free radicals during pregnancy isn't causes significant changes in plasma and tissue, it was considered that CAPE may effect maintaining viability of the offspring and the termination of pregnancy.

## 7. KAYNAKLAR

1. Abdel-Latif, MMM., Windle, HJ., El Homasany, BS., Sabra, K., Kelleher, D.: Caffeic Acid Phenethyl Ester modulates *Helicobacter pylori*-induced nuclear factor-kappa B and activator protein-1 expression in gastric epithelial cells. *British Journal of Pharmacology*, 146, 1139-1147, 2005.
2. Agrawal, P., Laloraya, MM.: Induction of peroxidase in corpora lutea of rat ovary by luteinizing hormone. *Biochem J.*, 166, 205-208, 1977.
3. Agarwal, A., Allamaneni, SSR.: Oxidants and antioxidants in human fertility. *Middle East Fertility Society Journal*, 9 (3): 187-197, 2004.
4. Agarwal, A., Gupta, S., Sikka, S.: The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 18: 325-332, 2006.
5. Ajah, PO., Eteng, MU.: Phytochemical screening and histopathological effects of single acute dose administration of *Artemisia annua* L. on testes and ovaries of Wistar rats. *African Journal of Biochemistry Research*, 4 (7): 179-185, 2010.
6. Akkoç, T.: Albino ırkı sıçanlardan süperovulasyon ile pronükleer aşamadaki embriyoların eldesi, vitrifikasyonu ve vitrifikasyon sonrası embriyo kültür koşullarının araştırılması. *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 2006.
7. Al-Gubory, KH., Bolifraud, P., Germain, G., Nicole1, A., Ceballos-Bicot, I.: Antioxidant enzymatic defence systems in sheep corpus luteum throughout pregnancy. *Reproduction*, 128, 767-774, 2004.
8. Al-Gubory, KH., Bolifraud, P., Garrel, C.: Regulation of Key Antioxidant Enzymatic Systems in the Sheep Endometrium by Ovarian Steroids. *Endocrinology*, 149 (9): 4428-4434, 2008.
9. Appiah, I., Milovanovic, S., Radojicic, R., Nikolic-Kokic, A., Orescanin-Dusic, Z., Slavic, M., Trbojevic, S., Skrbic, R., Spasic, MB., Blagojevic, D.: Hydrogen



peroxide affects contractile activity and anti-oxidant enzymes in rat uterus. *British Journal of Pharmacology*, 158, 1932-1941, 2009.

10. Aten, RF., Duarte, KM., Behrman, HR.: Regulation of ovarian antioxidant vitamins, reduced glutathione, and lipid peroxidation by luteinizing hormone and prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Biology of Reproduction*, 46, 401-407, 1992.
11. Avcı, M., Karakılçık, Z., Kanat, R.: Vitamin A, E ve selenyumun koyunlarda döl verimi ve bazı biyokimyasal parametre düzeyleri ile kuzularında yasama gücü ve canlı ağırlık üzerine etkisi. *Turk J Vet Anim Sci.*, 24, 45-50, 2000.
12. Aygün, FÖ.: Sıçanlarda deneysel gentamisin nefrotoksisitesinde oksidatif stresin rolünün ve olası oksidatif stres üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in etkisinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2010.
13. Başar, M., Türker, M., İrez, T., Arda, O.: Süperovulasyon protokolünde kullanılan GnRH agonistinin oosit olgunluğu ve çapına etkileri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 39 (2): 41-48, 2008.
14. Behne, D., Wolters, W.: Selenium content and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 17, 133-135, 1979.
15. Behrman, HR., Preston, SL.: Luteolytic actions of peroxide in rat ovarian cells. *Endocrinology*, 124, 2895-2900, 1989.
16. Behrman, HR., Aten, RF.: Evidence that hydrogen peroxide blocks hormone-sensitive cholesterol transport into mitochondria of rat luteal cells. *Endocrinology*, 128, 2958-2966, 1991.
17. Behrman, HR., Kodaman, PH., Preston, SL., Gao, S.: Oxidative stress and the ovary. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 8 (1): 40-42, 2001.
18. Beltrán-Ramírez, O., Alemán-Lazarini, L., Salcido-Neyoy, M., Hernández-García, S., Fattel-Fazenda, S., Arce-Popoca, E., Arellanes-Robledo, J., García-Román, R., Vázquez-Vázquez, P., Sierra-Santoyo, A., Villa-Treviño, S.: Evidence

that the anticarcinogenic effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester in the resistant hepatocyte model involves modifications of cytochrome P450. *Toxicological Sciences*, 104 (1): 100-106, 2008.

19. Berek, JS., Adashi, EY., Hillard, PA.: *Novak's Gynecology*. 12th Edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1996.
20. Birkay, Ç., Gündüz, C., Yılmaz, B., Şahin, F., Topçuoğlu, N.: The Evaluation of cytotoxic and apoptotic effect of propolis and its extracts Caffeic Acid Phenethyl Ester and Cinnamic Acid in human acute T cell lymphoblastic leukemia cell line (CCRF-CEM). *Ege Tıp Dergisi*, 45 (2) : 83- 92, 2006.
21. Bolzán, AD., Bianchi, MS., Bianchi, NO.: Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking. *Clinical Biochemistry*, 30 (6): 449-454, 1997.
22. Borrelli, F., Maffia, P., Pinto, L., Ianaro, A., Russo, A., Capasso, F., Ialenti, A.: Phytochemical compounds involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*, 73 (1): 53-63, 2002.
23. Brännström, M., Mayrhofer, G., Robertson, SA.: Localization of leukocyte subsets in the rat ovary during the periovulatory period. *Biology of Reproduction*, 48, 277-286, 1993.
24. Burmistrov, SO., Oparina, TI., Prokopenko, VM., Arutiunian, AV.: Antioxidant activity of the blood serum in pregnant and nonpregnant women: comparison of various detection methods. *Klin Lab Diagn.*, 11, 14-17, 1997.
25. Carlson, JC., Wu, XM., Sawada, M.: Oxygen radicals and the control of ovarian corpus luteum function. *Free Radic Biol Med.*, 14 (1): 79-84, 1993.
26. Chen, MJ., Chang, WH., Lin, CC., Liu, CY., Wang, TE., Chu, CH., Shih, SC., Chen, YJ.: Caffeic Acid Phenethyl Ester induces apoptosis of human pancreatic cancer cells involving caspase and mitochondrial dysfunction. *Pancreatology*, 8, 566-576, 2008.

27. Chiao, C., Carothers, AM., Grunberger, D., Solomon, G., Preston, GA., Barrett, JC.: Apoptosis and altered redox state induced by Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Research*, 55, 3576-3583, 1995.
28. Coban, S., Yildiz, F., Terzi, A., Al, B., Ozgor, D., Ara, C., Polat, A., Esrefoglu, M.: The effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) against cholestatic liver injury in rats. *Journal of Surgical Research*, 159 (2): 674-679, 2010.
29. Crha, I., Hrubá, D., Ventruba, P., Fiala, J., Totusek, J., Visnová, H.: Ascorbic acid and infertility treatment. *Cent Eur J Public Health.*, 11 (2): 63-67, 2003.
30. Díaz, E., Fernández, C., Castrillón, PO., Esquifino, AI., Marín, B., Díaz López, B.: Effect of exogenous melatonin on neuroendocrine-reproductive function of middle-aged female rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 117, 331-337, 1999.
31. Doğan, O.: Tavşanlarda ovaryum torsiyon/detorsiyon modelinde Kafeik Asit Fenetil Ester'in (CAPE) koruyucu rolünün araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 2009.
32. Eiben, B., Glaubitz, R.: First-trimester screening: an overview. *J Histochem Cytochem*, 53, 281-283, 2005.
33. Elsayed, NM., Bendich, A.: Dietary antioxidants: potential effects on oxidative products in cigarette smoke. *Nutr. Res.*, 21, 551-567, 2001.
34. Estany, S., Palacio, JR., Bar nadas, R., Sabes, M., Iborra, A., Martínez, P.: Antioxidant activity of *N*-acetylcysteine, flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol on endometrial cells in culture. *Journal of Reproductive Immunology*, 75, 1-10, 2007.
35. Erata, YE., Güçlü, S.: Gebelikte vitamin desteği. *Perinatoloji Dergisi*, 11 (1-2): 13-19, 2003.

- 36.** Erel, O.: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 37, 277-285, 2004.
- 37.** Erkan, S.: Folikül stimulan hormon reseptör (FSHR) mutasyonları ve over cevabı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2006.
- 38.** Espey, LL.: Ovulation as an inflammatory reaction-A hypothesis. *Biology of Reproduction*, 22, 73-106, 1980.
- 39.** Fait, V., Sela, S., Ophir, E., Kreutzer, H., Shnaider, O., Perri, A., Khatib, N., Dourleshter, G., Tendler, R., Bornstein, J.: Peripheral polymorphonuclear leukocyte priming contributes to oxidative stress in early pregnancy. *J Soc Gynecol Investig.*, 12, 46-49, 2005.
- 40.** Finkel, T., Holbrook, NJ.: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408, 239-247, 2000.
- 41.** Florek, E., Ignatowicz, E., Piekoszewski, W.: Effect of pregnancy and tobacco smoke on the antioxidant activity of rutin in an animal model. *Pharmacological Reports*, 61, 935-940, 2009.
- 42.** Foyouzi, N., Cai, Z., Sugimoto, Y., Stocco, C.: Changes in the expression of steroidogenic and antioxidant genes in the mouse corpus luteum during luteolysis. *Biology of Reproduction*, 72, 1134-1141, 2005.
- 43.** Gatzuli, E., Aten, RF., Behrman, HR.: Inhibition of gonadotropin action and progesterone synthesis by xanthine oxidase in rat luteal cells. *Endocrinology*, 128, 2253-2258, 1991.
- 44.** Ghisalberti, EL.: Propolis: A review. *International Bee Research Association*, 60 (2): 59-84, 1979.
- 45.** González-Fernández, R., Gaytán, F., Martínez-Galisteo, E., Porras, P., Padilla, CA., Sánchez Criado, JE., Bárcena, JA.: Expression of glutaredoxin

- (thioltransferase) in the rat ovary during the oestrous cycle and postnatal development. *Journal of Molecular Endocrinology*, 34, 625–635, 2005.
- 46.** Górecka, R., Kleczkowski, M., Kluciński, W., Kasztelan, R., Sitariska, E.: Changes in antioxidant components in blood of mares during pregnancy and after foaling. *Bull. Vet. Inst Pulawy*, 46, 301-305, 2002.
- 47.** Greenaway, W., Scaysbrook, T., Whatley, FR.: The analysis of bud exudate of *Populus x euramericana*, and of propolis, by gas chromatography-mass spectrometry, *Proc. R. Soc. London B*, 232, 249–272, 1987.
- 48.** Guney, M., Oral, B., Karahan, N., Mungan, T.: Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on fluoride-induced oxidative stress and apoptosis in rat endometrium. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24, 86-91, 2007.
- 49.** Guyton, AC., Hall, JE.: 2006. “Tıbbi Fizyoloji 11<sup>th</sup> ed.”, Çavuşoğlu, H., Çağlayan Yeğen, B., Aydın, Z., Alican, İ., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s.1011, 1034.
- 50.** Haliloğlu, S., Serpek, B.: Koyunlarda plazma vitamin C ve seruloplazmin düzeyleriyle eksojen vitamin C uygulamalarının döl verimi üzerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci.*, 24, 403-411, 2000.
- 51.** Hayes, JD., Pulford, DJ.: The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.*, 30 (6): 445-600, 1995.
- 52.** He, YJ., Liu, BH., Xiang, DB., Qiao, ZY., Fu, T., He, YH.: Inhibitory effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester on the growth of SW480 colorectal tumor cells involves  $\beta$ -catenin associated signaling pathway down-regulation. *World Journal of Gastroenterology*, 12 (31): 4981-4985, 2006.
- 53.** Hishikawa, K., Nakaki, T., Fujita, T.: Oral Flavonoid supplementation attenuates atherosclerosis development in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 25, 442-446, 2005.

- 54.** Hughes, C., Foster, W., Chan, S., Platt, L., Thompson, S., Hubbard, S., DuBose, A., Tyrey, L.: Extrapolation of rodent studies on amniotic fluid contaminants to human populations. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 7(5): 979-1002, 2001.
- 55.** Ilhan, A., Iraz, M., Gurel, A., Armutcu, F., Akyol, O.: Caffeic Acid Phenethyl Ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylentetrazol-induced seizures in mice. *Neurochemical Research*, 29 (12): 2287-2292, 2004.
- 56.** Iranloye, B., Owokunle, B.: Effect of *Garcinia kola* seed extract on female reproductive functions in rats. *International Journal of Pharmacology*, 4 (4): 276-281, 2008.
- 57.** Iyare, EE., Adegoke, OA.: Mechanism of the delayed puberty onset in offspring of rats that consumed aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* during pregnancy. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 23 (1-2): 71-77, 2008.
- 58.** Izuta, H., Shimazawa, M., Tsuruma, K., Araki, Y., Mishima, S., Hara, H.: Bee products prevent VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 45, 2009.
- 59.** Jacobson, MD.: Reactive oxygen species and programmed cell death. *Trends in Biochemical Sciences*, 21, 83-86, 1996.
- 60.** Jeong, SH., Kim, BY., Kang, HG., Ku, HO., Cho, JH.: Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. *Toxicology*, 208, 49-62, 2005.
- 61.** Johansen, JS., Alex, K., Harris, AK., Rychly, DJ., Ergul, A.: Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4, 5, 2005.
- 62.** Johnson, JR., Makaji, E., Ho, S., Xiong, B., Crankshaw, DJ., Holloway, AC.: Effect of maternal raspberry leaf consumption in rats on pregnancy outcome and the fertility of the female offspring. *Reproductive Sciences*, 16 (6): 605-609, 2009.

63. Jones, RL., Hannan, NJ., Kaitu'u, TJ., Zhang, J., Salamonsen, LA.: Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89 (12): 6155-6167, 2004.
64. Kart, A., Cigremis, Y., Ozen, H., Dogan, O.: Caffeic Acid Phenethyl Ester prevents ovary ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1980-1984, 2009.
65. Kavas, GÖ.: Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası*, 47, 579-592, 1994.
66. Kaya, H., Delibaş, N., Çapar, M., Tahan, V., Serteser, M., Özkaya, MO.: Gebelikte ve postpartum erken dönemde serbest radikal oluşumu ve antioksidan enzim düzeyleri. *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.*, 3 (4): 67-70, 1996.
67. Kehrer, JP.: Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*, 23 (1): 21-48, 1993.
68. Koksel, O., Ozdulger, A., Tamer, L., Cinel, L., Ercil, M., Degirmenci, U., Unlu, S., Kanik, A.: Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 19, 90-95, 2006.
69. Koltuksuz, U., Irmak, MK., Karaman, A.: Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res.*, 28, 360-363, 2000.
70. Kuroda, S., Siesjö, BK.: Reperfusion damage following focal ischemia: pathophysiology and therapeutic windows. *Clin Neurosci.*, 4 (4): 199-212, 1997.
71. Kumar, V., Medhi, B.: Emerging role of uterine natural killer cells in establishing pregnancy. *Iran J. Immunol.*, 5 (2): 71-81, 2008.

72. Küplülü, Ş., Şeviktürk, İ., Vural, R., Bilgili, A., Salmanoğlu, R., Sekkin, S.: Farelerde değişik dozlardaki pmsg ve hCG uygulamalarının süperovulasyon oranı Üzerine etkisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 43, 449-456,1996.
73. Laloraya, M., Kumar, GP., Laloraya, MM.: Histochemical study of superoxide dismutase in the ovary of the rat during the oestrous cycle. Journal of Reproduction and Fertility, 86, 583-587, 1989.
74. Lee, KJ., Choi, JH., Khanal, T., Hwang, YP., Chung, YC., Jeong, HG.: Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. Toxicology, 248, 18-24, 2008.
75. Loverro, G., Greco, P., Capuano, F., Carone, D., Cormio, G., Selvaggi, L.: Lipoperoxidation and antioxidant enzymes activity in pregnancy complicated with hypertension. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 70 (2): 123-127, 1996.
76. Maffia, P., Ianaro, A., Pisano, B., Borrelli, F., Capasso, F., Pinto, A., Ialenti, A.: Beneficial effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester in a rat model of vascular injury. British Journal of Pharmacology, 136, 353-360, 2002.
77. Maia, CS., Wanderley-Teixeira, V., Teixeira, AAC., Pontes Filho, NT.: Analysis of fetal and placental development in rats after administration of hydroalcoholic extract from the root of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). Int. J. Morphol., 28 (1): 165-169, 2010.
78. Marcucci, MC.: Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26, 83-99, 1995.
79. Márquez, N., Sancho, R., Macho, A., Calzado, MA., Fiebich, BL., Muñoz, E.: Caffeic Acid Phenethyl Ester inhibits T-cell activation by targeting both Nuclear Factor of activated T-cells and NF- $\kappa$ B transcription factors. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 308 (3): 993-1001, 2004.
80. Minsavage, GD., Dillman, JF.: Bifunctional alkylating agent-induced p53 and nonclassical Nuclear Factor  $\kappa$ B Responses and cell death are altered by Caffeic



Acid Phenethyl Ester: A potential role for antioxidant/electrophilic response-element signaling. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321 (1): 202-212, 2007.

- 81.** Mollaoglu, H., Gokcimen, A., Ozguner, F., Oktem, F., Koyu, A., Kocak, A., Demirin, H., Gokalp, O., Cicek, E.: Caffeic Acid Phenethyl Ester prevents cadmium induced cardiac impairment in rat. *Toxicology*, 227, 15-20, 2006.
- 82.** Murdoch, WJ.: Inhibition by oestradiol of oxidative stress-induced apoptosis in pig ovarian tissues. *Journal of Reproduction and Fertility*, 114, 127-130, 1998.
- 83.** Musicki, B., Kodaman, PH., Aten, RF., Behrman, HR.: Endocrine regulation of ascorbic acid transport and secretion in luteal cells. *Biol Reprod.*, 54, 399-406, 1996.
- 84.** Muthian, G., Bright, JJ.: Quercetin, a flavonoid phytoestrogen, ameliorates experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling through JAK/STAT pathway in T lymphocyte. *J Clin Immunol.*, 24 (5): 542-52, 2004.
- 85.** Myatt, L., Cui, XL.: Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.*, 122, 369-382, 2004.
- 86.** Nagaoka, T., Banskota, AH., Tezuka, Y., Harimaya, Y., Koizumi, K., Saiki, I., Kadota, S.: Inhibitory effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester analogues on experimental lung metastasis of murine colon 26-L5 carcinoma cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 26 (5): 638-641, 2003.
- 87.** Natarajan, K., Singh, S., Terrence R. Burke, Jr., Grunberger, D., Aggarwal, BB.: Caffeic Acid Phenethyl Ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 9090-9095, 1996.
- 88.** Nordberg, J., Arner, ES.: Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.*, 31, 1287-1312, 2001.

- 89.** Oršolić, N., Terzić, S., Mihaljević, Ž., Šver, L., Bašić, I.: Effects of local administration of propolis and its polyphenolic compounds on tumor formation and growth. *Biol. Pharm. Bull.*, 28 (10): 1928-1933, 2005.
- 90.** Ouali, K., Trea, F., Toumi, L., Bairi, A., Maurel, D., Guellati, MA.: Hesperidine, a flavonoid antioxidant decrease oxidative stress and prevent foetal malformations in experimental diabetic pregnancy. *Phytotherapie*, 5 (4): 204-209, 2007.
- 91.** Özyurt, B., Özyurt, H., Atış, Ö., Akbaş, A., Yılmaz, HR., Söğüt, S.: Deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisinde E vitamini ve Kafeik Asit Fenetil Esterin karaciğer dokusundaki bazı metabolik enzimlere etkisi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 4 (3): 14-18, 2006.
- 92.** Parker-Athill, E., Luo, D., Bailey, A., Giunta, B., Tian, J., Shytle, RD., Murphy, T., Legradi, G., Tan, J.: Flavonoids, a prenatal prophylaxis via targeting JAK2/STAT3 signaling to oppose IL-6/MIA associated autism. *Journal of Neuroimmunology*, 217, 20-27, 2009.
- 93.** Parlakpınar, H., Sahna, E., Acet, A., Mizrak, B., Polat, A.: Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on myocardial ischemia-reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology*, 209, 1-14, 2005.
- 94.** Parlakpınar, H., Tasdemir, S., Polat, A., Bay-Karabulut, A., Vardi, N., Ucar, M., Acet, A.: Protective role of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology*, 207, 169-177, 2005.
- 95.** Paszkowski, T., Clarke, RN., Hornstein, MD.: Smoking induces oxidative stress inside the graafian follicle. *Human Reproduction*, 17 (4): 921-925, 2002.
- 96.** Pekiner, BD.: Vitamın E as an antioxidant. *J. Fac. Pharm, Ankara*, 32 (4): 243-267, 2003.
- 97.** Pekmez, H., Kuş, İ., Çolakoğlu, N., Zararsız, İ., Ögetürk, M., Sarsılmaz, M.: Sıçanlarda sigara inhalasyonu sonucu prefrontal kortekste oluşan yapısal değişiklikler üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13 (3): 18-25, 2004.

- 98.** Pinto, RE., Bartley, W.: The nature of the sex-linked differences in glutathione peroxidase activity and aerobic oxidation of glutathione in male and female rat liver. *Biochem J.*, 115, 449-456, 1969.
- 99.** Puchner, K., Iavazzo, C., Gourgiotis, D., Boutsikou, M., Baka, S., Hassiakos, D., Kouskouni, E., Economou, E., Malamitsi-Puchner, A., Creatsas, G.: Mid-trimester amniotic fluid interleukins (IL-1 $\beta$ , IL-10 and IL-18) as possible predictors of preterm delivery. *In Vivo*, 25 (1): 141-148, 2011.
- 100.** Rahilly, M., Carder, PJ., Al Nafussi, A., Harrison, DJ.: Distribution of glutathione S-transferase isoenzymes in human ovary. *J. Reprod. Fert.*, 93, 303-311, 1991.
- 101.** Rezzani, R., Giugno, L., Buffoli, B., Bonomini, F., Bianchi, R.: The protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester against cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats. *Toxicology*, 212, 155-164, 2005.
- 102.** Riley, JC., Behrman, HR.: Oxygen radicals and reactive oxygen species in reproduction. *Proc Soc Exp Biol Med.*, 198 (3): 781-791, 1991.
- 103.** Sariözkan, S.: Tavşanlarda süperovulasyon. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78 (3): 39-42, 2007.
- 104.** Sekiba, K., Yoshioka, T.: Changes of lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in the human placenta. *Am J Obstet Gynecol.*, 135 (3): 368-371, 1979.
- 105.** Sies, H.: Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 916-921, 1999.
- 106.** Song, Y.S., Park, E.H., Hur, G.M., Ryu, Y.S., Lee, Y.S., Lee, J.Y., Kim, Y.M., Jin, C.: Caffeic Acid Phenethyl Ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Cancer Lett.* 175, 53-61, 2002.
- 107.** Southorn, PA., Powis, G.: Free radicals in medicine. I. chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc.*, 63, 381-389, 1988.

- 108.** Soylu, SM.: Rat fizyolojisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, DOI: 10.4328/JCAM.431, 2011.
- 109.** Sud'ina, GF., Mirzoeva, OK., Puskareva, GA., Korshunova, GA., Sumbatyan, NV., Varfolomeev, SD.: Caffeic Acid Phenethyl Ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett.*, 329, 21-24, 1993.
- 110.** Sugino, N., Shimamura, K., Tamura, H., Ono, M., Nakamura, Y., Ogino, K., Kato, H.: Progesterone inhibits superoxide radical production by mononuclear phagocytes in pseudopregnant rats. *Endocrinology*, 137, 749-754, 1996.
- 111.** Sugino, N., Takiguchi, S., Kashida, S., Takayama, H., Yamagata, Y., Nakamura, Y., Kato, H.: Suppression of intracellular superoxide dismutase activity by antisense oligonucleotides causes inhibition of progesterone production by rat luteal cells. *Biol Reprod.*, 61, 1133-1138, 1999.
- 112.** Sugino, N., Takiguchi, S., Kashida, S., Karube, A., Nakamura, Y., Kato, H.: Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Molecular Human Reproduction*, 6 (1): 19-25, 2000.
- 113.** Sugino, N.: Reactive oxygen species in ovarian physiology. *Reproductive Medicine and Biology*, 4, 31-44, 2005.
- 114.** Suzuki, T., Sasano, H., Takaya, R., Fukaya, T., Yajima, A., Date, F., Nagura, H.: Leukocytes in normal-cycling human ovaries: immunohistochemical distribution and characterization. *Human Reproduction*, 13 (8): 2186-2191, 1998.
- 115.** Sztányi, P., Janda, J., Poledne, R.: Intrauterine undernutrition and programming as a new risk of cardiovascular disease in later life. *Physiol. Res.*, 52, 389-395, 2003.
- 116.** Tatemoto, H., Sakurai, N., Muto, N.: Protection of porcine oocytes against apoptotic cell death caused by oxidative stress during in vitro maturation: Role of cumulus cells. *Biology of Reproduction*, 63, 805-810, 2000.

117. Tekin, N., Sariözkan, S., Uysal, O., Akçay, E.: Tavşanlarda farklı süperovulatör ajanların oosit kalitesi ve *in vitro* fertilizasyonu üzerine etkisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg., 52, 165-170, 2005.
118. Toft, E., Becedas, L., Soderstrom, M., Lundqvist, A., Depierre, JW.: Glutathione transferase isoenzyme patterns in the rat ovary. Chemico-Biological Interactions, 108, 79-93, 1997.
119. Urso, ML., Clarkson, PM.: Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology, 189, 41-54, 2003.
120. Uz, E., Yılmaz, HR., Iraz, M., Fadıllıoğlu, E., Özyurt, H., Söğüt, S., Akyol, Ö.: Effects of vitamin E and Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on methabolic enzymes of rats with experimental liver ischemia-reperfusion injury. Ege Tıp Dergisi, 41 (2): 77- 82, 2002.
121. Üzümlüođlu Coşkun, M.: Şizofrenide etyopatogenezinde oksidatif stresin rolü. Bakırkoy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Arastırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2008.
122. Vural, P., Akgül, C., Yildirim, A., Canbaz, M.: Antioxidant defence in recurrent abortion. Clinica Chimica Acta, 295, 169–177, 2000.
123. Wang, D., Xiang, DB., He, YJ., Li, ZP., Wu, XH., Mou, JH., Xiao, HL., Zhang, QH.: Effect of caffeic acid phenethyl ester on proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells in vitro. World Journal of Gastroenterology, 11 (26): 4008-4012, 2005.
124. Wang, X., Stavchansky, S., Zhao, B., Bynum, JA., Kerwin, SM., Bowman, PD.: Cytoprotection of human endothelial cells from menadione cytotoxicity by caffeic acid phenethyl ester: The role of heme oxygenase-1. European Journal of Pharmacology, 591, 28-35, 2008.
125. Wei, X., Ma, Z., Fontanilla, CV., Zhao, L., Xu, ZC., Tagliabracci, V., Johnstone, BH., Dodel, RC., Farlow, MR., Du, Y.: Caffeic acid phenethyl ester

prevents cerebellar granule neurons (CGNs) against glutamate-induced neurotoxicity. *Neuroscience*, 155, 1098-1105, 2008.

- 126.** Westwood, FR.: The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide to Staging. *Toxicologic Pathology*, 36, 375-384, 2008.
- 127.** Yagmurca, M., Erdogan, H., Iraz, M., Songur, A., Ucar, M., Fadillioglu, E.: Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clinica Chimica Acta*, 348, 27-34, 2004.
- 128.** Yılmaz, HR., Sadık, S., Özyurt, H., Iraz, M., Yıldırım, Z., Akyol, Ö.: Sıçanlarda sispilatinle oluşturulan nefrotoksisitede metabolik enzim aktivitelerine kafeik asit fenetil ester'in etkisi. *Van Tıp Dergisi*, 11 (1): 1-6, 2004.
- 129.** Zabielski, R., Gajewski, Z., Valverde Piedra, JL., Laubitz, D., Wilczak, J., Bałasińska, B., Kulasek, G.: The perinatal development of the gastrointestinal tract in piglets can be modified by supplementation of sow diet with bioactive substances. *Livestock Science*, 109 (1): 34-37, 2007.

## **8. ÖZGEÇMİŞ**

1983 yılında Giresun ilinin Bulancak ilçesine bağlı Tandır köyünde doğdum. İlköğrenimimi kendi köyümde yaptım. Ortaokul ve liseye Bulancak ilçesinde devam ettim. 2001 yılında Bulancak Lisesi Fen bölümünü bitirdim. Aynı yıl girdiğim ÖSS sınavıyla Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım ve 2005 yılında bu bölümden mezun oldum. Yine aynı yıl Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünün açtığı yüksek lisans programını kazandım. 2007 yılında yüksek lisans öğrenimimi tamamlayarak Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başladım. Halen, çalışmalarımı Fizyoloji Anabilim Dalında sürdürmekteyim. Bekarım.