



**Dİ-N-BÜTİL FİTALAT'IN (DBP) TUBA UTERİNADA OLUŞTURDUĞU
DEĞİŞİKLİKLERE KARŞI RESVERATROL'ÜN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN YAPISAL DÜZEYDE İNCELENMESİ**

Pakize Nur AKKAYA

**YÜKSEKLİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2015

Pakize Nur AKKAY tarafından hazırlanan “Di-N-Bütil Fitalat’ın (DBP) Tuba Uterinada Oluşturduğu Değişikliklere Karşı Resveratrol’ün Olası Koruyucu Etkilerinin Yapısal Düzeyde İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OYBİRLİĞİ/OYÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Başkan : Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye : Doç. Dr. Pergin ATTİLA

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi: 05 / 08 / 2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ufuk KOCAÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü TezYazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Pakize Nur AKKAYA

Dİ-N-BÜTİL FİTALAT'IN (DBP) TUBA UTERİNADA OLUŞTURDUĞU
DEĞİŞİKLİKLERE KARŞI RESVERATROL'ÜN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
YAPISAL DÜZEYDE İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Pakize Nur AKKAYA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ağustos 2015

ÖZET

Di-n-bütıl fıtalat (DBP) endokrin bozucu bir fıtalık asit esteridir. Plastikleştirici olarak boya, ilaçların enterik kaplamaları, oyuncaklar, gıda ambalajları gibi pek çok malzemede kullanılmaktadır. Organizmaya birçok olumsuz etkisi olduğu bilinen DBP, özellikle üreme sistemi üzerine etki ederek infertiliteye yol açabilmektedir. Resveratrol ise organizmayı oksidatif stres gibi faktörlere karşı koruyan, oldukça uzun zamandır bilinen ve kullanılan güçlü bir antioksidandır. Çalışmamızda endokrin yolakla organizmaya etki eden DBP'nin dişi üreme sistemine ait organlardan biri olan tuba uterina'lar üzerindeki olumsuz etkilerini ve bir antioksidan olan Resveratrol'ün bu olumsuz etkileri geri döndürebilme erkini histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırdık. Bu erekle 6 gruba ayırdığımız 20 günlük 36 adet dişi sıçana 30 gün süresince doza bağımlı olarak DBP, çözücü (Karboksimetil selüloz) ve DBP + Resveratrol uyguladık. Hematoksilen – eozin, Masson's trikrom boyamaları ve sitokrom – c primer antikoru ile incelediğimiz dokularda DBP'nin artan dozlara bağımlı olarak tuba uterina'ya hasar verdiğini, Resveratrol'ün ise bu hasarı geri çevirebilme erki olduğunu ancak yüksek doz DBP uygulanan grupta daha az etkili olması nedeniyle doz bağımlı olarak kullanılmasının olumlu etkisini arttırabileceği kanısına vardık.

Bilim Kodu : 1033

Anahtar Kelimeler : DBP, Resveratrol, Tuba uterina

Sayfa Adedi : 117

Danışman : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

THE EFFECTS OF DI-N-BUTLY PHTLATE ON TUBA UTERINA AND POSIBLE
PROTECTIVE EFFECT OF RESVERATROL

(M. Sc. Thesis)

Pakize Nur AKKAYA

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

August 2015

ABSTRACT

Di-n-butyl phthalate (DBP) is an ester of phthalic acid that disturbs endocrine functions. It is used as a plasticizer in many substances such as dyes, enteric coatings of the drugs, toys and food packaging. It has many known adverse effects to the organism; particularly it can lead to infertility via its effects on the reproductive system. Resveratrol is a potent antioxidant that protects the organism against oxidative stress, it has been known and used for a long time. In our study, using histochemical and immunohistochemical methods we investigated the adverse effects of DBP on uterine tubes which are among the organs of female reproductive system, and the potential of Resveratrol as an antioxidant to reverse these adverse effects. For this purpose, we administered certain doses of DBP, solvent (carboxymethyl cellulose) and DBP+Resveratrol to 36 female rats aged 20 days which we divided into 6 groups during 30 days period. Examination of the tissues using hematoxylin-eosin, Masson's trichrome stains and cytochrome-c primary antibodies revealed that DBP caused damage to uterine tubes in a dose dependent way, and that Resveratrol had the potential to reverse these damage; however it was less effective in the group that received high dose of DBP, therefore we concluded that its favorable effects could be enhanced by using it in dose-dependent way.

ScienceCode : 1033

KeyWords : DBP, Resveratrol, Tuba uterina

PageNumber : 117

Advisor : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgileri ve engin deneyimleriyle beni yönlendiren, yalnızca akademik anlamda değil hayat tecrübesi anlamında da gelişimime katkı sağlayan değerli hocam ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL' a, az zamana pek çok şey sığdırdığımız, bu süreçte çok daha yakından tanıma fırsatı bulduğum, bayram tatiline de denk gelen bir pazar günü tezimle ilgili yaptığımız çalışmayı ömrüm boyunca unutmayacağım güleryüzlü danışmanım Prof. Dr. Çiğdem ELMAS' a, eğitimimde emekleri geçen emekli hocalarımız Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN' a ve Prof. Dr. Tahir HATİPOĞLU' na, değerli hocalarım Prof. Dr. Celal ILGAZ' a ve Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU' na, zaman zaman bir bakışı ya da bir seslenişle desteğini hissettiğim Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU' na;

Tezimin deney aşamasını birlikte sürdürdüğüm, yorduğum, bunalttığım fakat sabırla güleryüzünü benden esirgemeyen sevgili Arş. Gör. C. Merve SEYMEN ablama, yeri geldiğinde beni benden daha çok düşünen, yardımlarını benden esirgemeyen anabilim dalı personelimiz, abimiz Recep ORHAN'a, güleryüzleri, destekleri, yardımları ve pozitif enerjileri ile yorgun hissettiğim her an yeniden toparlanmamı sağlayan tüm sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve sonsuz huzur kaynakları Yaman ve Aras bebeklere ve heyecanla beklediğimiz üç numaralı oğlumuz;

Bu süreçte yanımda olan, anlayışları ve sevgileri ile beni destekleyen dostlarıma;

Son olarak canım, her şeyim olan aileme; beni bugünlere getiren sevgisi ve fedakarlığı sonsuz annem Zerrin KİŞİOĞLU' na ve birtanecik, akıllı, olgun, sevgili kardeşim İ. Berat AKKAYA' ya sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Pakize Nur AKKAYA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tuba Uterina'nın Gelişimi	3
2.2. Tuba Uterina'nın Anatomisi	8
2.2.1. Pars uterina (intramural parça – pars interstitialis)	9
2.2.2. İsthmus tuba uterina.....	10
2.2.3. Ampulla tuba uterina	10
2.2.4. İnfundibulum tuba uterina.....	10
2.2.5. Tuba uterina'nın damarları	10
2.2.6. Tuba uterina'nın sinirleri.....	11
2.3. Tuba Uterina'nın Histolojisi.....	11
2.3.1. Mukoza tabakası	11
2.3.2. Epitel	12
2.3.3. Silyalı (kinosilyalı) hücreler.....	13
2.3.4. Salgı hücreleri (Peg hücreleri).....	14
2.3.5. Lamina propria	16

	Sayfa
2.3.6. Tunika muskularis	16
2.3.7. Tunika seroza.....	16
2.4. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi	17
2.5. Tuba Uterina ve Antioksidanlar	19
2.6. Resveratrol	19
2.6.1. Resveratrol'ün biyosentezi	21
2.6.2. Resveratrol'ün metabolizması	22
2.6.3. Resveratrol'ün dokulara taşınması	23
2.6.4. Resveratrol'ün atılımı	23
2.6.5. Resveratrol'ün biyolojik etkileri	23
2.6.6. Resveratrol'ün kalp sağlığı üzerine etkileri	24
2.6.7. Resveratrol'ün antioksidan etkileri.....	25
2.6.8. Resveratrol'ün antikanserojen etkileri	27
2.6.9. Resveratrol'ün antienflamatuar etkileri	28
2.6.10. Resveratrol'ün antimikrobiyal etkileri	28
2.6.11. Resveratrol'ün antitrombosit etkileri	29
2.6.12. Resveratrol'ün anjiyogenezis etkileri	29
2.6.13. Resveratrol'ün hepatoprotektif (karaciğer koruyucu) etkisi.....	30
2.6.14. Resveratrol'ün Herpes Simpleks virüsü üzerine etkileri	30
2.6.15. Resveratrol'ün Helicobacter Pylori üzerine etkileri	30
2.6.16. Resveratrol'ün yaşlanmaya karşı etkileri	30
2.6.17. Resveratrol'ün östrojenik etkileri	31
2.7. Endokrin Bozucular	31
2.8. Fitalatlar	33
2.8.1. Fitalatların fiziksel ve kimyasal özellikleri	34
2.8.2. Di-n-bütil fitalat (DBP)	35

	Sayfa
2.9. Karboksimetil selüloz (CMC)	37
2.10. Sitokrom – C.....	38
2.11. Apoptozis.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	41
3.1. Hematoksilen – Eozin BoyamaYöntemi	42
3.1.1. Boyama yöntemi	42
3.1.2. Masson' un Üçlü Boyama Yöntemi	42
3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	43
3.3. Malondialdehit (MDA) ve Total Sülfhidril Grubu (RSH) Yöntemleri.....	44
4. BULGULAR	47
4.1. Hematoksilen–Eozin Bulguları.....	47
4.2. Masson'un Üçlü Boyaması Bulguları.....	49
4.3. Sitokrom – c Bulguları	51
4.4. Malondialdihit (MDA) ve Total Sülfidril Grubu (RSH) Ölçüm Bulguları	52
5. TARTIŞMA.....	85
6. SONUÇ.....	97
KAYNAKLAR.....	99
EKLER.....	115
Ek-1. Etik Kurul Kararı	116
ÖZGEÇMİŞ	117

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.2. Başlıca endokrin bozucular.....	33
Çizelge 4.1. Işık mikroskopi düzeyinde tuba uterina dokusu elemanlarının dejenerasyon kriterleri.....	50
Çizelge 4.2. Sitokrom- c antikoru ile oluşturulan immünreaksiyon yoğunluk dağılımı	52
Çizelge 4.3. MDA ve RSH ölçüm istatistikleri	53

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Trans ve cis-resveratrol.	20
Şekil 2.2. Resveratrol'ün sentez aşamaları.	22
Şekil 2.3. Resveratrol' ün biyolojik etki yolları.	24
Şekil 2.4. Resveratrol'ün kalp koruyucu etkilerinin şematik olarak gösterilmesi.....	25
Şekil 2.5. Di n-bütıl fıtalat'ın kimyasal yapısı.....	35
Şekil 2.6. Karboksımetıl selüloz'un kimyasal yapısı.....	38

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100).....	54
Resim 4.2. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Peg hücresi (P), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400).....	55
Resim 4.3. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100).....	56
Resim 4.4. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400).....	57
Resim 4.5. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS), Tunika Seroza (TS) yapıları ve epitelde dökülme (◊) izleniyor (Hematoksilen – EozinX100).....	58
Resim 4.6. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS), Tunika Seroza (TS) yapıları ve epitelde dökülme (◊) izleniyor (Hematoksilen – EozinX400).....	59
Resim 4.7. Çözücü uygulanan tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400).....	60
Resim 4.8. Çözücü (CMC) uygulanan Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS), Tunika Seroza (TS) yapıları ve epitelde dökülme (◊) izleniyor (Hematoksilen - EozinX400).....	61
Resim 4.9. 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS), Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100).....	62

Resim	Sayfa
Resim 4.10. 500 mg/kg/günDBP + Resveratrol uygulanan gruptaTuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Peg hücresi (P), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapılarıizleniyor (Hematoksilen – EozinX400)	63
Resim 4.11. 1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS),Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100).....	64
Resim 4.12. 1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Peg hücresi (P),Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)	65
Resim 4.13. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson's TrikromX100)	66
Resim 4.14. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson's TrikromX400)	67
Resim 4.15. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100)	68
Resim 4.16. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX400)	69
Resim 4.17. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100)	70
Resim 4.18. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX400)	71
Resim 4.19. Çözücü (CMC) uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100).....	72

Resim	Sayfa
Resim 4.20. Çözücü uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX400)..	73
Resim 4.21. 500 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100).....	74
Resim 4.22. 500 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX400)	75
Resim 4.23. 1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100).....	76
Resim 4.24. 1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda epitel (EP), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMS) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX400)	77
Resim 4.25. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikor X400).....	78
Resim 4.26. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikor,X400).....	79
Resim 4.27. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikorX400).....	80
Resim 4.28. Çözücü (CMC) uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda sitokrom-c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikor X400).....	81
Resim 4.29. 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor	82
Resim 4.30. 1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun Tuba Uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- cX400)	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
APAF –1	Proteaz aktive edicifaktör
BBzP	Bütilbenzil fitalat
CMC	Karboksimetil selüloz
CORT	Kortikosteron
COX	Siklooksijenaz
Cu,ZnSOD	Süperoksit dismutaz
DBP	Di-n-bütil fitalat
DEHP	Di-2-hekzil fitalat
DEP	Dietil fitalat
DES	Dietilstil Bestrol
E₂	17-β-östradiol
ERα	Östrojen Reseptör α
ERβ	Östrojen Reseptör β
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GAD65	Glutamat dekarboksilaz
NO	Nitrik Oksit
OH	Hidroksil Radikali
PAE	Fitalik Asit Esterleri
ROS	Reaktif Oksijen Radikalleri
SIRT	Sirtuinler
SRY	Testis Belirleyici Faktör
TCDD	2,3,7,8 -tetraklorodibenzo-p-dioksin

1. GİRİŞ

Di-n-bütil fitalat (DBP) dünya genelinde çok çeşitli alanlarda plastikleştirici olarak kullanılan bir fitalik asit esteridir. Kararsız kimyasal yapısı nedeniyle ve kullanım koşullarına bağlı olarak plastik malzemelerden çevreye sürekli yayıldığı için yaygın çevre kirleticilerinden biridir. Endojen östrojeni taklit edip östrojenik etki gösterdiğinden üreme sağlığında hasarlar oluşturur ve ovaryum, meme, endometriyum kanserleri gibi hormonal uyarımla gelişen kanserleri tetikler. Peroksizom sayısını arttırma, hepatositleri çoğaltma ve buna bağlı karaciğer büyümesi geliştirme, kandaki trigliserit düzeyini düşürme, vücut ağırlığındaki artışa koşut olarak depresyon oluşturma, birçok enzimi ve enzim yolaklarını uyarma gibi zararlı etkileri de bulunmaktadır [1,2].

DBP günlük yaşamda çok sık karşılaşılan, hava ve su gibi kaynaklarda bile bulunan bir kimyasaldır. Gıda ambalajlarında, ilaç kaplamalarında, tıbbi malzemelerde, boya, vernik ve cilalarda, cam malzemelerde, kozmetik ürünlerde, oyuncaklarda, emzik ve biberonlarda, plastik içeren her yapıda bulunur [2].

DBP yalnızca yetişkinlikte değil, fetal dönemde ve puberte öncesi dönemlerde de bireyleri ciddi şekilde etkilemektedir. Gebelikte etkin kalınan DBP'nin annede kilo kaybı, bebekte ise eksensefali, spinabifida, iskelet anomalileri ve anoftalmi gibi gelişimsel bozulmalara neden olduğu belirtilmiştir [3,4,5].

Çok çeşitli doku ve organlarda zararlı etkinlik gösteren DBP, dişi üreme sistemini de olumsuz yönde etkilemektedir. Östrojen hormonu gibi davranarak, östrojen hormonunun reseptörlerine bağlanır ve bu nedenle östrojen hormonunun reseptörlerine bağlanmasına engel olur. Ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron miktarlarını azaltır. Dişi sıçanlarda gebelik oranını azalttığı bilinmektedir. Uterusta endometriyal hücrelerin çoğalmasını baskılayarak desidualizasyonu azaltır. Endometriyal kalınlık artışını uyararak endometriyozise neden olabilir. Buna neden olan mekanizma, DBP'nin bir immün toksin gibi davranması sonucu, endometriyumun steroidlere tepkisini bozmasıdır [6,7].

Gamet taşınması, fertilizasyon ve embriyonun erken gelişimi açısından kritik bir öneme sahip olan tuba uterina, tüm bunların olaylanmasını sağlayan biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler gösterir. Bu değişikliklerin ovaryum steroidleri ve bunlar arasında da en çok östrojenlerce düzenlendiği belirlenmiştir. Fitalatların östrus döngüsünde oluşturduğu değişim ve dalgalanmalar bu mekanizmaları etkileyebilmektedir. Fitalatların oluşturduğu oksidatif stresin tubal faktör infertilitesinde ve açıklanamayan infertilitede önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Fitalat içeren yapılardan biri olan pestisitlerin fertilitiyi azalttığı, ani düşüklere ve prematüre doğumlara neden olduğu ortaya konmuştur [8,9,10].

Her geçen gün daha fazla odak tarafından etkin kaldığımız kimyasalların yarattığı bu toksisiteye karşı koruyucu etkisi olan ve oral yolla tüketilen doğal, antioksidan maddeler bulunmaktadır.

Resveratrol "*Polygonum cuspidatum*" bitkisinin köklerinin kurutulup, toz haline getirilmesi yolağı ile drajeler şeklinde kullanıma sunulan güçlü bir antioksidandır. Kalp ve karaciğer hastalıkları, hipertansiyon, damar tıkanıklığı, alerji, deri yangısı gibi hastalıkların tedavisinde geçmişten günümüze kullanılmaktadır. Bugün aynı zamanda tümör ve kanser gelişimi, enflamasyon, *Helicobacter pylori*'nin baskılanması, denetimsiz damar oluşumunun ve trombosit birikiminin engellenmesi, kalp – damar hastalıkları konusunda yapılan çalışmalarda da koruyucu etkileri olduğu ortaya konmuştur [11].

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda öncelikle DBP'nin dişi genital sistem organlarından biri olan tuba uterina üzerinde olası dejeneratif etkilerini araştırmayı planladık. Oluşabilecek bu dejeneratif etkiler üzerinde ise resveratrolün koruyucu etkisini gözlemlemeyi amaçladık. Doku elemanlarındaki histolojik değişimler üçlü boyama ve immünohistokimyasal olarak da sitokrom- c antikoru ile ışık mikroskopi düzeyinde değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tuba Uterina'nın Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti, oositi dölleyen spermin taşıdığı kromozom yapısına bağlı olarak, fertilizasyon sırasında belirlenmiş olsa da gelişimin 7. haftasına kadar dişi ve erkekteki cinsiyet bezlerinin görünümü birbirinin benzeridir. Bu nedenle bu evreye 'farklanmamış evre' adı verilir [12].

'Gonadlar' olarak bilinen cinsiyet bezlerinin üç temel kökeni vardır. Embriyonik bağ dokusu, mezodermal epitelyum (kölom epiteli) ve primordial germ hücreleri. Gonadlar gelişimin 5. haftasında mezonefrozun medial kenarındaki Kölom epitelinin çoğalıp kalınlaşması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla bir çift sırt şeklinde görülürler. Bu ilk aşamalarına 'gonadal sırt' adı verilmektedir. Gonadal sırtlar, mezonefroz ile dorsal mezenter arasında, orta çizginin her bir kenarında, longitudinal gelişen bir çift kabartı şeklinde görülürler ve 6. haftanın sonuna kadar germ hücresi içermezler [12].

Primordial germ hücreleri embriyonik gelişimin 21. gününden itibaren vitellus kesesinin allantoise yakın duvarındaki endodermal hücrelerden gelişmeye başlarlar. Bu hücreler gelişimin erken dönemlerinde ilkel çizginin (Primitive streak) yanındaki ekstraembriyonik dokular ile bunların bağlandığı saptta bulunurlar. Burada erken gelişim süresince somatik hücrelerin büyük bir kısmını etkileyen uyarıcı etki yaparlar.

Vitellus kesesinin dorsal parçası embriyonun sefalokaudal yönde katlanması sonucunda embriyo içerisine girer. Bu olaylanırken primordial germ hücreleri arka bağırsağın mezenter boyuncası, ameboid hareketlerle ilerleyerek 5.haftanın başında ilkel gonadlara ulaşırlar. Bu aşamada ilkel gonadlar, embriyonun lumbal bölgesinde yer almaktadırlar. Primordial germ hücreleri 6.haftada gonadal sırtta ulaşırlar. Ulaşamamaları durumunda gonadlar gelişemez (sterilite). Primordial germ hücrelerinin izledikleri bu yola germ hattı denilmektedir [12].

Primordial germ hücrelerinin gonadal sırtlara gelmelerinin etkisiyle çoğalan kölom epiteli, primordiyal germ kordonlarını oluşturur. Primordiyal germ kordonları ise kısa sürede alttaki mezenşim dokusu içine doğru büyüyerek dışta korteks, içte medulla bölgelerini şekillendirir. Bu evrede 'farklanmamış gonad' adını alan gonadların hangi cinsiyete farklanacağını belirleyen, embriyonun Y kromozomu içerip içermeme durumudur. Embriyo XX germ kromozomuna sahip ise gonadal sırtın korteksi gelişerek ovaryuma farklanır ve medulla geriler. Embriyo'nun XY germ kromozomuna sahip olma durumunda ise medulla gelişerek testise farklanır ve korteks bölgesi dejenere olur [12].

Embriyonun cinsiyeti, taşıdığı germ kromozomuna göre fertilizasyon sırasında belirlenmektedir. Cinsiyetin erkek olmasını sağlayan, Y kromozomu üzerindeki SRY genidir. Bu gen, içeriğindeki Testis Belirleyen Faktör (TDF) ile testiküler farklılaşmayı yönlendirir [12,14].

Ayrıca gonadal sırtın ovaryuma farklanmasında, dişi cinsiyet gelişimin sağlanmasında Wnt4 büyüme faktörünün büyük rolü vardır. Postnatal evrede gözlenen Wnt4 mutasyonlu erkeklerde gelişim normal seyrederken, Wnt4 mutasyonlu dişilerde erkek yönde gelişim karakterleri belirlenmiştir. Farklanmamış evrede her iki cinsiyetin de gonadlarında görülen Wnt4, gonadın erkek cinsiyeti olarak gelişmesiyle birlikte geriler. Dişilerde ise X kromozomunun kısa kolu üzerindeki DAX1 genini uyararak SF1 salınımını düzenler. Böylece Sertoli ve Leydig hücrelerinin gelişimi baskılanır. Wnt4 aynı zamanda oositlerin korunmasını ve paramezonefrik kanalın gelişimini sağlar. Cinsiyete bağlı gonadal kan damarlarının oluşumunda, cinsiyete bağlı hücre göçünün baskılanmasında, steroidogeneziste görev alır [13,15].

Wnt4 aşağıdaki yolları kullanarak embriyonik gelişim üzerinde etkili olmaktadır:

- a) Cinsiyetin belirlenmesinde Wnt4 yolağı; Dişi gonadlarda Wnt4 ifadenmesi, Sox 9 ve Fgf 9 genlerinin ifadenmelerini baskılayarak ovaryumun gelişmesini uyarır. Erkek gonadlarda ise Wnt4 baskılanır, böylece Sertoli hücrelerinin farklanması gerçekleştirilir. Bu olay erkek gonadlarda, Sry geninin Sox 9 ve Fgf

9 genlerinin ifadenmesini teşvik etmesine bağlı olarak E2f-1 gen ifadesinin artması sonucu gerçekleşmektedir.

- b) Paramezonefrik kanalın (Müllerian kanalının) oluşumunda Wnt4 yolağı; Dişilerde Wnt4 ifadenmesini sağlayan, mezonefrik mezenşimdeki Wnt9b genidir. Wnt4 ifadenmesi JNK genini uyarır. Fosforilasyon aşamalarını uyarıcı etkiye sahip JNK geni ise Pax2 genini aktive eder. Pax2'nin aktive olması Wnt4 salınımını korur ve Wnt4'e geri bildirim yapılmasını sağlar. Erkeklerde ise Wnt4, Wnt7a genini baskılayarak var olan yolağı engeller ve paramezonefrik kanalların oluşumunu baskılar [16].
- c) Cinsiyete bağlı gonadal kan damarlarının oluşumunda Wnt4 yolağı; Dişilerde Wnt4, Aktivin b gen ifadenmesini doğrudan baskılayarak kölomik vetestiküler kan damarı oluşumunu engeller. Erkeklerde ise Sox 9 ve Fgf 9 genlerinin ortak etkisiyle Wnt4 baskılanır ve Aktivin b geni uyarılır. Böylece testiküler damarlanma olayı gerçekleştirilir [16].
- d) Steroidogeneziste Wnt4 aktivitesi; Erkeklerde Sry geni Sox 9 genini aktifleştirerek testislerin ve Leydig hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Bu yapılar da majör androjen kaynakları olarak steroid yapılı androjen hormonunu üretirler. Dişilerde ise doğrudan bir steroid kaynağı bulunmamaktadır. Wnt4, DAX1 genini uyararak steroid üreten dokuların gelişimini ve işlevlerinin düzenlenmesini sağlar. SF1'in ifadenmesini arttırarak da steroidojenik enzimlerin üretimini ve adrenal bezlerin gelişimini gerçekleştirmiş olur [16].

Erkek ve diş embriyonun gonadlarında, farklılaşmamış evrede, Paramezonefrik Kanal (Müllerian kanalı) ve Mezonefrik Kanal (Wolfian kanalı) olmak üzere iki çift genital kanal vardır. Mezonefrik kanallar, her iki cinsiyette de mezonefrik böbreklerden idrarın taşınmasını sağlarlar. Gelişimin ilerleyen evrelerinde diş fetüslerde rudimenter birkaç kalıntı dışında tamamen yok olurlar. Genital gelişim açısından, dişilerde Paramezonefrik kanal, erkeklerde ise Mezonefrik kanal önemli bir yere sahiptir. Diş embriyolarda Leydig hücreleri tarafından sentezlenen testosteron bulunmadığı için mezonefrik kanallar geriler. Aynı zamanda sertoli

hücrelerince salgılanan Müller Baskılayıcı Madde (MIS) yokluğu nedeniyle de paramezonefrik kanallar gelişir [12].

Gelişimin 4.haftasında mezonefrik kanalın cranial son kısmının, ürogenital sırtın anterolateral yüzündeki kölom epitelini etkilemesi sonucu bu epitelin longitudinal olarak içe çökmesiyle Paramezonefrik kanal oluşur. Yapılan deneysel çalışmalar paramezonefrik kanalın gelişmesinin mezonefrik kanala bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. Mezonefrik kanal çıkarıldığında paramezonefrik kanalın gelişemediği görülmüştür [12].

Paramezonefrik kanal, üst ucundan kranial huniye benzeyen bir başlangıç parçası (abdominalostium) ile kölom boşluğuna açılır. Aynı zamanda alt ucu mezonefrik kanalın lateralinde kaudal yönde uzanır ve onu önde ventral olarak çaprazlayarak kaudomedial yönde gelişimini sürdürür [12].

8. haftada paramezonefrik kanalların son kısımları, ürogenital sinusun posterior yüzeyinde, median bir planda kaynaşarak Y şeklinde, kör sonlanan uterovajinal primordiumu (kanalı) oluşturur. 9. haftada bu kör sonlu uterovajinalkanal, uterovajinal sinusun posterior duvarı ile değinir. Değinme noktası mezonefrik kanalların ürogenital sinusa açıldığı yerler arasındadır. Bu noktadaki ürogenital sinus duvarında Sinus (Müller) tepesi denilen bir çıkıntı oluşur [12].

Erkek cinsiyet karakterinin gelişimi açısından testosteron varlığına gereksinim duyulurken dişi cinsiyetin gelişimi için ovaryumların ya da hormonların varlığına gereksinim yoktur. Çünkü dişi bireylerde esas genital kanallar paramezonefrik kanallarca oluşturulurlar [12].

Başlangıçta her kanal üç farklı kısımda incelenebilir;

- a) Karın boşluğuna açılan kranial vertikal kısım
- b) Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal kısım
- c) Karşıdan gelen eşiyle birleşen kaudal vertikal kısım [12,13].

Tuba uterina, overlerin aşağıya inmesiyle birlikte, paramezonefrik kanalın karın boşluğuna açılan ve mezonefrik kanalları çaprazlayan kısımlarından gelişmektedir.

Bu kanalların kaudal kısımları da kaynaşarak uterus kanalını oluştururlar. Paramezonefrik kanalların karın boşluğuna açılan açık üst uçları tuba uterina'nın fimbriyalarını oluştururken karın boşluğuna açılan parçanın diğer kısımları da tuba uterinanın, infundibulum ve ampullasını şekillendirir. Kanalin mezonefrik kanalı çaprazlayan horizontal parçası ise isthmusu oluşturmaktadır. Tuba uterina'nın stroması ve kasları ise endometriyal stroma ve myometriyum ile komşuluğundaki splanknik mezodermden köken alır [13].

Tuba uterina gelişimi prenatal evrenin 16. – 20. Haftalarında gerçekleşir. Başlangıçta dikey olarak yerleşim gösteren tuba uterinalar, uterusun gelişmesiyle karın boşluğu içine doğru hareket ederek horizontal biçimde yerleşirler. 4. ve 5. aylarda ise belirgin olarak büyürler. Belirgin şekilde boyları uzar, fimbriyaları gelişir, stroma ve kas katmanları farklanır. Tüplerin lümenlerinin ve toplam çaplarının gelişimi 2.trimester sonunda başlayıp 3.trimester sonuna dek devam eder. 12. haftada yarık biçimli bir lümene sahip olan tuba uterinalarda, mukoza 15. Haftada lümene doğru hafif katlantılar göstermeye başlar. Lümen epiteli de tek katlı prizmatik epitelden yalancı çok katlı epitele farklanır. 20-31. haftalarda mukoza katlantıları artar ve epitelde kinosilyalı hücreler görülmeye başlanır. Tunika muskularis katmanının kalınlığı postnatal evrede de artmaya devam ederken tunika seroza kalınlığında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir [17,18].

Paramezonefrik kanalların orta hatta birleşmeleriyle pelvis içinde enli bir katlantı oluşur. Bu katlantı, paramezonefrik kanalların lateralinden pelvis duvarına doğru uzanmaktadır ve Uterusun Broad (kalın) Ligamenti adını alır. Ligamentin üstünde tuba uterina, arkasında ise overler bulunmaktadır. Bu olayla eşzamanlı olarak uterorektal ve uterovesikal çukurlar oluşur. Kaynaşan paramezonefrik kanallardan uterusun korpusu ve serviksi gelişirken bu yapıların çevresinde de uterusun myometriyumu ve perimetriyumunu oluşturan bir mezenşim tabakası bulunmaktadır. Myometriyum uterusun kas tabakasını, perimetriyum ise uterusun peritoneal örtüsünü oluşturan yapılardır [13].

Dişilerde bazen kranial ve kaudal boşaltım kanallarına ait bazı artıkların mezovaryumda kaldıkları görülebilmektedir. Kranial kökenli artıklar epoforon

olarak isimlendirilirler. Bunların ovaryum ile tuba uterina arasında yerleştikleri görülür. Kaudal kökenli olanlarına ise paroforon denilmektedir. Bu artıklar ise uterusu yakın yerlerde lokalize olurlar. Mezonefrik kanalın duktus deferens ya da ejakülatör kanala karşılık gelen kaudal kısımları vajina veya uterus duvarı boyunca kalın ligament katmanları arasında ‘Gartner kanalı’ olarak kalıcı olabilir. Bunlar yaşamın daha sonraki bir döneminde Gartner kistlerini oluştururlar [13].

Ayrıca paramezonefrik kanalın, tuba uterina’nın infundibulumuna katılmayan kranial sonundan, Morgogni hydatiği adı verilen vesiküler yapılar gelişebilir [12].

Tuba uterina’nın konjenital malformasyonları çok yaygın değildir. Varlıkları gözlemlenen bir kaç tipi, hidatik kistler, uterus yokluğu ile birlikte görülebilen bir ya da iki tüpün hiç olmaması, genellikle lümensiz olmaları sebebiyle rudimenter gelişen tüpler, tüp duplikasyonu, iki açıklığa sahip olan çift ostialı tüpler, müsküler tabakası olmayan tüpler ve aksesuar tüpler olarak incelenebilir [12].

2.2.Tuba Uterina’nın Anatomisi

Tuba uterina’lar, Latince Oviductus, Yunancada Salpinx olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca kendisini ilk tanımlayan İtalyan tıpçı Gabriella Fallopi’nin anısına Fallop tüpleri olarak da isimlendirilirler.

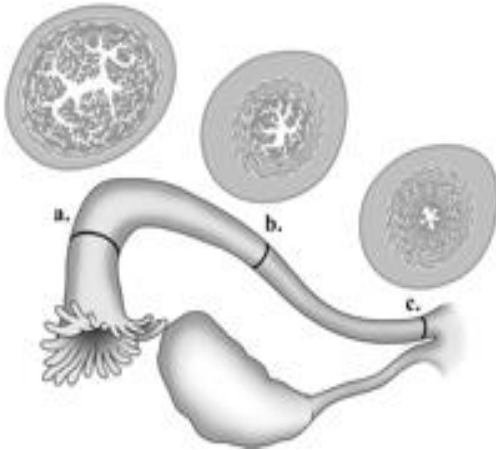
Tuba uterinalar ovaryumun üst ucuyla uterusun fundusu arasında uzanır. Tüp biçiminde, sağda ve solda bulunan bir çift organdır. Uzunluğu yaklaşık 10 – 16 cm, çapı ise 3 – 8 mm’dir. Tüp şeklindeki bu organın iki açıklığı vardır. Uterusa açılan bölümüne “ostium uterinum tubae uterinae”, karın boşluğuna açılan bölümüne “ostium abdominale tubae uterinae” denilmektedir. Uterusa açılan bölüm oldukça dardır, karın boşluğuna açılan bölüm ise 3 mm’ye kadar genişleyebilmektedir [19].

Tuba uterinanın infundibulum kısmı dışındaki bölümleri “ligamentum litumuteri”nin serbest kranial kenarında bulunmaktadır. Ligamentum litum uteri, uterus ile pelvisin lateral duvarları arasındaki çift yapraklı peritondur. Tuba uterinaya komşu olan bölgesi “mesosalpinx” (tuba uterinanın mezenteri) olarak adlandırılır. Bu kısım lig. latum uterinin en hareketli kısmıdır, dolayısıyla tuba uterina da hareketlidir [19].

Tuba uterina lümeni, cavitas uteri ile cavitas peritonealis'i birleştirerek pelvis boşluğuna atılan oositin uterusu doğru taşınmasını sağlar. Tuba uterina'nın uterusu yakın olan bölümü transvers olarak önce dışa sonra da dorsokraniale uzanıp ovaryumun kraniyal ucuna ulaşır. Daha sonra da içe ve kaudale yönelerek ovaryumun kraniyal kenarını sarar [19,20].

Her bir tuba uterina, uterusu açıldığı yerden periton boşluğuna doğru olacak şekilde şu dört kısımda incelebilir [21].

- 1) Pars uterina, uterus duvarı içerisinde uterus lümenine uzanan kısa parça,
- 2) İsthmus tuba uterina, kısa ve kalın duvarlı parça,
- 3) Ampulla tuba uterina, uzun ve ince duvarlı parça,
- 4) İfundibulum tuba uterina, proksimalinde fimbriyaların bulunduğu parça.



Şekil 2.1. İnsan tuba uterinası şematik gösterimi [21].

a) İfundibulum b) Ampulla c) İsthmus

2.2.1. Pars uterina (intramural parça – pars interstitialis)

Uterusun üst köşesinden uterusu girip uterus boşluğuna açılır. Bu yolu izlerken uterusun kalın olan miyometriyum tabakasından geçer ve ostium uterinum tuba uterinae açıklığını kullanır. Yaklaşık 1 cm uzunluğunda ve 0,5 cm çapındadır. Tuba uterinanın intramural parçası dışında diğer parçaları periton ile örtülüdür. Periton, erkeklerde tam bir kıvrımlı kese halindeyken dişilerde intramural parçanın peritona açılıyor olması peritonun bu kapalı kese özelliğini kaybettirir.

2.2.2. İsthmus tuba uterina

Bu parça uterusun fundus bölümünün yan köşesinden [cornu uteri'den] uterusu girer. Tuba uterinanın en dar kısmıdır. Kalınlığı 3-4 mm, uzunluğu 2- 2,5 cm'dir.

2.2.3. Ampulla tuba uterina

S harfi şeklinde kıvrımlıdır. Tuba uterinanın en uzun parçasıdır. Organ uzunluğunun 2/3'sini oluşturur. Uzunluğu yaklaşık 7cm, çapı 5–10 mm'dir. Bu parçanın lümeni geniş ve duvar kalınlığı incedir. Dikey olarak yukarıya doğru ilerleyen bu parça, önden arkaya doğru basıktır. Fertilizasyonun gerçekleştiği yerdir.

2.2.4. İfundibulum tuba uterina

Huni şeklindedir. Tuba uterinanın en geniş parçasıdır. Organın lateralinde yer alır, ovaryuma yakındır. Ostium abdominal tuba uterina deliğiyle periton boşluğuna açılır. İfundibulum yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda, ovaryum yüzeyine doğru uzanan “fimbria tuba uterina” adı verilen 12–15 adet saçak şeklindeki uzantıyla son bulur. Bu uzantılardan biri diğerlerinden daha uzundur. Bu saçak “fimbria ovarica” olarak adlandırılır. Fimbria ovarica, ovaryumun üst ucuna (extramitas tubaria) tutunur ve ovulasyon sırasında ovaryumdan dışarı atılan ovumun tuba uterina içine alınmasını sağlar [19,22,23,24].

2.2.5. Tuba uterina'nın damarları

Tuba uterina'yı besleyen arterler a.uterinanın ramustubarius'u ile a.ovaricanın rami tubari dallardır. A.uterinadan gelen ve 'Sampson arteri' olarak da adlandırılan ramus tubarius, diğer dallardan daha kalındır. Cerrahi girişimlerde buraya özellikle dikkat etmek gerekir. Bu dal a. ovarica ile anastomoz yaptığı yerin hemen yakınında a. uterina'dan ayrılarak mesosalpinx'in iki yaprağı arasında tuba uterina boyunca, fimbriyalara kadar dal vererek uzanır.

Tuba uterina'nın 2/3'lik medial kısmı a. uterina tarafından, 1/3'lik lateral kısmı ise a. ovarica tarafından beslenir.

Venler de arterlerle birlikte yayılım gösterirler. Venlerin bir bölümü v. ovarica'daki plexus ovaricus'a; bir bölümü de v. uterina'ya dökülür.

Tuba uterina'daki lenf damarları ovaryum ve fundus uteriden gelen lenfatik damarlarla birlikte, lumbal bölgedeki aortik lenf nodülleri olan nodi lymphatici lumbales ve sonrasında nodi lymphatici laterales' e açılır [22,23].

2.2.6. Tuba uterina'nın sinirleri

Arteria ovarica ve a. uterina boyunca gelen sempatik ve parasempatik sinirler, plexus ovaricus ve plexus uterovaginalis ile tuba uterina' ya taşınırlar.

Parasempatik sinirlerden nervus vagus'a ait olanlar tuba uterina'nın dış yarımına, nervus splanchnicus'a ait olanlar iç yarımına dağılırlar.

Afferent sinir lifleri ise 11.ve12. torakal ve 1.lumbar sinirler aracılığıyla medulla spinalis'e taşınırlar [22,23].

2.3. Tuba Uterina'nın Histolojisi

Tuba uterina, içten dışa doğru tunika mukoza, tunika muskularis [kas tabakası] ve tunika serosa olmak üzere 3 histolojik tabakadan oluşmaktadır.

2.3.1. Mukoza tabakası

Bu tabaka, lümeni döşeyen epitel ve lamina propria'dan oluşur. Tuba uterina lümeni intramural parçadan fimbriyalara kadar, baştan sona mukoza ile kaplıdır. Mukozanın altında, lümene doğru çıkıntılar yapan lamina propria bulunur. Mukoza bu çıkıntılara uyum sağlayarak tuba lümeni içerisinde 'mukoza pilileri' oluşturur. Bu yapısı sebebiyle lümen enine kesitlerde labirent şeklinde görülür. Boyları 1 -14 mm arasında değişen mukoza pilileri infundibulumdan başlayarak uterusu kadar

uzanır. Bu katlantıların sayısı bulundukları bölgeye göre değişiklik gösterir. Ampullada longitudinal gözlenen katlantılar, uterusu doğru gidildikçe açılır, daha ince ve yassı bir yapı gözlenir ve daha az sayıda dallanma yaparlar [25 - 29].

Katlantılarda görülen dallanmalar tuba uterina lümeninde mukoza yüzeyinin arttırılmasını sağlarlar.

Tuba uterina mukozası ve lamina propriası, ovaryal hormonlara karşı duyarlıdır. Mukozanın şekli ve yapısı ovumun yakalanması, ovum ve zigotun uterusu iletilmesi bakımından fizyolojik olarak önem taşır. Katlantılar ve mukozanın yapısında olaylanan bir değişiklik, ovumun yakalanması ve iletilmesi görevini engelleyebilir. Kronik salpinjitte olduğu gibi, mukozanın bazı enfeksiyonlarında pililer katlanarak yalancı bezleri (psödogland) oluşturur. Bu durumda direnaja olmayacağından hidrosalpinjitis meydana gelir. Bu da mukozanın tamamen zarar görmesine neden olur. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki tuba ligasyonundan sonra, proksimal parçanın ucunda dilatasyon olaylanır. Mukoza şekil ve yapısını korusa bile katlantılar birbirinden uzaklaştığından, tuba uterina fonksiyonunda azalma oluşacaktır. Ayrıca bu bölgede tubal poliplerin şekillendiği gösterilmiştir.

2.3.2. Epitel

Tuba uterina epiteli, tek katlı prizmatik epiteldir. Kinosilyalı hücreler ve salgı yapıcı hücreler olmak üzere başlıca iki tip hücre içerir. Epiteli oluşturan bu hücrelerin dağılımı ve miktarı tuba uterina'nın farklı bölgelerine ve hormon düzeylerine bağlı olarak değişir. Bu hücreler menstrüel döngüde, gebelikte, doğumda ve ekzojen hormonların etkisi altındayken histolojik ve morfolojik olarak değişmektedirler. Menstrüel siklusun foliküler fazındayken hipertrofiye, luteal fazdayken atrofiye uğrarlar. Hormonal değişime bağlı olarak hücrelerin birbirlerine oranı da değişmektedir. Progesteron artışı salgı hücrelerinin sayısını, östrojen artışı ise kinosilyalı hücrelerin sayısını arttırmaktadır. Kinosilyalı hücreler fertilize olmuş yumurtanın implantasyon için uterusu taşınmasını sağlarlar. Salgı hücrelerinin apikal kısımları sekresyon ürünleriyle dolu olduğundan genişlemiştir. Bu alanda yer alan salgı maddeleri spermin kapasitasyonunu sağlar ve spermatozoanın beslenmesine olanak sağlayacak şekilde besince zengindir. Ovulasyon sırasında

yüksekliği 30 μm 'ye ulaşabilen epitel, menstrüasyonun başlamasından hemen önce 15 μm uzunluğa kadar geriler.

Epitelin boyu uterusu doğru gidildikçe alçalır. Salgı (sekretuar) hücrelerinin sayıları ise isthmusa doğru artar.

Menstürel döngünün proliferatif evresinde epitel hücreleri uzun ve silindiriktir. Silli hücreler gözlenir. Sekretuar evrede ise epitel boyları alçalır. Bu evrede hücreler silindirik veya kübiktirler. Salgı hücreleri (Peg hücreleri) sayıca çoğalırlar. Geç proliferasyon evresinde kinosilyalı hücreler fimbriya ve ampullada yoğun olarak ve yüksek boylarda bulunurken isthmus ve intramural bölgelerde daha az sayıda gözlenir. Erken sekresyon evresinde ise ampulla ve isthmus'ta kinosilyalı hücrelerin sayısındaki artış maksimumdur. Sekresyon evresinde hücrelerin boyları kısalır. Folliküllerin olgunlaştığı ve dolaşan östrojenin en yüksek noktaya ulaştığı foliküler evrede epitelin boyu da en yüksek duruma ulaşır. Gebeliğin olaylanmasıyla birlikte silyalı hücrelerin boyları en kısa duruma iner [18, 26 - 31].

2.3.3. Silyalı (kinosilyalı) hücreler

Yükseklikleri yaklaşık 30 μm , genişlikleri 12 μm olan, sitoplazmaları açık renk boyanan hücrelerdir. Her hücre lümene bakan apikal yüzünde boyları 5-7 μm arasında değişen yaklaşık 50 adet kinosilya içerir. Sayıları infudibulumda fazlayken intramural kısma gidildikçe azalır.

Hücrelerin çekirdekleri, hücrenin ortasında ya da apikale yakın olacak şekilde yerleşim gösteren oval yada yuvarlak şekilli çekirdeklerdir. Ökromatik özelliktedirler. Sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulum kanalları az, granülsüz endoplazmik retikulum sisternaları daha çoktur. Çok sayıda enine kristalı mitokondriyon ve filament içerirler. Çekirdek yakınında multiveziküler cisimler ve sentriyoller belirgindir. Sillerde bazal cisimcikler gözlenir [25,26,29, 32,33].

Kinosilyaların hareketleri genelde uterusu doğrudur. Bazı silyalar da ovaryuma doğru süpürme hareketi yaparak spermilerin oosite ulaşmasını kolaylaştırır.

Silyaların uterusu doğru hareketleriyle tuba uterina lümeninde bulunan salgı, oosit ya da zigot uterusu doğru taşınır. Bu hareket uterusu periton boşluğuna doğru mikroorganizmaların geçişini de engeller [26].

Sillerin boy ve sayıları hormonlar tarafından denetlenir. Folikülogenez evresinde östrojen hormonu düzeyindeki artışa bağlı olarak bu hücreler büyürler ve silyaların sayısında artış olur. Bu olay silyogenez olarak adlandırılmaktadır. Bu evrede artan östrojen, sil hareketini (başak gibi dalgalanma hareketi) artırır. Böylece foliküler evrede oositin ya da zigotun taşınması için gerekli ortam sağlanmış olur. Lutealiz sırasında progesteron hormonu etkisiyle silli hücreler sillerini kaybederler. Bu olay ise desiliasyon olarak adlandırılmaktadır. Folikülogenez evresinde fimbriya bölgesindeki silli hücre oranı ortalama % 48 iken luteal evrede, aynı bölgedeki oran yaklaşık % 4 olarak belirlenmiştir [26,29, 32 - 35].

2.3.4. Salgı hücreleri (Peg hücreleri)

Silyasız, salgı yapıcı (sekretuvar) hücrelerdir. Prizmatik şekillidirler ve silyalı hücrelerden hem daha küçüktürler hem de sayıları daha azdır. Hücrenin ortasında ya da bazaline yakın yerleşim gösteren oval şekilli çekirdekleri bulunur. Bu çekirdekler Hematoksilen–Eozin boyaması sonucunda silyalı hücrelere göre daha koyu renk boyanırlar. Ayrıca salgılarını lümene veren hücreler oldukları için sitoplazmaları da salgı granülleri içerir. Bu nedenle sitoplazmaları koyu renktir. Peg ya da Çivi hücreleri olarak isimlendirilmelerinin nedeni sitoplazmalarında biriken salgılar nedeniyle şişerek diğer hücrelere baskı yapmaları ve bu nedenle sanki epitele sokulmuş çiviye benzer bir görünümünün olmasıdır. Armut ya da fıçı şeklinde de görülebilirler. Özellikle luteal evrede bu durum daha da belirginleşir. Bu hücrelerin lümene bakan apikal yüzeylerinde elektron mikroskobu ile gözlemlenebilen mikrovilluslar da bulunmaktadır.

Aktif salgılama yapan bu hücrelerin, düz endoplazmik retikulumdan daha çok granüllü endoplazmik retikulumları vardır. Özellikle apikal sitoplazmada gözlenen çok sayıda mitokondriyon ve serbest ribozom içerirler. Çekirdek üzerindeki bölgeye yerleşmiş, iyi gelişmiş birer Golgi kompleksleri, birçok salgı vezikülleri,

birkaç lizozomları ve apikal mikrovillusları vardır. Mitokondri sayıları kinosilyalı hücrelerin mitokondrilerinden fazladır [28].

Peg hücrelerinde oluşturulan salgı, tuba uterina'daki oositin zona pellusida'sına bağlanır. Bu salgının varlığı ve tuba uterina'nın kas tabakasındaki katlanmalar sonucu, oosit ya da zigot, uterusu taşınmaktadır. Peg hücrelerinin salgısı aynı zamanda spermiyumların tuba uterina'da yaşayabilmesinde, spermiyum kapasitasyonunun gerçekleşmesinde, spermin zona pellusidaya girmesi gibi fertilizasyon öncesi olayların düzenlenmesinde ve gelişimin erken evresinde zigotun beslenmesinde de rol oynar [26,29,34].

Salgı üretimi ve tüm bu olayların gerçekleşebilmesi hormonal denetim altındadır. Proliferasyon evresinde artan östrojen düzeyine bağlı olarak apikal granül oluşumu uyarılırken, sekresyon evresinde progesteron, östrojenin bu etkisini baskılayarak hücrenin salgısını lümene boşaltmasını sağlar. Menapoz dönemindeki kadınların ve ovaryumları çıkarılmış Rhesus maymunlarının tuba uterina mukoza epitelinde atrofi ve silya kaybı olduğu, bu iki gruba östrojen uygulaması sonrası epitelin normal yapısına döndüğü ve silyaların yeniden biçimlendiğinin tespit edilmesi bu durumu kanıtlar niteliktedir [30,36].

Epitel hücreleri işlevleri ile uyumlu olacak şekilde özelleşmişlerdir. Hücrelerin yüksekliği ve sayıları bulundukları bölgeye ve menstural döngünün evrelerine göre farklılıklar gösterir. Proliferatif evrede, tuba uterina mukoza epitelinde kinosilyalı hücrelerin sayısında artış olurken sekresyon evresinde Peg hücrelerinin sayısında büyük bir artış vardır. Ovulasyon evresinde salgı hücrelerinin sayısı, ampulla ve isthmusta pre-ampullar bölgeye oranla daha fazladır. Özellikle isthmustaki hücrelerin çoğunluğu salgı hücrelerinden oluşmaktadır [37].

Tuba uterina boyunca farklı bölgelerde kinosilyalı hücrelerin salgı hücrelerine oranı infundibulumda %50 – 80, ampullada %33, isthmusta %25, intramural parçada ise %10 olarak saptanmıştır [32].

İsthmustan fimbriyaya doğru gidildikçe kinosilyalı hücrelerin sayısı artarken salgı hücrelerinin sayısı azalır. Fimbriyalarda kinosilyalı hücre sayısının fazla olması,

oositin tüp lümeni içine alınması ve taşınabilmesi bakımından çok önemlidir. Kinosilyalı hücre oranı %40'ın altına düştüğünde oosit taşınmasının gerçekleşmediği, bunun için kinosilyalı hücre oranının en az %60 olması gerektiği belirtilmiştir [38].

2.3.5. Lamina propria

Lamina propria, kan damarları, lenf damarları ve sinirlerce zengin gevşek bağ dokusu yapısındadır. Kollagen lifler, retiküler lifler ve bol miktarda mekik şekilli fibroblastları içermektedir. Bu tabakada histiyositler, mast hücreleri ve lenfositler de gözlenir. Bez bulunmamaktadır. Kan damarları özellikle fimbriya bölgesindedir. Düz kas demetleri, bu kan damarları arasında ağ şeklinde yerleşmiştir. Damarlara kan dolması ve düz kas demetlerinin kasılmasıyla fimbriyaların hareketi sağlanırken infundibulumun ağzı da ovaryum yüzeyi ile ilişki kurarak oositin tuba uterina lümenine alınmasını sağlar [18,26,32,35,39,40].

2.3.6. Tunika muskularis

İçte enlemesine (sirküler), dışta ise uzunlamasına (longitudinal) düzenlenmiş kas liflerinden oluşan düz kas katmanıdır. Bu iki katman birbirinden belirli bir sınırla ayrılmamıştır. Sirküler kas katmanı tuba uterinayı tamamen çevrelerken longitudinal kas katmanı kesintili yerleşim göstermektedir. Her iki kas tabakası da peristaltik hareketlerin oluşumunu sağlayarak ovumu uterusu doğru iterler. Bu hareket kandaki östrojen düzeyi ile paralellik göstermektedir. Longitudinal kas tabakasının kalınlığı uterusu gidildikçe artar. Sirküler tabakanın kalınlığının ise infundibulumdan isthmusa doğru gidildikçe arttığı görülmektedir.

Tunika muskularisin kas demetleri arasında, bol miktarda gevşek bağ dokusu ve kan damarları vardır. Bağ doku, ligamentum latum ile tunika seroza içine doğru yayılır. Kas katmanı dışında çok ince tunika subseroza bulunur [26,29,35].

2.3.7. Tunika seroza

Peritonun visceral yaprağı olan tunica seroza (peritoneum viscerale), gevşek bir bağ dokusu ve onu dıştan çevreleyen tek katlı yassı mezotel hücrelerinden oluşur.

Periton, intramural bölge dışında tüm tuba uterina'yı dıştan sarar ve bir periton bağ oluşturur. Tunica seroza'da büyük kan damarları görülmektedir [26].

2.4. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi

Dişi üreme sistemi erkeğinkinden farklı olarak düzenli döngüsel değişiklikler gösterir. Bu değişiklikler fertilizasyon ve gebelik için belirli aralıklarla yapılan hazırlıkları kapsar. Tüm bu döngüsel olaylar sırasında tuba uterina, ovulasyonla atılan oositin yakalanması, döllenmenin oluşması ve embriyonun ovaryuma implantasyonunda önemli işlevlere sahiptir. Bu süreçler hormonal denetim altında gerçekleşir.

Ovulasyon sırasında tuba uterinanın fimbriyalarındaki damarlar kanla dolarak şişer. Bu bölgeler kalın, sert ve gergin bir yapı kazanarak tuba uterinaların ovaryuma yaklaşmasını sağlarlar.

Ovulasyondan hemen önce tuba uterinalar ritmik şekilde kasılırlar. Uçlarındaki fimbriyalar da yapılarındaki silyalar sayesinde overlerden atılan oositi tuba uterina içine çekecek şekilde dalgalanmalar yaparak ovaryum yüzeyini süpürmeye başlarlar. İfundibulumun huni şeklini alması da serbest kalmış olan oositin tuba uterinaya aktarımını kolaylaştırır. Böylece oosit yakalanmış ve uterusu doğru iletilerek fertilizasyon için uygun ortam sağlanmış olur. Araştırmalar bu işlemin %98 oranında başarılı olduğunu göstermiştir. Bu olay uterus duvarı ve fimbriyaların ritmik düz kas hareketleri sayesinde gerçekleşir. Ayrıca tuba uterinadaki salgı da gelişmenin erken evrelerinde zigotun beslenmesine yardımcı olur [29,39,41,42].

Aynı zamanda spermiyumlar da ejakülasyonu izleyen 5-10 dakika içinde, tuba uterinadaki düz kasların kasılma hareketleri sayesinde, döllenmeyi gerçekleştirmek üzere tuba uterinanın ampulla bölgesine ulaşırlar. Bu taşınmanın gerçekleşmesinde tuba uterina içerisindeki silyalı hücrelerin sil hareketlerinin uterusu doğru olmasının rolü vardır. Foliküler evre sırasında sillerin hareketini arttıran östradiol olurken tuba uterinadaki kas hareketlerini düzenleyen hormonlar ise, hipofiz bezinin arka lobundan salgılanan oksitosin ve seminal sıvıdaki

prostaglandinlerdir. Döllenmenin gerçekleşeceği yere gelene kadar spermiyumlar kapasitasyonlarını tamamlarlar [13,18,41,42].

Oositin döllenebilmesi için spermiyumun önce korona radiatayı geçmesi, daha sonra oositi çevreleyen zona pellusidaya bağlanması ve penetre olması gerekmektedir. Bu penetrasyonla birlikte spermin başı hızla şişer ve erkek pronükleusunu oluşturur. Erkek pronükleusundaki haploid sayılı (23) kromozom ile dişi pronükleusunun haploid sayılı kromozomu bir araya gelerek döllenmiş ovumu (zigotu) oluşturur [13,41,42].

Gelişiminin ilk aşamasında olan zigot, uterusu implante olmadan önceki yaklaşık 3 günlük gelişimini tuba uterinalar içerisinde gerçekleştirir. Zigot burada birçok mitoz bölünme geçirir. Önce morula ve daha sonra yaklaşık 100 hücreden oluşan blastosist şekillenir. Embriyonun erken gelişiminde ve beslenmesinde tubal sıvının son derece önemli bir işlevi vardır. Bu sıvı aynı zamanda uterusu periton boşluğuna mikroorganizmaların geçişine de engel olur. Büyük bir kısmını Peg hücreleri tarafından oluşturulan sıvı, geri kalan bölümünü kan plazması, uterus ve periton boşluğu sıvıları ve ovulasyon sonrası folikül boşluğu sıvıları oluşturur. Tubal sıvı miktarı, kandaki östrojen düzeyine bağlı olarak menstürel döngünün farklı evrelerinde değişiklikler gösterir. Proliferasyon evresinde günde 0,3 ml olan sıvı, ovulasyon sırasında 20 ml'ye ulaşır ve menstruasyon sırasında 0,8ml'ye düşer. Bu süreç sonunda ovaryumlardaki korpus luteumdan salgılanan progesteron seviyesi arttıkça tuba uterinaların düz kasları gevşer, hareketleri azalır ve ovumun uterusu geçmesi sağlanır. Ovulasyonla birlikte başlayan kasılmalar menstruasyon sırasında pik yapar ve gebelikle birlikte azalır [18,41,42].

Benzer şekilde tuba uterina'nın epiteli de menstürel döngü boyunca farklılıklar gösterir. Epitelin kalınlığı menstürel döngünün başlangıcından ovulasyona kadar gittikçe artar. Erken proliferasyon evresinde alçak boylu prizmatik olan epitel hücreleri, geç proliferasyona gelindiğinde yalancı çok katlı epitelyum görünümündedir. Silyalı hücrelerin boyları uzar ve sayıları artar. Bu durum ovulasyonun hemen öncesinde en yüksek noktaya ulaşır. Peg hücreleri ise özellikle geç proliferasyon evresinde lümene doğru kabarık şekilde görünürler. Erken sekresyon evresinde daha çok ikili üçlü gruplar şeklinde görülen Peg

hücrelerinin sayıları, geç sekresyon evresinde artar. Ancak bu evrede boyları daha kısadır. Bu evredeki silyalı hücrelerin ise hem boyları hem silyaları kısalmır. Sayıları azalır [18,32, 41 - 44].

Sonuç olarak tuba uterinadaki silyalı hücreler ve düz kas katmanı oositin ve zigotun uterusu doğru iletimini sağlayacak şekilde hareket ederken tubal sıvı da fertilizasyonda, erken gelişim evresinde ve spermiyumun kapasitasyonunda önemli rol oynar.

2.5. Tuba Uterina ve Antioksidanlar

Tuba uterina gamet taşınması, fertilizasyon ve embriyonun erken gelişimi dönemleri açısından oldukça önemli bir organdır. Bu olayların gerçekleşebilmesi için gereken mikro çevrenin oluşmasını sağlayan fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler gösterir. Tuba uterina dokusunun artması ve dokunun farklanması, apikal yüzeydeki sil sayısında artış ve sil boylarının uzaması, salgı hücrelerinin etkinlik seviyelerini arttırıp azaltmaları bu değişikliklerden bazılarıdır.

Antioksidanların, tuba uterina epitel hücrelerinin, hücre zarlarının dengesini koruduğu bilinmektedir. Tuba uterina epitel hücreleri ile ilgili yapılan birçok çalışmada antioksidanların apopitotik süreci geri döndürebilme erki olduğu, lipid peroksidasyonunu engelleyerek serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırabildiği ve böylece oksidatif stresi engelleme özelliği bulunduğu saptanmıştır [9,45].

İnek tuba uterinasında, östrus döngüsü süresince yapılan bir çalışmada deneklerin glutatin peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (Cu, ZnSOD) gibi temel antioksidanlarının mRNA ekspresyonu ve enzimatik aktiviteleri incelenmiş, başarılı bir fertilizasyon ve implantasyon için bu antioksidanların fizyolojik rollerinin önemli olduğu vurgulanmıştır [46].

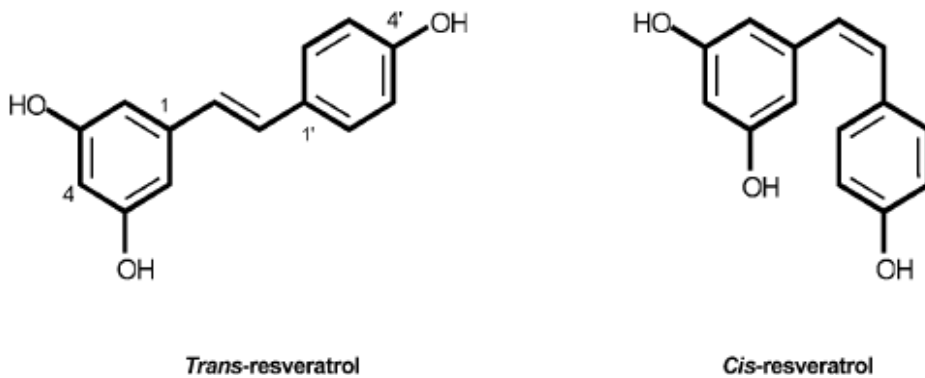
2.6. Resveratrol

Resveratrol (3, 5, 4' –trans – trihidroksistilben) bazı bitkiler tarafından, sedmelerin neden olduğu zedelenme, UV ışığına etken bırakılma ya da mantar enfeksiyonları

gibi biyotik ya da abiyotik stress faktörlerine karşı yanıt olarak sentezlenen, non-flavonoid yapıda, polifenolik bir fitoaleksindir. Fitoaleksinlere bitkisel antibiyotikler de denilebilir, çünkü patojen mikroorganizmalara karşı bitki tarafından sentezlenen maddelerdir. Benzen halkası içerirler. Trans ve cis olarak iki izomerleri olsa da biyolojik aktivite gösteren asıl yapı trans izomeridir. Yüksek miktarda siyah üzüm kabuğu ve çekirdeğinde, yer fıstığı, ananas, yaban mersini, kıvılcık, asma yaprağı ve dut gibi yaklaşık 70 ayrı bitkide bulunur [43,44,47,48,49].

Resveratrol, bir antioksidan olan polifenol ailesinin stilbenler alt grubunda yer alır. Kimyasal yapısı içerisinde altıgen aromatik halkalar ve hidroksil grupları (OH) bulunmaktadır. Resveratrol ve türevleri polifenoller sınıfının en önemli grubudur. Molekül formülü $C_{14}H_{12}O_3$ ve mol ağırlığı 228,25 g/mol'dur. Resveratrol stilben fitoaleksinlerinin en aktif bileşiğidir.

Ultraviyole spektral özelliklerine göre resveratrol'ün cis- ve trans- olarak iki izomeri bulunur. Yüksek pH ve ultraviyole ışık, trans formundan cis'e dönüşüme neden olurken, düşük pH, yüksek ısı ve güneş ışığı cis- formundan transa dönüşüme neden olur. Bitkilerde çoğunlukla glikozit yapıdaki trans izomeri bulunur. Özellikle kırmızı şarapta bulunan, resveratrolün 3-O- β -D glikozit şekli, 'piseid' olarak da adlandırılır. İzomerlerine de trans- piseid ve cis-piseid denir [50 - 53].



Şekil 2.1. Trans ve cis-resveratrol [52].

Resveratrol steroid yapıları bir bileşik olmamasına karşın östrojen benzeri bir etki gösterir. 1940'ta *Veratrum album*'da izole edilmiştir. O yıllardan günümüze sağlık üzerindeki pek çok olumlu etkisi nedeni ile birçok araştırmaya konu olmuştur ve araştırılmaya devam edilmektedir. Trans yapısı ilk kez 1976'da *Vitis vinifera*

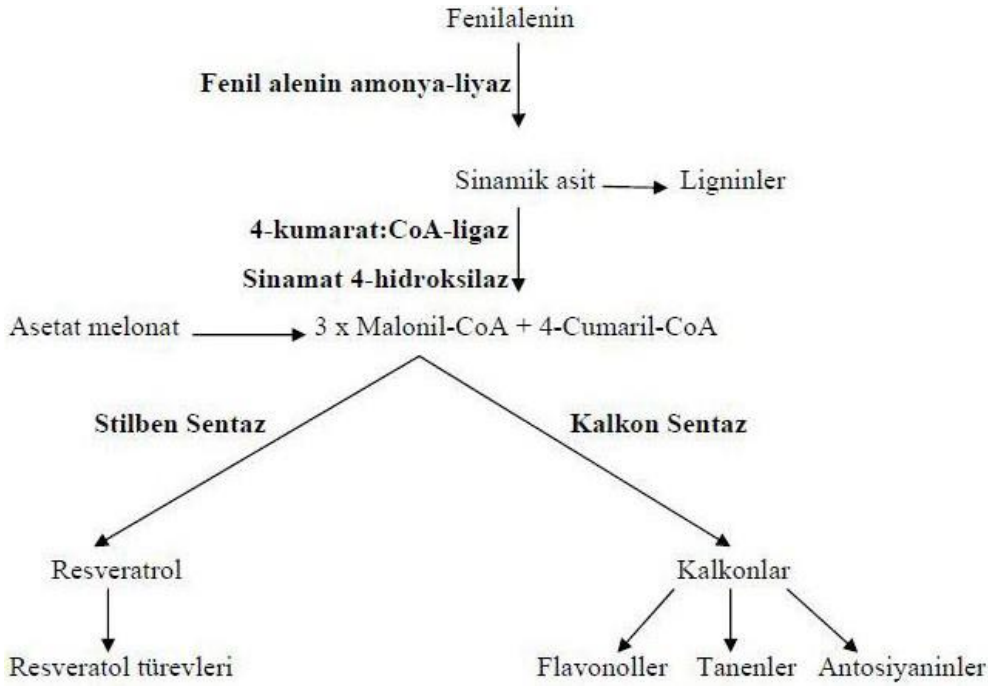
(asma)'dan elde edilmiştir. 1982'de ise Japonya ve Çin' de geleneksel olarak kullanılan *Polygonum cuspidatum* (Kojo-Kon ya da İdatori çayı) bitkisinin çeşitli deri yangıları, karaciğer hastalıkları, mantar olguları ve damar hastalıklarında iyileştirici etkisi olduğu ve bu bitkide resveratrolün maksimum miktarda bulunduğu belirlenmiştir [55 - 58].

Resveratrol 1940'lı yıllardan itibaren biliniyor olsa da 1992'de Fransız Paradoksu'nun ortaya konmasıyla birlikte önemi ve araştırılma düzeyi artmıştır. Fransızların yüksek yağ oranlı, kolesterol içerikli beslenmesine ve sigara tüketimine karşın kardiyovasküler rahatsızlıklardan kaynaklanan ölüm oranının düşük olmasının en önemli nedeninin düzenli şarap tüketimi olduğu belirlenmiştir. Bu durumun gelişmesinde yaşa ve cinsiyete koşut olarak orta düzeyde şarap tüketiminin etkili olduğunun anlaşılması "FransızParadoksu" olarak nitelendirilmiştir [59,60].

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda şarap içinde 500'den fazla bileşen olduğu bulunmuştur. Bunlar arasında antioksidan özelliği ile tanınan polifenolik bileşiklerin özellikle kalp damar hastalıkları üzerinde tedavi edici ve koruyucu etkileri belirlenmiştir. Şarapta bulunan resveratrol miktarı çeşitli faktörlere bağlı olarak değişse de soğuk iklimde yetişen kırmızı üzümden üretilen resveratrol miktarının daha yüksek olduğu bilinmektedir [61,62].

2.6.1. Resveratrol'ün biyosentezi

Resveratrol en çok üzüm kabuklarında ve yaprak epidermisinde stres, travma, enfeksiyon ya da UV ışığına etken kalma sonucu uyarım yoluyla sentezlenir. Resveratrol fenol halkasına sahip bir amino asit olan Fenil Alanin'den başlayarak çok aşamalı bir tepkime sonucu sentezlenmektedir. İlk aşamada amonyak liyaz enziminin katalizi ile fenil alaninden sinnamik asit, ikinci bağlanmasıyla 4-koumarik asit oluşur. Üçüncü aşamada da koenzimA'nın yapıya eklenmesiyle 4-kuomarik Co-A ve 3 adet malonil Co-A biçimlenir. Dördüncü aşamada bunlar Resveratrol sentaz enzimiyle birleşerek resveratrol'ü oluşturur. Bu aşamada Kalkon sentaz enzimiyle katalizlenmeleri durumunda ise flavonoit oluşur [63,64,65].



Şekil 2.2. Resveratrol'ün sentez aşamaları [66].

2.6.2. Resveratrol'ün metabolizması

Sıçan ve farelerle yapılan çalışmalarda resveratrolün yüksek düzeyde emildiği, karaciğer ve bağırsak epitelyum hücrelerinde hızla glukuronid ve sülfat konjugatlarına dönüştürüldüğü gösterilmiştir. İnsan, sıçan ve faredede resveratrol en çok trans resveratrol-3-O-glucuronid ve trans resveratrol-3-sülfat konjugatları formundadır. İdrar ve serum örneklerinde serbest resveratrole rastlanmaz. Bir gece aç bırakılan ve ardından 2 mg/kg resveratrol verilen sıçanlardan elde edilen sonuçlara göre resveratrolün bağırsaklardan hemen emildiği, 10 dakika sonra plazmada en yüksek düzeye ulaştığı ve uygulamadan 60 dakika sonra ise kanda hala saptandığı gösterilmiştir [67,68,69].

İnsanlarda 25 mg işaretli resveratrolün oral yolla uygulanmasından sonra dozun %70'i emilmektedir. Resveratrol ve metabolitlerinin plazmada ulaştığı üst yoğunluğun yaklaşık 2 μ M olduğu gösterilmiştir. Bağırsak Coco-2 hücreleriyle yapılan bir çalışmada resveratrolün pasif ve yoğunluktan bağımsız bir yol ile emildiği gösterilmiştir. Resveratrolün suda çözünürlüğü oldukça düşüktür. Bu nedenle serumda yüksek yoğunluklarda bulunabilmesi için ya konjuge olmalı ya da proteinlere bağlanmalıdır. Resveratrol kanda albümin protein aracılığıyla

taşınmaktadır. Karaciğer parankima hücreleri, resveratrol'ü kandan aktif ve pasif yol ile almaktadır. Bağırsaklarca emilen resveratrol böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılır [69 - 73].

Resveratrol'ün günlük normal dozunun çok daha üzerindeki alımlarında bile biyokimyasal ve histopatolojik değişimlere rastlanmadığı bildirilmiş ve oldukça güvenli bir antioksidan olduğu rapor edilmiştir [74].

2.6.3. Resveratrol'ün dokulara taşınması

Konjuge duruma gelen resveratrolün kana geçişi ve vücuda dağılımı kolaylaşır. Kandaki resveratrol ve metabolitleri karaciğer ve safra kesesi tarafından süzülür. Safra ve bağırsaklara geçer ve emilimi gerçekleşir. Oral yolla verilen resveratrol kısa süre içinde kolonda gözlenir, ancak dokulara dağılımı birkaç saat sürer. Yaklaşık yarım saat içerisinde karaciğer, böbrek, kalp ve beyin başta olmak üzere çeşitli organlara dağılır. Trans-resveratrolün organizmada ortalama bulunuş süresinin 33-38 dakika olduğu bilinmektedir. Resveratrol karaciğerde gluküronatlanır, karaciğer ve duodenum'da ise sülfatlanır. Sülfatla konjugasyon, resveratrolün metabolizmasını sınırlandırır [75,76].

2.6.4. Resveratrol'ün atılımı

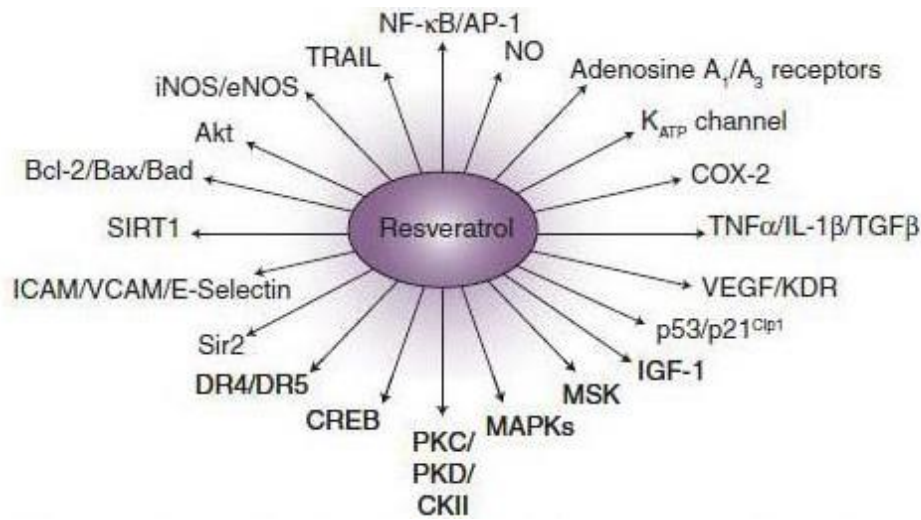
Resveratrolün atılımı büyük oranda idrar yolu ile ve plazmadaki miktarıyla doğru orantılı olarak gerçekleşir. Böbrekte normal formu bulunurken idrarda konjuge şekli gözlenmektedir. Glikozile olmayan resveratrol, idrarda çok az miktarda bulunur [77].

2.6.5. Resveratrol'ün biyolojik etkileri

Resveratrolün farklı dokulardaki farklı biyolojik etkileri şu başlıklar altında toplanabilir[48]:

- Kalp sağlığı üzerine etkileri
- Antioksidan etkileri
- Antikanserojen etkileri

- Antienflamatuar etkileri
- Antimikrobiyal etkileri
- Antitrombosit etkileri
- Anjiyogenezis etkileri
- Hepatoprotektif etkileri
- Herpes Simpleks virüsü üzerindeki etkileri
- Helicobacter Pylori üzerindeki etkileri
- Yaşlanma karşıtı etkileri
- Östrojenik etkileri



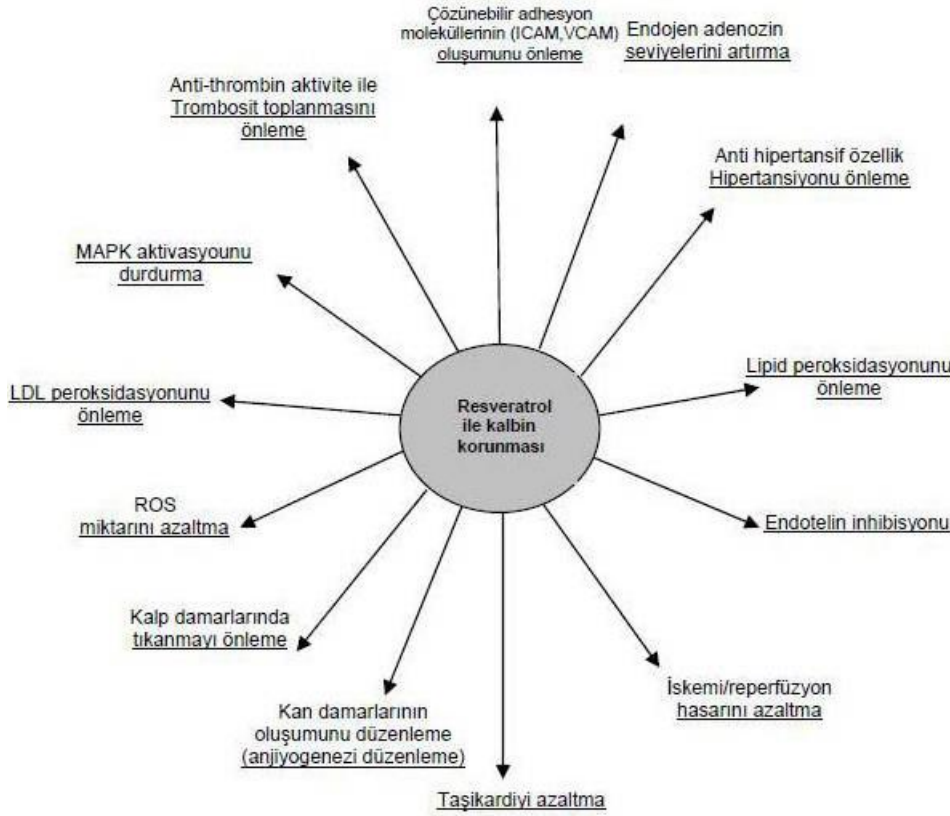
Şekil 2.3.Resveratrol' ün biyolojik etki yolları [54].

2.6.6. Resveratrol'ün kalp sağlığı üzerine etkileri

Resveratrolün koroner system üzerine etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olsa da koroner kalp hastalıkları riskini azalttığı bilinmektedir. Bu konuda resveratrolün östrojenik etki gösteriyor olması ve enflamatuar enzimlerin durdurulmasını sağlamasının böyle bir sonucu doğurabileceği düşünülmektedir [79].

Nitrik Oksit (NO) damar endotel hücrelerinden salınarak damarın düz kasında kasılma ve gevşemeler üzerinde etkilidir. Resveratrolün damar genişletici etkisinin Nitrik oksit antogonizması yolu ile olduğu düşünülmektedir [80].

Resveratrolün ayrıca kan basıncının düzenlenmesinde ve endotel işlevinin sürekliliğini sağlamada etkili olduğu bilinmektedir. Umbilikal ven endotel hücrelerinin, 20 saat süresince kırmızı şarabın ekstraktları ile inkübe edilmesi sonucunda, NO sentezinin 3 kat arttığı saptanmıştır [81].



Şekil 2.4. Resveratrol'ün kalp koruyucu etkilerinin şematik olarak gösterilmesi [78].

2.6.7. Resveratrol'ün antioksidan etkileri

Resveratrol, diğer polifenoller ve vitaminler gibi doğal bir antioksidandır. Oksidatif stres sonucunda oluşan serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı ve hastalıklarını in vivo olarak geciktirebilir ya da baskılar. Antioksidan etkinin görülmesi açısından moleküler yapıdaki aromatik gruplar önem taşır. Aromatik gruplar, rezonans yapıları üzerinden kararlı radikaller oluşturarak antioksidan etkilerini gösterirler. Resveratrolün içerisinde iki farklı aromatik grup olduğu ve bunların E, C vitaminleri ve propilgallat'a oranla daha yüksek hidroksil süpürücü etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca resveratrolün NO sentezini arttırması da antioksidan etkisini kanıtlar niteliktedir. NO'nun bir antioksidan gibi davranması, bir

elektron olarak süperoksit radikallerini süpürücü etki göstermesinden ileri gelmektedir [83, 84].

İskemi ve iskemi - reperfüzyon, dokuda lipit peroksidasyonunu arttırmakta, sonuçta da peroksi radikaller oluşmaktadır. Koroner oklüzyonla iskemi ile iskemi-reperfüzyon hasarının oluşturulduğu bir çalışmada resveratrol uygulamasının, malonildialdehit düzeyini anlamlı olarak azalttığı bildirilmiştir. Malonildialdehit ise koroner damarlarda lipit peroksidasyonunun göstergesi kabul edilmektedir [85].

Düşük yoğunluklu lipoprotein peroksidasyonlarının demir ve bakır iyonları ile artırıldığı bilinmektedir. Resveratrolün serbest radikal süpürücü etkisi araştırıldığında demir ve bakır düzeyini anlamlı olarak düşürdüğü gösterilmiştir. Bu bulgu düşük yoğunluklu lipoprotein peroksidasyonlarının demir ve bakır iyonları ile arttığı bilindiği için önemlidir [86].

Kronik etanol kullanımı beyin dahil birçok organda reaktif oksijen türleri ve lipit peroksidasyonu ile oksidatif hasara yol açmaktadır. Dopaminerjik nöronal hücreler olan pc12 hücrelerinde etanolün lipit peroksidasyonunu artırarak hücre ölümüne yol açtığı, ancak resveratrol uygulaması ile etanolün olumsuz etkilerinin oluşmadığı gözlenmiştir. Sıçanlarda, etanol uygulamasının nöronlarda, lipit peroksidasyonuna oldukça duyarlı olan Na-K ATPaz ve dopamine taşıyıcı protein etkisini azalttığı bulunmuştur. Resveratrol uygulaması ile bu nörodejeneratif değişikliklerin oluşmadığı gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında, resveratrolün lipit peroksidasyonunu önlediği ve siklooksijenazı baskıladığı bildirilmiştir [87,88].

Lipit peroksidasyonunun önlenmesi aynı zamanda hücrenin zar yapısının bozulmasını, hücre geçirgenliğinin artmasını ve buna bağlı olarak zar akışkanlığının kaybı yani hücre ölümünün de engellenmesini sağlar [89,90].

Resveratrol ayrıca 4-8 μM 'sinin, H_2O_2 uygulanmış lösemi hücrelerinde DNA parçalanması ve kaspaz aktivasyonunu baskılamaktadır [91].

2.6.8. Resveratrol'ün antikanserojen etkileri

Apoptotik hücre aktivasyonu, ribonükleotid redüktaz, DNA polimeraz, protein kinazC, siklooksijenaz-2 aktivitelerinin baskılanması ile gerçekleşmektedir. Hücrede yapısal bir hasar olaylandığında apoptozis gerçekleşemez ve çeşitli mutasyonlar görülür. Kanseri oluşumunun bu şekilde başladığı bilinmektedir. Resveratrol ise birçok doku ve organda apoptozisi uyarma, kanser hücrelerini baskılama, Faz-1 ve Faz-2 enzimlerinin, nitrik oksit sentazının, siklooksijenazın düzenlenimi gibi düzenekler yoluyla kanserin oluşum, ilerleme ve yayılım aşamalarını engeller [92,93].

Resveratrolün antikarsinojenik etkisi ilk olarak 1997'de yapılan polinükleer aromatik hidrokarbon dimetilbenzantrasen (DMBA) ile oluşturulan tümörün başlama ve ilerlemesinin resveratrol ile durdurulmasıyla ortaya konmuştur [94].

Daha sonra bu konuda yapılan çalışmalarla resveratrolün deri, mide, kalınbağırsak, akciğer, meme, prostat, karaciğer, pankreas kanserleri ile nöroblastoma, fibrosarkoma ve lösemi kanserlerinde de hem önleyici hem de durdurucu etkisi olduğu gözlenmiştir [95].

Yapılan çalışmalar resveratrolün, G1/S hücre döngüsündeki düzenleyiciler olan siklin D1, cdk4 ve siklin E'nin miktarını artırarak hücre çoğalmasını G1/S evresinde durdurduğunu ortaya koymuştur [96].

Resveratrol, in vivo olarak, normal dokular ve tümörlerdeki toplam COX etkinliğini azaltır. Bu etkiyi mRNA düzeyinde COX1 ifadesini seçici olarak baskılayıp ve COX2 ifadesini azaltarak yapar. Invitro çalışmalarda proteinkinazC [PKC]'nin baskılanması yolu ile COX2 transkripsiyonel baskılanmasını sağlandığı bildirilmiştir. Siklooksijenaz'ın tüm formlarının enzimatik etkinliğini kısıtlayan resveratrol, etkili koruyucu bir ajandır. Resveratrol kanser oluşumunda etkili olan ornitin dekarboksilaz [ODC] üzerinde de baskılayıcı etki gösterir. Tümör hücrelerinde damar oluşumunu başlatan COX ve ODC'nin baskılanmaları, tümör büyümesi ve damarlanarak ilerlemesi üzerine resveratrolün baskılayıcı etkisini kanıtlar niteliktedir [97].

2.6.9. Resveratrol'ün antienflamatuar etkileri

Enflamasyon oluşturan yapılar, artritler başta olmak üzere kanser gelişimi ve kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere birçok hastalıkta görülürler. Enflamasyonun oluşması için öncül olan proteazlar, kompleman sistemi [tamamlayıcı sistem], bradikininler, NO, sitokinler, adezyon molekülleri ve prostaglandinler gibi yapıların üretiminden, siklooksijenaz [COX] enzimleri sorumludur. Resveratrol de in vivo şekilde COX -2 ifadesini baskılayarak enflamasyon oluşumunu önler [80,98].

Bir transkripsiyon etmeni olan nükleer faktör-kB (NF-kB), enflamasyon ve tümör oluşumunda yer alan genleri düzenler. Resveratrol, NF- kB etkinliğini baskılayarak da enflamasyona engel olmaktadır. Ayrıca doku faktörünün (TF) anormal ifadesini ve damar hücrelerindeki sitokinleri baskılayarak da enflamasyonu önler. Baskılama düzeyi resveratrolün verildiği doza bağlı olarak değişmektedir [99].

Trans–resveratrolün, CD4 ve CD8 T lenfositlerinde sitokin üretimini düşürdüğü ve doğal öldürücü hücrelerin [NK Hücreleri] sitotoksitesini azalttığı ortaya konmuştur. Ayrıca resveratrolün hücrel toksisiteyi azalttığı, lenfosit çoğalmasını baskıladığı, lenfosit kökenli interlökinlerin ve tümör nekroz faktörün (TNF- α) üretimini azalttığı saptanmıştır. Ek olarak, invitro olarak üretilen TNF- α , interlökin1 β ve interlökin 6'nın resveratrol ile baskılandığı gösterilmiştir. Fare karaciğer ve böbrek perfüzyon modelinde resveratrolün tirozin kinaz etkinliğini baskılayarak antienflamatuar etki gösterdiği belirtilmiştir [100 - 103].

2.6.10. Resveratrol'ün antimikrobiyal etkileri

Resveratrol, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Staphylococcus aureus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* ve dermatofit organizmaları üzerinde antimikrobiyal etki göstermektedir.

2.6.11. Resveratrol'ün antitrombosit etkileri

Trombositler, damar endotelinde oluşan bir hasarın iyileşme sürecinde, kanın akışkanlığını da değiştirmeden hasarlı bölgede tıkaç görevi gören kan hücreleridir. Tıkaç oluşturma işlemini damarın subendotelyal katmanına yapışıp orada yayılıp birikerek yaparlar. Böylece pıhtı oluşumu gerçekleşir. Ancak yüksek oranda trombosit etkinliği ve birikimi ateroskleroz gibi patolojik durumlar için risk oluşturmaktadır.

Siklooksijenaz [COX] enziminin uyarımı ile araşidonik asitten, tromboksanA₂ sentezlenir ve trombosit yapışması sırasında adezyon oluşumunu sağlar [104].

Resveratrol ise COX enzimini baskılayarak tromboksanA₂ oluşumunu engeller. Ayrıca trans formunun hücreiçi kalsiyum oranını azaltarak trombosit birikimini durdurduğu bilinmektedir. Resveratrolün TXB₂ ve lipooksijenaz ürünleri olan lökotrienleri baskıladığı ve trombosit birikimini engelleyici etkisi olan nitrikoksit (NO) salınımını artırarak antitrombosit etki gösterdiği ortaya konmuştur [104 - 107].

Yapılan bir çalışmada ise resveratrolün cis formunun daha belirgin şekilde kan sulandırıcı etkisi olduğu belirtilmiştir [104].

2.6.12. Resveratrol'ün anjiyogenezis etkileri

Resveratrol, yeni kapillerlerin oluşumunu, damar gelişimini hızlandırır. Bu işlevini, hidrojen peroksit gibi serbest radikalleri engelleyip VEGF ekspresyonunu artırarak gerçekleştirdiği bilinmektedir. Resveratrol, yara iyileşmesi gibi durumlarda yeni kapillerlerin oluşumunu sağlarken bir başka çalışmada kolon, prostat, meme kanserleri ve epitelyal karsinom gibi durumlarda anti anjiyogenik özellikler gösterdiği belirtilmiştir. Bu olay resveratrolün protein kinazlarla mitojenlerin etkileşip hücreyi uyarmasını engellemesiyle olaylanmaktadır [102,103].

2.6.13. Resveratrol'ün hepatoprotektif (karaciğer koruyucu) etkisi

Resveratrolün, karaciğerdeki stellat hücrelerin etkinliğini engellediği, bu olayı sinyal iletim yolağı ve hücre döngüsünü bozarak gerçekleştirdiği bilinmektedir. Böylece resveratrolün karaciğerden lipoprotein üretimini ve salınımını engellediği ortaya konmuştur. Ayrıca kırmızı üzümün hepatik LDL reseptör etkinliğini ve HMGCoA redüktaz yetisini arttırdığı da gösterilmiştir [108].

2.6.14. Resveratrol'ün Herpes Simpleks virüsü üzerine etkileri

Herpes Simpleks virüsü (HSV), mukozal, dermal ve epidermal temas yoluyla bulaşabilen tip1 ve tip2 olmak üzere iki tipi bulunan bir virüstür. Yapılan bir çalışmada fare vajinası HSV 2 ile enfekte edilmiş, enfeksiyondan 1 saat sonra polietilen glikolde hazırlanmış %19'luk topikal preparatı günde beş kez uygulanmıştır. Sonuçta HSV 2 enfeksiyonunun 10 günde sonlandığı, 7.günde asiklovirle hemen hemen aynı etkinliğe ulaştığı ortaya konmuştur. Aynı uygulama ile HSV-1'le enfekte edilen fare vajinasındaki enfeksiyonun da baskılandığı ve ekstra vajinal lezyonların azaltıldığı bildirilmiştir. Ayrıca asiklovir grubunda ve plasebo grubunda ölümler gerçekleşirken, resveratrol grubundaki farelerde ölümlerin gerçekleşmediği görülmüştür [109,110].

2.6.15. Resveratrol'ün Helicobacter Pylori üzerine etkileri

Helicobacter pylori adı verilen mikroorganizma, midede kronik yangıya neden olur. Buna bağlı olarak artan oksijen radikalleri DNA hasarını gerçekleştirir. Oluşan oksidatif hasar epitelyal hücre döngüsünü değiştirerek hücre ölümünü gerçekleştirir. Tüm bu tablonun oluşmaması için resveratrol, H.pylori bakterilerini seçici olarak yok eder. Ayrıca sitotoksin ilişkili gen A (CagA +) suşunun gelişimini ve büyümesini durdurarak bu suşun neden olduğu gastrit, ülser ve kanser gelişimlerini engellediği saptanmıştır [111,112].

2.6.16. Resveratrol'ün yaşlanmaya karşı etkileri

Resveratrolün antioksidan etki gösterme, mitokondriyon sayısını ve insülin duyarlılığını artırma, sirtuin geninin enzimatik etkinliğini güçlendirme yollarıyla

yaşlanmayı yavaşlatıcı ve yaşam süresini uzatıcı etkisi olduğu düşünülmektedir [113].

2.6.17. Resveratrol'ün östrojenik etkileri

Resveratrol hem östrojenik hem de anti östrojenik özellik gösterebilmektedir. Trans formu bir sentetik östrojen olan 33 –dietilstilbestrol'e [DES]'e kimyasal olarak oldukça benzer olduğundan östrojen reseptörlerine (ER) kolayca bağlanıp bir östrojen agonisti gibi etki gösterebilmektedir. Bu nedenle “fitoöstrojen” olarak da isimlendirilmektedir. Resveratrolün ER β agonist etkisi ER α agonist etkisinden yüksek olduğundan, ER β reseptörünü çok daha fazla bulunduran dokular, resveratrolün agonist etkisine daha duyarlıdır. Ovaryumları çıkarılmış dişi ratlara resveratrol uygulandığında uterus nispi ağırlığında ve epitel hücre katmanında artış gözlenmiştir. Hücre kültürlerinde yapılan bazı çalışmalarda ise resveratrol, ER izoformuna (α ya da β), hücre çeşidine ve endojen östrojen varlığına bağlı olarak östrojen karşıtı gibi davranmış, böylece östrojenin neden olduğu hücre artışı, tümör oluşumu ve gelişimini önlediği saptanmıştır [114,115].

Leydig hücrelerinin de östrojen reseptörleri içerdiği bilgisine dayalı olarak, bir in vivo çalışmada resveratrol, testosteron dahil, farklı cinsiyet hormonlarının dengeleyecisi olarak gösterilmiştir. Ancak resveratrolün bu hücrelerde agonist ya da antagonist etkileri tam olarak ortaya konamamıştır. Resveratrolün östrojenik etkileri hakkındaki çalışmalar devam etmektedir [113,114].

2.7. Endokrin Bozucular

Endokrin bozucular, dışarıdan organizmaya alınan madde ya da madde karışımlarıdır. Bu yapılar sağlıklı organizmaya alındıktan sonra canlıda ve onun gelecek kuşaklarında endokrin sistemin çalışmasını olumsuz şekilde değiştirerek çeşitli sağlık sorunlarına neden olurlar. Ekzojen olan bu maddeler organizmadaki endojenler olan hormonların üretimi, salınımı, bağlanması, taşınması, etkinlikleri, yıkımları ve vücuttan atılmaları üzerinde etki gösterirler. Ayrıca hedef hücredeki etkisine göre agonist ya da antagonist etki yapabildikleri de bilinmektedir [116 - 120].

Endokrin bozucular, organizmanın yaşına, endokrin bozucunun dozuna, etkin kalınan süreye, tek ya da karışım maddeyle karşılaşma durumuna bağlı olarak farklı etkiler gösterirler. En belirgin etki küçük yaşlarda görüldüğünden en yoğun etkilenme prenatal dönemde gerçekleşmektedir [121,122,123].

Endokrin bozucular 2 başlık altında incelenebilirler:

- Doğal Endokrin Bozucular
- Sentetik Endokrin Bozucular

Bir sentetik endokrin bozucu olarak fitalatlar sınıfına ait olan Di-n- Bütil Fitalat, 2002'de Avrupa Birliği tarafından yayınlanan insan sağlığına kesin olarak zararlı endokrin bozuculardan biridir [124].

Doğal endokrin bozucular, yarı ömürlerinin kısa olması nedeniyle dokularda birikmeden kolayca atıldıklarından organizmaya çok büyük zararları yoktur. En çok bilinen doğal endokrin bozucular fitoöstrojenlerdir. Eğer yoğun şekilde ve çok miktarda alınırlarsa olumsuz etkileri belirgin şekilde görülebilir [125,126].

Öte yandan sentetik endokrin bozucular yağda eriyerek yağ dokusunda biriktikleri için ya da yakılmaları zor olduğu için vücutta uzun süre depolanarak metabolizma için zarar oluştururlar. En çok bilinen sentetik endokrin bozucu, dietilstilbestrol'dür (DES). Boya, plastik, çözücü gibi malzemelerin, herbisit, pestisit ve fungusitlerin endokrin bozucu olma özellikleri vardır [125,126,127].

Çizelge 2.1. Başlıca endokrin bozucular [125,126].

Doğal Endokrin Bozucular	Fitoöstrojenler	Daidzin, Genistein, Formononetin, Biokanin-A, Prunetin, Pratensein, Glisetein, Ekuol, Desmetilangolestin
Sentetik Endokrin Bozucular	Organohalojenler	Dioksinler, Furanlar, Poliklorine bifeniller, Hekzaklorobenzen, Pentaklorofenol.
	Pestisitler	4-Klor4-Klorometoksi asetik asit, Klormekuat, Alaklor, Aldikarb, Amitrol, Atrazin, Benomil, Karbaril, Klordan, diklorodifeniltrikloroetan ve metabolitleri, Endosulfan, Etilparation.
	Fitalatlar	Di-etilheksil fitalat, Butil benzilfitalat, Di n-butil fitalat, Di-n-fenilfitalat, Di-heksil fitalat, Di-propil fitalat, Dikloroheksil fitalat.

2.8. Fitalatlar

Fitalatlar, fitalik asit esterleri (PAE) olarak da bilinen, pek çok amaçla kullanılan sentetik kimyasallardır. Plastikte ve ortak tüketim ürünlerinde bulunan bu kimyasal, dünya genelinde yaklaşık 60 farklı türde üretilir. Kullanımları genel olarak molekül ağırlığına bağlıdır. Di-etilhekzil fitalat (DEHP), di-izonoyl fitalat (DiNP) ve di-izodesilfitalat (DiDP) gibi yüksek molekül ağırlıklı fitalat esterleri, vinil plastikleştirici olarak ve malzemenin esnekliğini, işlenebilirliğini arttıran bileşenler olarak endüstride en yaygın kullanılan fitalatlardandır. Ayrıca inşaat malzemelerinde, tıbbi cihazlarda ve gıda ambalajlarında da kullanılırlar. Dimetilfitalat (DMP), dietilfitalat (DEP) ve di-n-bütil fitalat (DBP) gibi düşük molekül ağırlıklı fitalatların ise çok daha geniş bir kullanım alanları bulunmaktadır. Bunlar kozmetik, deterjan, sabun, şampuan, parfüm gibi kişisel bakım ürünlerinde, gıda ambalajlarında, emzik ve biberon da dahil olmak üzere çocuk bakım ürünlerinde, otomotiv, inşaat ve yapı malzemelerinde, tıbbi torba ve tüplerde, ilaçlarda, tekstilde, boya üretiminde hammadde ya da yardımcı kimyasal madde olarak kullanılmaktadırlar [128,129,130,131].

Fitalatlar, birlikte kullanıldıkları madde ile kimyasal bağ oluşturmadıkları için özellikle yüksek ısıda kolaylıkla ayrılabilir ve buharlaşabilirler. Bu özellikleri nedeniyle doğaya salınım oranları oldukça yüksektir. Bireylerin fitalata etken

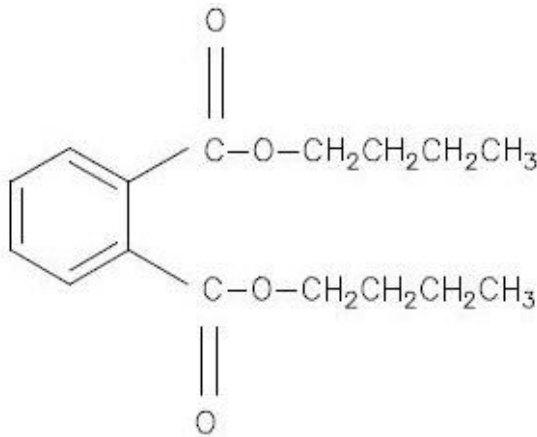
kalmalarının başlıca nedenlerinden biri üretim, işleme ve paketlenme sırasında fitalatla temas etmiş yiyeceklerin tüketimidir. Diğer etkilenmeler ise kozmetik ürünleri ve özellikle kapalı alanlarda hava yolu ile gerçekleşmektedir. Ayrıca hemodiyaliz ve kan transfüzyonu gibi işlemler sırasında da tıbbi cihazlar tarafından fitalatlara etken kalınabilmektedir. Yapılan çalışmalarda fitalatlar, kapalı ortamlarda, tüketim ürünlerinde, insan idrarında, insan sütünde ve amniyotik sıvıda bulunmuştur [128,132,133].

Fitalik asit esterleri akut olarak toksik olmamakla birlikte türlerine, temas yollarına ve temas sürelerine bağlı olarak çeşitli oranlarda kronik toksisite gösterirler. Bu toksik etkilerin en önemlilerinden biri, endokrin bozucu olmalarıdır. Endojen östrojen gibi davranarak östrojenik etki gösterip meme ve endometriyum kanserlerinin gelişiminde rol oynarlar. Fitalatlardan özellikle pestisitlerin hücre yüzeylerine direkt zarar verdikleri ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada bir fitalat olan OPI'nin, tuba uterina'da sil sayısında azalmaya, oositin tutulma oranında düşmeye, sil ile oositin kümülüsü arasında adhezyonun azalmasına neden olduğu, tuba uterina'nın düz kas kasılmalarını etkileyebildiği saptanmıştır. Fitalatların oluşturduğu oksidatif stresin tubal faktör infertilitesinde ve açıklanamayan infertilite patofizyolojisinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Ayrıca yüksek dozlarına kronik şekilde etkin kalınması durumunda çeşitli malformasyonlar, fetal ölüm, karaciğer ve böbrek hasarı ve üreme toksisitesi görülmektedir. Günümüze dek yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalar da üreme sağlığındaki bozulmalar ile fitalatlara etkin kalma arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermiştir [9,131,134,135].

2.8.1. Fitalatların fiziksel ve kimyasal özellikleri

Fitalatla, o- fitalik asidin çeşitli yan zincir uzunluklarını içeren, molekül yapısında farklı sayılarda alkol esterleri ve dallanma oluşturularak kullanım alanlarına göre özelleştirilen diesterlerdir. Bunlar, 1,2-benzendikarboksilik asidin dialkil ya da alkil-aril esterleridir. Oda sıcaklığında sıvı, renksiz, kokusuz ve yağ benzeri maddelerdir. Dolayısıyla sudaki çözünürlükleri azdır. Benzen, ksilen, toluen, dietil eter, kloroform gibi organik çözücülerde çözünürler. Düşük molekül ağırlıklı alkollerden üretilirler. Kararsız yapı sergilerler. Birlikte kullanıldıkları maddeyle

kimyasal bağ oluşturmazlar. Düşük vizkozitelidirler. Alkil bağlarının uzunlukları arttıkça vizkoziteleri ve yağlı yapıları da artarken sudaki çözünürlükleri de iyice azalır. Suda en az çözünen fitalat $7 \cdot 10^{-11}$ g/L, suda en çok çözünen fitalat 5g/L oranıyla dimetil fitalat'tır. 5.5°C ile -58°C arasında donarlar. Kaynama sıcaklıkları ise $230-486^{\circ}\text{C}$ arasındadır [136,137,138].



Şekil 2.5. Di n-bütil fitalat'ın kimyasal yapısı.

2.8.2. Di-n-bütil fitalat (DBP)

DBP tüm dünyada oldukça çeşitli kullanım alanları olan, polivinil gibi elastomerlerde plastikleştirici olarak kullanılan düşük molekül ağırlıklı bir fitalik asit esteridir. Kimyasal formülü $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 'tür. Renksiz ya da açık renkli, hafif aromatik bir kokuya sahip ve acı tadı olan yağlı bir sıvıdır. Moleküler ağırlığı 278,35g/mol'dür. Fitalik anhidrit ile n-bütanol'ün tepkimesi ile elde edilir. Erime noktası -35°C ve kaynama noktası 340°C 'dir. Su içerisindeki çözünürlüğünün 11,2 mg/L olduğu, en yüksek oranda yağda çözündüğü bilinmektedir. Düşük seviyeli bir çevre kirleticisi olarak kabul edilmekte ve bebek mamalarından içme suyuna dek oldukça geniş bir alanda görülebilmektedir [139 - 142].

DBP plastik ve reçinelerde, yapıştırıcı, cila, vernik, boya ve baskı mürekkeplerinde, kozmetikte özellikle parfümlerde, spreylerde, kremlerde ve ojelerde, oyuncaklarda, ilaçların enteric kaplamalarında, kan transfüzyonu ve diş malzemeleri gibi tıbbi ekipmanlarda, pestisitlerde, tekstilde ve gıda ambalajlarında yaygın olarak kullanılır. Bu nedenle tüm toplumsal alanlarda DBP'yle direkt olarak temas potansiyeli oldukça yüksektir. Bu da özellikle, DBP'ye uzun süre etkin kalma

durumlarında, insan üreme sağlığı ve yenidoğan sağlığı açısından ciddi endişeler doğurmaktadır. DBP uygulanan deneklerde 17 – β östradiol düzeyinde azalma gerçekleşmekte, kandaki FSH'nin artmakta, antral folikül sayısında düşüş izlenirken, apoptozis ve steroidogenezdeki mRNA ifadenmelerinde de değişiklikler izlenmektedir [143 - 147].

DBP'nin metabolizması ve düzenlenimi

DBP, bir arada bulunduğu plastiğe kimyasal olarak bağlı bulunmadığından ambalajlardan tüketilen gıdalara kolayca geçebilmektedir. Bu nedenle DBP'ye öncelikle paketlenmiş gıdalar yoluyla etkin kalınmaktadır. Ek olarak, hava ve su yoluyla da DBP teması gerçekleşebilir [148,149].

DBP bulaşmış yiyeceklerin sindirilmesinden kısa bir süre sonra kanda 0.02 ppm, ön test değeri ile karşılaştırıldığında 0.35 ppm olmak üzere oldukça yüksek bir oranda DBP saptanmıştır. Yağ dokuda ise 0.10 – 0.79 ppm değerleri arasında olduğu belirtilmiştir [150,151].

Oral yolla alınan DBP, kana karışmadan önce gastrointestinal sistemde, özgül olmayan esterazlarca diesterlerin monoesterlere hidroliz edilmesiyle monobütil fitalat ve bütanole metabolize olur. Organofosfatların esterazları baskılandıkları andan itibaren DBP emilimi ciddi ölçüde azalır. DBP'nin metabolizasyonu, emilimi ve idrar – gayta yoluyla organizmadan atılımı oldukça hızlıdır. DBP uygulamasını izleyen 20 - 30 dakika içinde metabolitleri kan plazması ve çeşitli dokularda gözlenebilir. DBP'nin esas metaboliti olan monobütil fitalat, idrar yoluyla organizmadan uzaklaştırılmaktadır. Sıçanlara DBP uygulamasından 24 saat sonra DBP'nin % 31–44'ü ürede, % 20-22'si gaytada gözlenmiştir [154 - 158].

Fitalat esterleri sıçan derisine uygulandığında, DBP'nin yaklaşık % 60'ı ve DEP'in ise yaklaşık %50'sinin organizmadan idrar yoluyla uzaklaştırıldığı ortaya konmuştur. Ayrıca fitalatların alkil yan zincirlerinin uzunluğu ve büyüklüğü arttıkça deriden emilimlerinin azaldığı, insan derisinin de sıçan derisine oranla DBP'ye daha düşük geçirgenlik gösterdiği belirtilmiştir [152,153].

DBP'nin toksisitesi

DBP'nin prenatal ve postnatal evrelerde, puberte öncesi ve yetişkinlik dönemlerinin tamamında toksik etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Akut toksisitesi orta düzeydeyken kronik etkin kalma daha ciddi sonuçlara yol açabilmektedir [159,160,161].

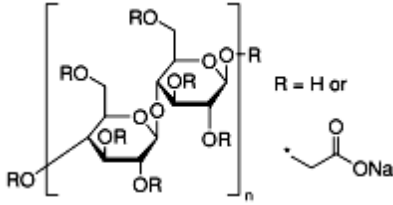
DBP, bir peroksizom arttırıcısı olduğundan hepatosit çoğalmasına bağlı olarak karaciğer büyümesi yaptığı, kanda trigliserit seviyesini düşürdüğü, kilo artışına ve bununla paralel gelişebilen depresyona yol açabildiği, birçok enzimi ve enzimatik yolların uyarımını gerçekleştirdiği bilinmektedir. Sıçanlara bir yıl süreyle oral yolla belirli bir dozda DBP uygulandığında kısmi büyüme geriliğine neden olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda sıçanların uyku sürelerini kısaltmaktadır. Oral yolla 3 ay süresince DBP uygulanmasının ardından karaciğer ağırlığının arttığı, karaciğer sitokrom P450 enzim sisteminin çalışmasında artma ya da azalma şeklinde farklılıklar gerçekleştiği saptanmıştır [162,163,164].

DBP'ye prenatal dönemde etkin kalan yenidoğanlarda maternal kilo kaybı, eksensefali, iskelet anomalileri, spina bifida, anoftalmi gibi malformasyonlar olduğu bildirilmiştir. Uygulanan DBP'nin dozuna ve süresine bağlı olarak bu hasarların çeşitlenebildiği, sıçanlara yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. DBP toksisitesinden, özellikle kozmetik ürünlerin kullanım sıklığına bağlı olarak, dişi bireylerin erkek bireylere oranla daha fazla etkilenebileceği düşünülmektedir [165].

2.9. Karboksimetil selüloz (CMC)

Selüloz, bitkilerin fotosentez sonucu ürettiği ana üründür. Glikozit bağıyla bağlanan doğrusal bir polimerdir. Eterler ve esterler olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır. Karboksimetil selüloz (CMC) ya da onun tuzu olan sodium karboksimetil selüloz (NaCMC), yapısındaki karboksimetil grupları ile glikoz'un hidroksil gruplarına bağlanan bir selüloz eteridir. Anyonik selülozun karboksile edilmesiyle üretilir. İlk kez 1918 yılında elde edilmiştir. Saf selülozdan farklı olarak suda çözünmektedir, fakat organik çözücülerde çözünmez. Moleküler yapısı düzenlidir. Az sayıdaki monomerlerinin bağlanmasıyla oluşan hali düz yapı gösterirken çok sayıdaki monomerlerin oluşturduğu yapı sarmaldır. Kimyasal

formula $C_6H_7O_2(OH)_2OCH_2COO_2$ 'dır, beyaz ile sarı arası renkte görünür, lifli yapıdadır, tatsız ve kokusuzdur. Çok fazla kullanım alanı vardır. CMC; çalışmamızda resveratrol çözücüsü olarak kullanılmıştır [166,167,168].



Şekil 2.6. Karboksimetil selüloz'un kimyasal yapısı [167].

Normal koşullar altında suda çözünebilen CMC, iyonlaştırıcı radyasyon işleme yöntemiyle suda makroskopik olarak çözünmeyen hidrojele dönüştürülebilmektedir. pH'ı düştükçe suda çözünürlüğünün azaldığı, pH4'ten itibaren suda çözünmediği bilinmektedir. CMC, kullanıldığı ürünlerde vizkoziteyi jelleşme durumu gerçekleştirmeksizin arttırmaktadır. Su tutucu, sabitleştirici, kıvam artırıcı, koloit engelleyici, akıcılığı denetleyici, geciktirici özellikleri vardır. Anyonik yapılı olduğu, toksik ve alerjik etkileri bulunmadığı, diğer kimyasallara karşı dayanıklı olduğu, emülsiyon ve süspansiyon durumlarını koruyabildiği bilinmektedir. Su ve oksijen geçirgenliği olmayan, ince filmler oluşturur. Tüm bu özellikleri nedeniyle gıda, ilaç, kozmetik sanayiinde; tekstil, baskı, boya gibi kalınlaştırma ve film oluşturma işlemleri gerektiren tüm endüstri dallarında kullanılmaktadır [169 - 172].

Karboksimetil selüloz, tüm bu özellikleri nedeniyle, E466 kodlu kıvam artırıcı katkı maddesi olarak günlük yaşamda çok sık kullanılmaktadır. Uygun koşullarda çapraz bağ yapabilme erki olsa da gama radyasyonu altında bozulmuş bir polimer olarak da bilinmektedir. CMC gibi selüloz ve türevleri, radyasyon önleyici polimerlerdir [171].

2.10. Sitokrom – C

Apoptotik yolların kesiştiği kavşak noktanın mitokondri olduğu görülmüştür. Bu yüzden mitokondrinin aktivasyonu (sitokrom- c' nin mitokondriden sitoplazmaya salınması) apoptotik süreçte geri dönüşümsüz olan noktadır. Mitokondri,

membranlar arası alandan sitoplazmaya sitokrom- c ve apoptozis uyarıcı faktör (AIF) gibi apoptotik faktörlerin salınımı ile apoptozisin pek çok formunda önemli rol oynar. Sitokrom c, electron transport zincirine ve oksidatif fosforilasyona katılır. Sağlıklı hücrelerde sitokrom- c, mitokondride membranlar arası boşlukta yer alır. Sitotoksik ilaçlar, gelişme faktörü eksikliği, reaktif oksijen türleri ve DNA hasarı gibi değişik hücrel stresler sitokrom- c' nin salınmasını harekete geçirir. Mitokondriyal membrandan salınan sitokrom- c, öncelikle sitoplazmik boşlukta görülür. Sürecin ilerleyen evrelerinde de giderek çekirdekte yoğunlaştığı immünohistokimyasal ve immünfloresans yöntemlerle gösterilmiştir. Sitokrom- c'nin salınması, Bcl-2 ailya üyeleri ile düzenlenir [173 - 176].

Mitokondriyal strese serbest hale geçen sitokrom- c apoptotik hücre ölümünde kaspaz- 3 aktivasyonu için önemli rol oynar. Bu yolda mitokondriyon ile denetlenen apoptotik proteaz active edici factor (Apaf-1) ve kaspaz-9 bulunur. Ko-faktor nükleotid trifosfat (d-ATP ve ATP) ile aktive edilen sitokrom- c ve apaf-1 birleşerek prokaspaz- 9'u aktive eder. Aktive olan kaspaz- 9 da kaspaz- 3'ü aktive ederek diğer kaspaz kaskadının tetiklenmesini sağlar. Normal bir hücre mitokondriyonunun dış zarında Bcl-2 proteini bulunur. Bcl-2, Apaf-1 proteininin bir molekülünü bağlar. Bcl-2 neden olduğu hasar ile mitokondriyonda çatlaklar oluşturarak Apaf-1 ve sitokrom- c salınımına yol açar. Bu iki protein kaspaz-9 moleküllerine bağlanır. Bu proteolitik erk ile sitoplazmada yapısal proteinlerin sindirimi, kromozomal DNA'nın bozulması ve hücrenin fagositozu sağlanır [177,178,179].

2.11. Apoptozis

İlk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından tanımlanan apoptozis, genler tarafından düzenlenen programlı hücre ölümüdür. Her organizma canlılığını sürdürmesini sağlayan bir homeostaza (iç dengeye) sahiptir. Bu denge yeni hücreler sentezlenirken yaşlanmış, yıpranmış ve hasarlı hücrelerin de ölümüyle gerçekleşir. Ayrıca embriyogenez ve immünolojik tepkiler gibi normal seyrinde gelişen fizyolojik süreçlerde de apoptoz görülür. Oksidatif stres, iyonize radyasyon, büyüme faktörleri, DNA hasarı ve mekanik stres gibi çevresel uyarılar tarafından da indüklenebilir. Apoptozise işaret eden bulgular hücre içi ATP

miktarının çok olması, çekirdek büzülmesi ve DNA fragmentasyonudur [178,179,180].

Apoptozisi düzenleyen genler evrimsel olarak korunmuş ve birbirine akraba olan genlerdir. Bu genlerin ürünü olan proteinler, proteaz ailesi üyeleri olan kaspazlardır. Kaspazlar etkin bölgelerinde bir sistein kalıntısı içerirler ve hedef proteinlerini aspartic asit kalıntılarından keserler. Kaspaz 2,8,9 ve 10 başlatıcı görev yaparken 3,6 ve 7 ise efektör kaspaz olarak bilinir. Kaspazlar birbirlerini etkileyerek proteolitik bir tepkime başlatırlar. Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler, efektör kaspazlar da hedef proteinlerin kesilmesini sağlayarak süreci başlatırlar. Hücredeki DNA ya da Laminler gibi temel yapısal ve işlevsel proteinleri keserek hücrenin hızla kendini yakmasına ve makrofajlarca sindirilmesine yol açarlar ve bu sürecin geri dönüşü yoktur [180,181].

Apoptozisin uyarılmasında üç sinyal yolağı vardır:

1. Mitokondriyon / Sitokrom- c aracılı,
2. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan dış sinyaller aracılı,
3. Endoplazmik retikulum aracılı.

Stres uyarıcı bir sinyal apoptozisin hücre içi uyarımında mitokondriyal yolağı etkilerken hücre dışı uyarımda bir ligand dışsal yolağı etkiler. Hücre içi uyarım gerçekleşirse mitokondriyon zar yapısı bozulur ve sitokrom- c miktarı artar. Sitokrom- c, apoptozis proteaz active edici faktöre bağlanır ve kaspaz-9'u etkin duruma getirir. Karşılıklı şekilde, kaspaz da sitokrom- c salınımını artırabilir. Böylece sitoplazmada yapısal proteinlerin sindirimi, kromozomal DNA'nın bozulması ve hücrenin fagosite edilmesi olaylanır. Hücre dışı uyarımda Fas ve Tümör Nekroz Faktör Reseptör (TNFR) gibi ligandlar hücre dışından alınan ölüm sinyalini hücre içerisinde bulunan Kaspaz-8 'e aktararak apoptozis sürecini gerçekleştirirler. Endoplazmik retikulum aracılı apoptozis yolağında, Ca^{+2} düzeyinin artması ve kalpain'in endoplazmik retikulum'u etkilemesi sonucunda kaspaz-12 aktif duruma geçer. Aktif kaspaz-12 sitoplazmaya yönelerek kaspaz-9 ile karşılıklı etkileşir ve sitozolik kaspaz yolağını aktive eder [181,182,183].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'nden sağlanan Wistar Albino cinsi, 36 adet, 20 günlük 30- 40 gr ağırlığında dişi sıçan kullanıldı.

Deneklerin 21-23 °C ısı ve ışık/zaman ayarı 14/10 olacak şekilde bakımları sağlandı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar 6 gruba ayrıldı:

1. Grup: Kontrol grubu (n=6)
2. Grup: 500mg/kg/gün DBP (n=6)
3. Grup: 1000 mg/kg/gün DBP (n=6)
4. Grup: Çözücü (Karboksimetil selüloz 10ml/kg) (n=6)
5. Grup: 500 mg/kg/gün DBP+ 20 mg/kg Resveratrol+Çözücü (n=6)
6. Grup: 1000 mg/kg/gün DBP+ 20 mg/kg Resveratrol+Çözücü(n=6)

Uygulamalar gavaj yolu ile yapıldı.

Uygulamaların tümü 30 gün süresince, günde tek doz ve aynı saatlerde yapıldı. Otuzuncu günün sonunda denekler intramusküler ketamin (45mg/kg) ve ksilazin (5mg/kg) enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin karın bölgeleri açılarak tuba uterina dokuları alındı.

Tüm doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku örnekleri kasetlere konularak akar su altında 24 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirildiler. Sonrasında dokular parlatılmaları amacıyla ksilolden geçirildi ve ardından erimiş parafine gömüldüler. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron kalınlığındaki kesitlere tüm gruplar için Hematoksilen- Eozin boyaması, Masson' un üçlü boyaması ve Sitokrom- c primer antikoru ile immünohistokimya uygulandı.

Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, LeicaQ Vin 3 programında değerlendirildi ve resimleri çekildi.

3.1. Hematoksilen – Eozin BoyamaYöntemi

Boya solüsyonlarının hazırlanışı

Harris Hematoksilen solüsyonu

Hematoksilen 1gr Alkol 10ml

Potasyum alum [alüminyum potasyum sülfat] 20gr Distile su200ml

Civa oksit 0.5gr Glasiyal asetik asit8ml

Eozinsolüsyonu

Eozin1gr Distile su100ml

1 küçük timolkristali

3.1.1. Boyama yöntemi

Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamalar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutuldu. 10 dakika akarsuda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen’de 10 dakika boyandı ve 10 dakika akarsuda yıkandılar. %70 alkol+2–3damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. Lamalar 15 dakika Eozinde bekletilip 10 dakika daha akarsuda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı.

3.1.2. Masson' un Üçlü Boyama Yöntemi

Kesitler 60°C etüvde 2 saat bekletildikten sonra, 2x5 dakika ksilole alınarak deparifizasyonları sağlandı. 2x3 dakika absolu alkolden geçirildikten sonra sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirildi. Kesitler daha sonra öncelikle Harris

hemotoksilene 20 dakika etkin bırakıldı. Süre sonunda fazla boyanın arındırılması amacıyla akarsuda 5 dakika akarsuda yıkanan kesitlere Bio-optika Masson trikrom (cat:04-010802, Lot:0910, Bio-Optica 20134 Milano, ITALY via S.Faustino58) kiti uygulanarak boyama tamamlandı. Bu erekle kesitlere 10 damla pikrik asit alkol solusyonu (reagent C) damlatıldı ve 4 dakika bekletildi. Daha sonra, dokular hızlıca (3-4saniye) distile suda çalkalanarak herbir kesite 10 damla asit fuksin (reagentD) damlatılarak yine 4 dakika bekletildi. Camlar distile suyla yıkanarak, üzerlerine 10 damla fosfomolibidik asit solüsyonu (reagent E) damlatılarak 10 dakika bekletildi. Yıkama yapılmadan, camlar silkelendi ve 10 damla aniline mavisi (reagent F) damlatılarak 5 dakika bekletildi.

Son olarak, camlar distile suda yıkanarak artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilol' de tutularak, entellanla kapatıldı.

3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait bloklardan mikrotomla [Leica SM 2000,Germany]. polizimli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada sitokrom- c mouse monoclonal (A-8,sc-13156) (Santa Cruz) primer antikoru kullanıldı.

Kesitler 37 °C' deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57 °C' ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla % 100' lük, % 96' lık ve % 80' lik alkol serilerinden 10' ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı veki kesitler, mikrodalga fırında Sitrat Buffer çözeltisi (LabVision,Fremont, CA, USA) kullanılarak, immünohistokimyasal bulgunun hassasiyetinin artması ereği ile yüksek sıcaklıkta antijen retrieval aşamasına tabi tutuldu. 20 dakika oda ısısında soğutulan kesitler distile suda yıkandıktan sonra pappen (SuperPAP Pen, PN IM3580, Becman Coulter Company, France) ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi. Camlar 15 dakika % 3'lük hidrojen peroksit'e etkin bırakılarak dokularda, endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi.

Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline)(pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 10 dakika Ultra V Block (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan sitokrom- c mouse monoklonal (A-8, sc-13156) (SantaCruz) primer antikoruna etkin bırakılarak bir gece bekletildi. Süre sonunda; 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan DAB (Cat:00-2020, Lot: 720221A, İnvitrogen) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Harris' in Hematoksileni (Cat: 008011, Lot: 73267432A, İnvitrogen) kullanıldı ve camlar entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.3. Malondialdehit (MDA) ve Total Sülfhidril Grubu (RSH) Yöntemleri:

Lipid peroksidasyonunun derecelendirilmesi, daha önce Kurtel tarafından tarif edildiği üzere tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) oluşumları ölçülerek yapıldı. Tüm bileşenler (0,5 ml) santrifüj edilip supernatan kısımları %15 (ağırlık/hacim) trikarboksilik asit, %0,375 (ağırlık/hacim) tiyobarbitürik asit ve 0,25 N HCl içeren solüsyonun 1 ml'sine ilave edildi. Protein çökteltisi santrifügasyonla uzaklaştırılıp supernatan kısımlar ilerleyen basamaklar sırasında lipid peroksidasyonunun devam etmesini önlemek amacıyla 0,02% (ağırlık/hacim) bütile hidroksitoluen içeren cam test tüplerine transfer edildi. Sonrasında örnekler 100 C de kaynayan su banyosunda 15 dakika ısıtılıp soğutuldu ve çökteltinin uzaklaştırılması için santrifüj edildi. Her bir örnekte absorbans 532 nm'de ölçüldü. Lipid peroksit seviyeleri, $1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak TBARS eşdeğerleri biçiminde ifade edildi.

RSH seviyeleri Kurtel tarafından tanımlandığı şekilde ölçüldü. Her bir örneğin 0,5 ml'si 100 mM Tris-HCl (pH 8,2), %1 sodyum dodesil sülfat ve 2 mM EDTA içeren solüsyonun 1 ml'sine eklendi. Karışım 25°C'de 5 dakika inkübe edilip oluşabilecek çökeltileri uzaklaştırmak üzere santrifüj edildi. Sonrasında her bir reaksiyon hacmine 5,5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)/DTNB 0,3 mM eklendi ve 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Her bir örneğin absobans değeri 412 nm'de ölçüldü.

4. BULGULAR

4.1. Hematoksilen–Eozin Bulguları

Prepuberte dönemindeki dişi sıçanlara ait tuba uterina dokusunda Hematoksilen – Eozin ile yaptığımız boyamalarda kontrol grubunda, tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza olmak üzere tüm katmanların normal histolojik yapılarında olduğu izlendi (Resim 1). Tunika mukozada epiteli oluşturan hücrelerin prizmatik hücreler olduğu, çekirdeklerin yüzeye yakın yerleşimli olduğu gözlemlendi. Bu hücreler arasında yer yer, az sayıda daha alçak boylu, çekirdekleri bazalde yerleşim gösteren, apical sitoplazmaları salgı granülleriyle dolu Peg hücrelerinin bulunduğu görüldü. Lamina propria dokusu ise normal histolojik yapısındaydı. Bu katmanın kan damarları ve bağ dokusu hücrelerince zengin, gevşek bağ dokusu yapısında olduğu gözlemlendi (Resim 2). Tunika muskularis mukoza içte enlemesine ve dışta uzunlamasına düzenlenmiş düz kas hücreleri ile normal histolojik yapısında izleniyordu. Kas katmanları arasında belirgin bir ayırım gözlenmiyordu. Tunika seroza ise tek katlı yassı mezotel hücreleri ve altında ince gevşek bağ dokusu ile gene normal yapısındaydı (Resim2).

500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta küçük büyültmede özellikle Tunika mukoza yapılarını etkileyen az düzeyde histolojik değişimler olduğu dikkati çekti. Tunika muskularis ve tunika seroza yapıları kontrol grubuna eşdeşken tunika mukoza'yı oluşturan epitelin yer yer bütünlüğünü kaybettiği izlendi (Resim3). Ancak doku genelinde bulguların kontrol grubuna yakın olduğu saptandı. Büyük büyültmeli kesitlerde prizmatik epitel hücreleri arasında Peg hücreleri normal yapılarında izleniyordu. Bu gruba ait lamina propria yapılarının kontrol grubuna benzer, normal gevşek bağ dokusu özellikleri gösterdiği görüldü. Tunika muskularis, seroza'ya yakın olan kısımlarda bol kan damarı içermekteydi. Tunika seroza normal mezotel ve altında ince gevşek bağ dokusuyla normal histolojik yapısındaydı (Resim4).

1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta ise hem küçük hem de büyük büyültmeli resimlerde kontrol grubuna karşın önemli dejeneratif değişimler saptandı. Küçük büyültmeli resimlerde epitelin önemli ölçüde lümene doğru döküldüğü görüldü (Resim 5). Büyük büyültmeli resimlerde ise tunika mukozayı oluşturan epitelin tek

katlı prizmatik yapısını koruduğu ancak epitelin apical bölgesinin diken benzeri çıkıntılar oluşturduğu ve boyunun alçaldığı izlendi. Lümende önemli ölçüde epitelyal debris saptandı. Lamina propria'nın epitel altı bölgelerinde yer yer neredeyse hiç bağ dokusu hücreleri bulunmadığı, bu bölgenin ara madde ve lifler içerdiği görüldü. Tunika muskularis' in içte sirküler, dışta longitudinal düzenlenimini tamamen kaybettiği saptandı. Tunika muskularis'i oluşturan hücrelerin çekirdeklerinde silinmeler ve adeta iç içe geçmeler şeklinde organizasyon bozukluklarının olduğu görüldü. Tunika seroza' ya ait mezotel hücreleri ve altındaki ince gevşek bağ dokusu ise yer yer ayırt edilemiyordu (Resim6).

CMC (Çözücü) uygulanan gruptaki deneklerin tuba uterina doku örneklerinin histolojik bulguları neredeyse 500 mg/kg/gün DBP uygulanan tuba uterina dokularının histolojik bulgularıyla eşdeğer karakterdeydi. Küçük büyültmede en çok etkilenen bölgenin epitel olduğu dikkat çekti (Resim 7). Yer yer gözlemlenen prizmatik hücre kaybı ve epitelyal dökülme dışında diğer tuba uterina katmanlarının normal histolojik yapı özellikleri sergilediği ayırt edildi (Resim8).

500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta, aynı doz DBP'nin tek başına uygulandığı grup 2'de gözlemlediğimiz dejeneratif değişimlerin önemli ölçüde düzeldiği dikkati çekti. Epitelde, kesit düzeyine uygun olarak yer yer prizmatik hücreler, yer yer de Peg hücreleri izlenmekteydi (Resim 9). Ancak bu grupta tunika seroza' nın tek katlı mezotel hücreleri altındaki ince gevşek bağ dokusunun kontrol grubuna ve yalnızca 500 mg/kg/gün dozunda DBP uygulanan gruba karşın biraz daha kalın olduğu dikkati çekti (Resim10).

1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta ise 1000 mg/kg/gün DBP'nin tek başına uygulandığı gruptaki dejeneratif bulguların yine önemli ölçüde geri döndüğü belirlendi. Tunika muskularis ve tunika seroza tamamen kontrol grubuna eşdeğerken bazı tuba kesitlerinde tunika mukoza' nın epitel katmanındaki dökülmenin halen sebat ettiği gözlemlendi (Resim11). Buna karşın birçok kesit bölgesinde epitelin tek katlı prizmatik yapısını korunduğu, yer yer Peg hücrelerinin bulunduğu, lamina propria' nın ve tunika muskularis' in normal histolojik yapılarında olduğu saptandı. Tunika seroza' nın da mezotel ve altındaki ince gevşek bağ

dokusu ve damarlardan zengin yapısıyla normal histolojik düzenlenimde olduğu saptandı (Resim12).

4.2. Masson'un Üçlü Boyaması Bulguları

Bağ dokusu elemanlarının değişimlerini gözlemleyebilmek amacıyla yaptığımız Masson'un üçlü boyamasında (Masson's Trikrom) kontrol grubunda epitel ve tunika muskularis tabakalarının asidofilik boya özellikleri, buna karşın lamina propria' yı ve tunika seroza' yı oluşturan bağ dokusu liflerinin bazofilik boya alma özellikleri küçük büyültmede izlendi (Resim13). Bu gruba ait büyük büyültmeli resimlerde ise bazofilik bağ dokusu yapı elemanlarının lamina propria' ya ek olarak tunika muskularis' i oluşturan kas yapıları arasında ve kan damarları çevresinde de bulunduğu görüldü (Resim14).

500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta Hematoksilen-Eozin boyamaları ile ayırt edemediğimiz ve tunika muskularis katmanında gözlemlediğimiz en belirgin dejeneratif bulgu, kesitlerin çoğunda ve çoğu bölgede tunika muskularis'i oluşturan kas düz hücrelerinin bölgesel yitimleriydi. Bu bölgelerin bazofilik boyanma özellikleri gösteren bağ dokusu liflerince yer değiştirdiği izlendi (Resim 15). Büyük büyültmeli resimlerde, tunika muskularis' i oluşturan düz kas hücrelerinin oldukça azaldıkları buna karşın bu bölgelerin bazofilik özellikler gösteren bağ dokusu lifleriyle yer değiştirdikleri gözlemlendi. Diğer yapı elemanlarının kontrol grubuyla eşdeğer Masson' s Trikrom boyanma özellikleri sergilediği saptandı (Resim16).

1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta izlediğimiz tunika muskularis' in eozinofilik düz kas yapılarının yitimi ve bunun yerine aynı bölgelerin bağ dokusu elemanlarıyla yer değiştirmesi ile karakterize dejeneratif bulgunun devam ettiği, hatta kas elemanlarının daha da azaldığı gözlemlendi (Resim 17). Tuba uterina duvarının, tunika muskularis katmanındaki düz kas hücrelerinin yitimine koşut tunika muskularis katmanının incelendiği, bu bölgenin bazofilik özellikli bağ dokusu elemanlarını kapsadığı dikkati çekti (Resim18).

Masson' un üçlü boyaması ile yaptığımız boyamada çözücü [CMC] uygulanan grupta hem küçük hem büyük büyültmede tuba uterina' ya ait doku elemanlarının kontrol grubuyla eşdeğer bulgular gösterdiği izlendi (Resim 19,20).

500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta aynı doz DBP' nin tek başına uygulandığı tunika muskularis' i oluşturan eozinofilik kas hücrelerinin yitimi olarak tanımladığımız dejeneratif bulgunun tamamen geri dönmüş olduğunu gözlemledik. Bunun dışında üçlü boyanma özellikleri açısından diğer katman yapılarının, kontrol grubuyla eşdeğer özellikte olduğunu izledik (Resim 21,22).

1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta tunika muskularis'i oluşturan eozinofilik kas yapılarının tek başına aynı dozda DBP uygulanan gruba oranla oldukça arttığı, yine de tunika muskularis düz kas hücreleri arasında bazofilik özellikli bağ dokusu lif yapılarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu izlendi (Resim 23). Aynı şekilde bağ dokusu lif elemanlarının, lamina propria'da da kontrol grubuna oranla daha yoğun olduğu dikkati çekti (Resim24).

Çizelge 4.1. Işık mikroskopi düzeyinde tuba uterina dokusu elemanlarının dejenerasyon kriterleri

	Kontrol Grubu	500 mg DBP	1000mg DBP	Çözücü (CMC)	500 mg DBP + Resv.	1000 mgDBP+ Resv.
Epitelde dökülme	0	3	4	2	2	2
Lümeninde epitelyal debris	0	2	2	1	1	1
Lamina propria' da hücresel kayıp	0	1	2	0	0	0
Tunika muskularis düz kas hücrelerinde kayıp	0	3	5	0	1	2
Tunika muskularis düz kas hücrelerinde çekirdek silinmesi	0	2	4	0	0	1
Tunika muskularis' te incelme	0	2	5	0	1	2
Tunika seroza' da yapısal bozulma	0	0	1	0	0	0

4.3. Sitokrom – c Bulguları

Sitokrom- c ile yapılmış immünohistokimyasal boyama sonucunda, kontrol grubuna ait kesitlerde oldukça az yerde, bazı epitel ve bağ dokusu hücrelerinde, zayıf çekirdek ve sitoplazma reaktivitesi izlendi (Resim25).

500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta epitel, lamina propria, tunika muskularis ve tunika seroza katmanlarına ait hücrelerde sitokrom- c immünreaktivitesinin kontrol grubuna karşın hem orta dereceli olarak arttığı hem de immünpozitif [+].hücrelerin sayıca çoğaldığı gözlemlendi (Resim26).

1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta sitokrom – c immünreaktivitesinin bir önceki gruba karşın daha da artmış olduğu izlendi. İmmünreaktivitenin, epiteli oluşturan prizmatik hücrelerin apikal hücre zarlarında kuvvetli, apikal sitoplazmalarında orta dereceli olduğu gözlemlendi. Lamina propria' yı oluşturan bağ dokusu hücrelerinde hem sitoplazma hem de çekirdekte kuvvetli immün pozitif(+) reaksiyon olarak saptandı. Tunika muskularis' in düz kas hücrelerinde ise yine hem çekirdek hem de sitoplazmada, ortadan kuvvetliye değişen immünreaktivite görüldü (Resim27).

Çözücü [CMC].grubunda yapılan çalışmada immünreaktivitenin kontrol grubu ile 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grup arasında bir immün pozitiflik sergilediği gözlemlendi. Epitel hücrelerinin sitoplazmalarında zayıf, lamina propria ve tunika muskularis' in düz kas hücrelerinde ise orta derecede immünreaktivite izlendi (Resim28).

500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta epitel, lamina propria, tunika muskularis ve tunika seroza' da gözlenen immünreaktivitenin kontrol grubuna oranla daha pozitif olduğu fakat tek başına aynı dozda DBP uygulanan gruba oranla daha az olduğu saptandı (Resim29).

1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grupta gözlemlenen immünreaktivitenin tek başına 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan gruba göre daha

az olduğu saptandı. Fakat bu gruptaki immune pozitif hücrelerin, 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan gruba oranla daha fazla olduğu izlendi (Resim30).

Çizelge 4.2. Sitokrom- c antikoru ile oluşturulan immünreaksiyon yoğunluk dağılımı

Doku elemanları:	Kontrol Grubu	500 mgDBP	1000 mgDBP	Çözücü Grubu	500 mg DBP+Resv.	1000mg DBP+Resv.
Epitel hücre apikal zarı	0	2	5	1	1	3
Epitel hücre sitoplazması	1	3	3	2	2	2
Epitel hücre çekirdekleri	0	3	4	2	1	2
Lamina propria hücre sitoplazması	1	1	5	1	0	1
Tunika muskularisdüz kas hücre sitoplazması	1	3	4	2	1	1
TM's düz kas hücre çekirdekleri	0	2	4	1	1	2
Mezotel hücreleri	1	2	2	1	1	1

4.4. Malondialdihit (MDA) ve Total Sülfidril Grubu (RSH) Ölçüm Bulguları

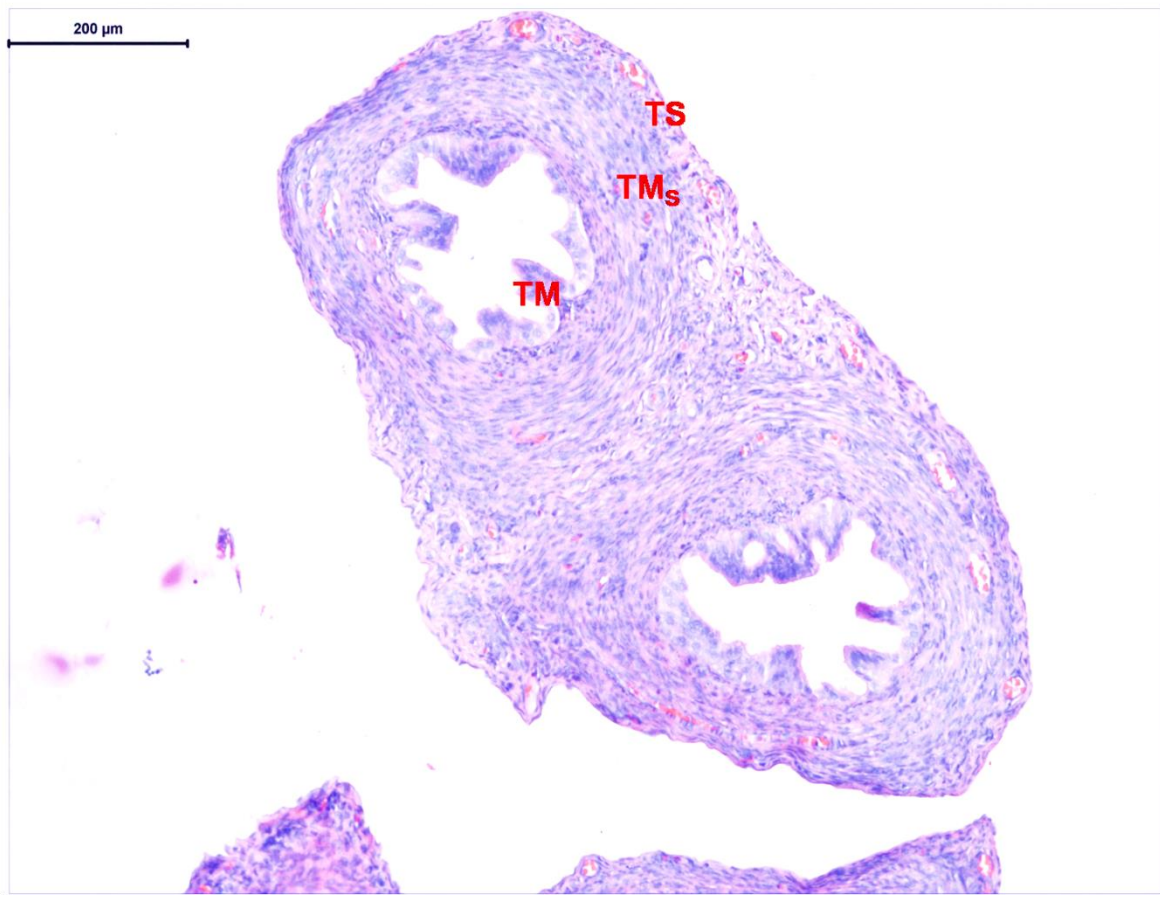
Tuba uterina dokusundaki MDA konsantrasyonları lipit peroksidasyonu ölçülerek elde edildi. MDA seviyelerinin tüm gruplarda değiştiği gözlemlendi (Çizelge 4.3). Kontrol grubunda ve 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta ölçülen değerler birbirine oldukça yakındı ($P<0.05$) Buna karşın 500 mg/kg/gün DBP, 1000 mg/kg/gün DBP ve çözücü uygulanan gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında lipit peroksidasyonu düzeyinde önemli bir artış gözlemlendi ($P<0.05$). Düşük doz DBP + Resveratrol uygulanan grupta, yüksek doz DBP + Resveratrol uygulanan gruba göre MDA düzeyinin daha düşük olduğu, Resveratrol'ün bu grupta daha etkili şekilde lipit peroksidasyonunu azalttığı görüldü.

Oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu göstergelerinden bir diğeri olan Total Sülfidril Grubu (RSH) ölçümleri sonucunda RSH değerlerinin yine tüm gruplarda değişmiş olduğu saptandı (Çizelge 4.3). Kontrol grubunda ve 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan gruptaki RSH düzeylerinin birbirine yakın olduğu görüldü

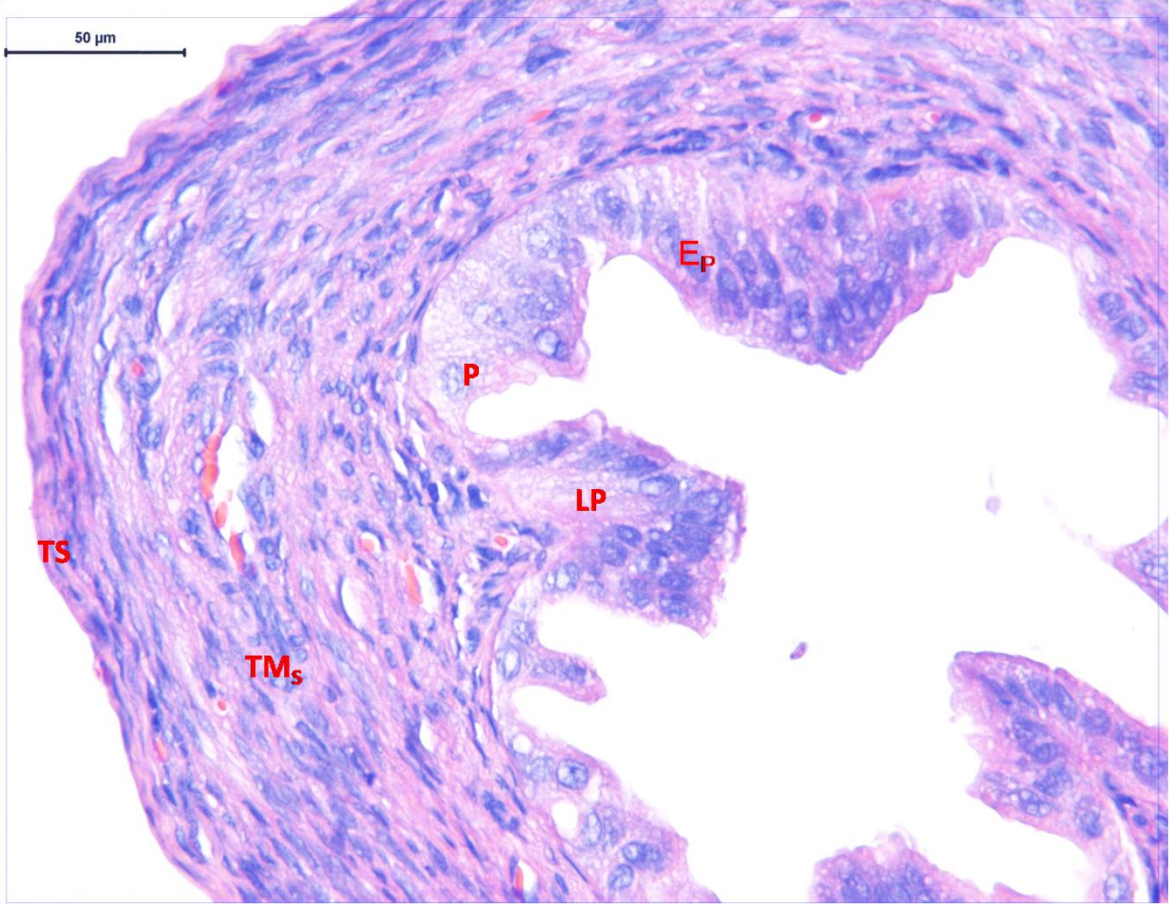
($P < 0.05$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük doz DBP uygulanan grubun RSH düzeyinin düştüğü, yüksek doz DBP uygulanan grubun RSH düzeyinin ise düşük doz uygulanan gruptan da daha düşük olduğu ölçüldü ($P < 0.05$). İlgili çekici olarak çözücü uygulanan grupta ve 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan gruptaki RSH miktarlarının birbirine oldukça yakın olduğu ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalmış oldukları gözlemlendi ($P < 0.05$). 1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun RSH düzeylerinin, 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan gruba oranla daha düşük olduğu ölçüldü. Tüm bu bulgulara dayanarak Resveratrol uygulamasının DBP'nin neden olduğu RSH düzeylerindeki azalmayı engelleyebileceği saptandı.

Çizelge 4.3. MDA ve RSH ölçüm istatistikleri

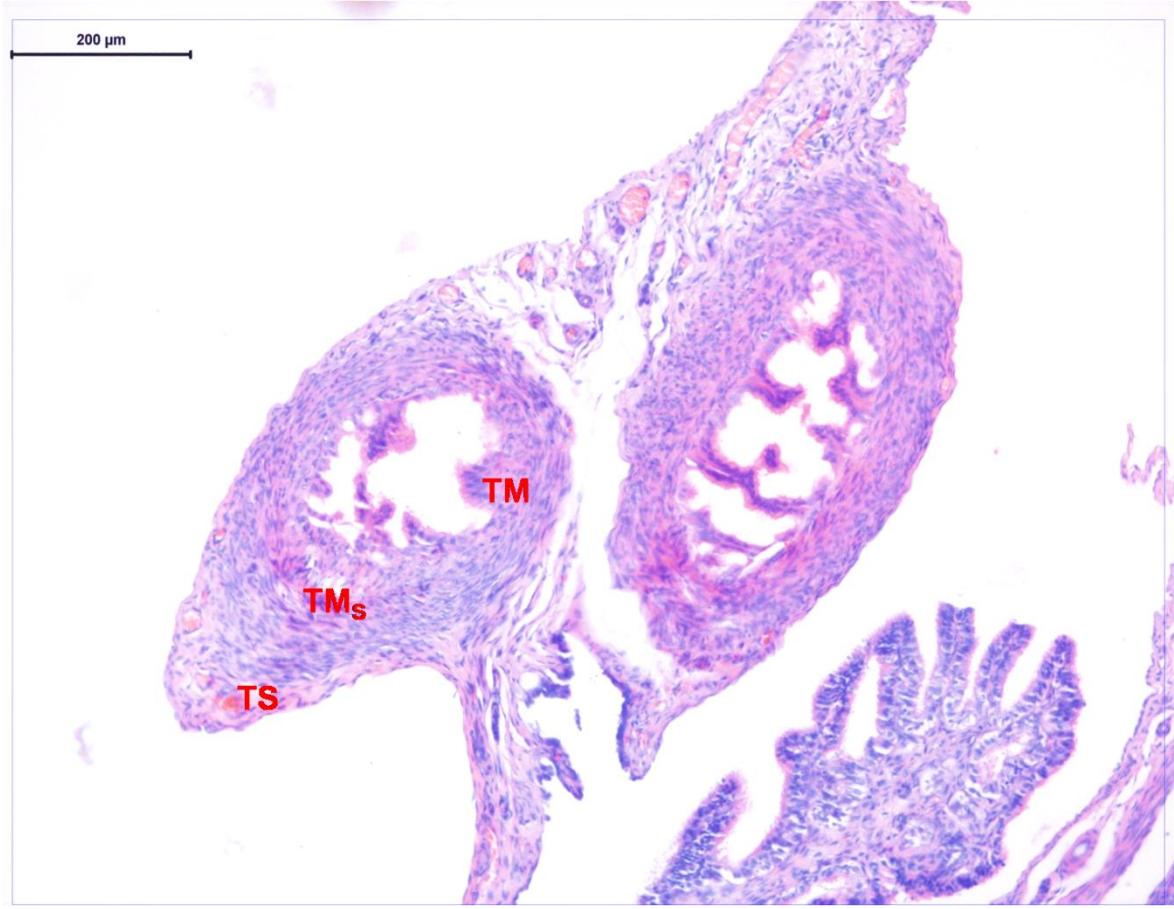
Gruplar	MDA (nmol/gr)	RSH (nmol/gr)
	M $\pm$ SD	M $\pm$ SD
Kontrol	5,01 ^a $\pm$ 0.11	0.52 $\pm$ 0.06 ^a
500 mg/kg DBP	6,21 ^{b,d} $\pm$ 0.22	0.35 $\pm$ 0.03 ^b
1000 mg/kg DBP	6,80 ^b $\pm$ 0.21	0.26 $\pm$ 0.01 ^c
Çözücü (CMC)	5,30 ^c $\pm$ 0.09	0.47 $\pm$ 0.04 ^{a,d}
Düşük doz DBP+Resveratrol	5,25 ^c $\pm$ 0.07	0.46 $\pm$ 0.03 ^a
Yüksek doz DBP+Resveratrol	5,80 ^d $\pm$ 0.14	0.40 $\pm$ 0.02 ^{b,d}
P	< 0.001	< 0.001



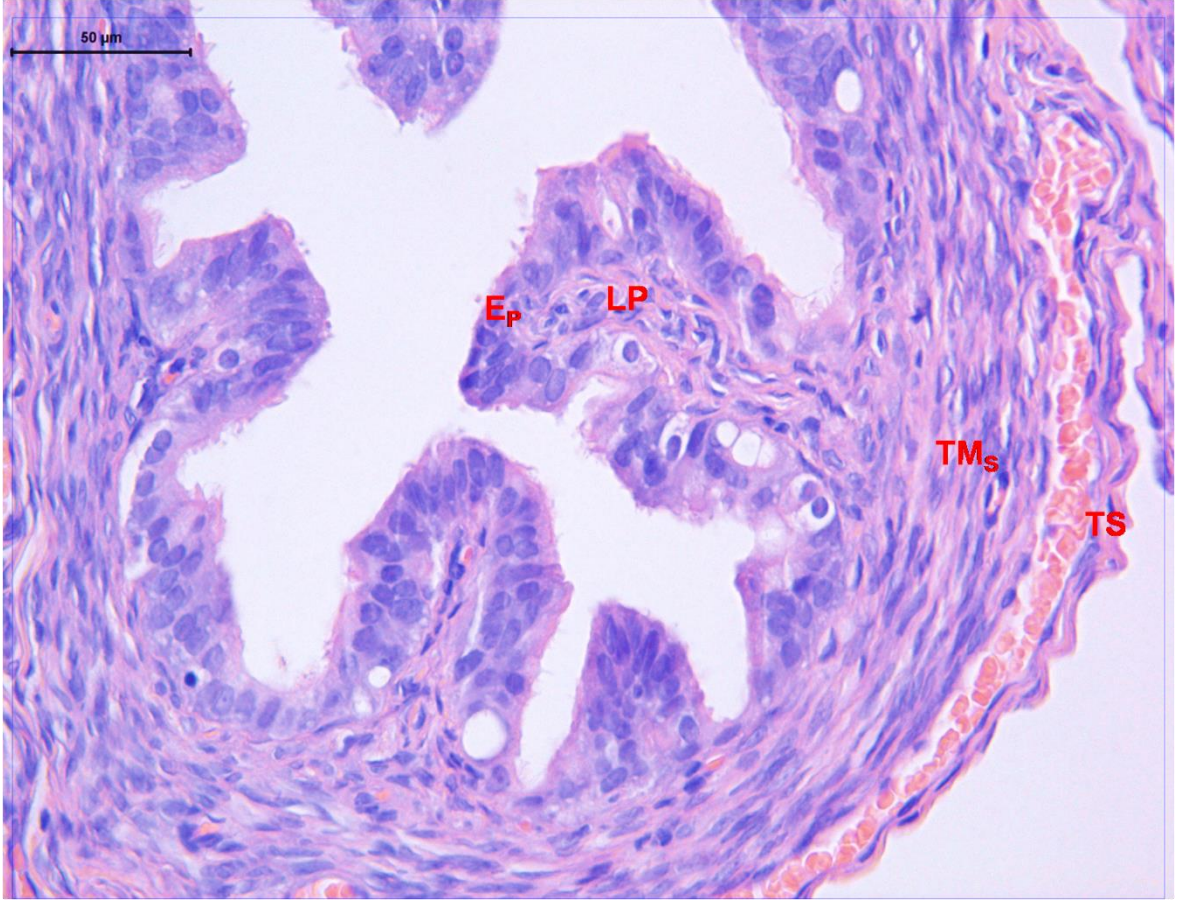
Resim 4.1. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100)



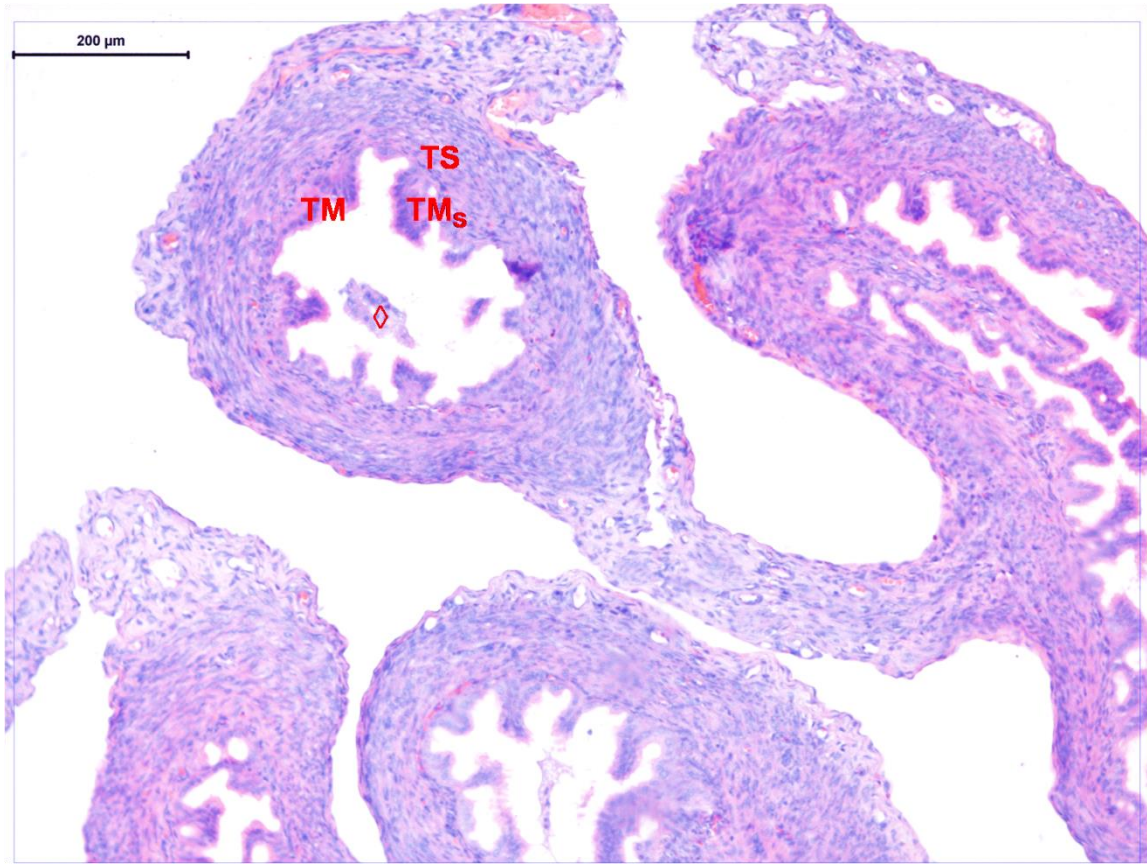
Resim 4.2. Kontrol grubu Tuba Uterina dokusunda epitel (Ep), Lamina Propria (LP), Peg hücresi (P), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



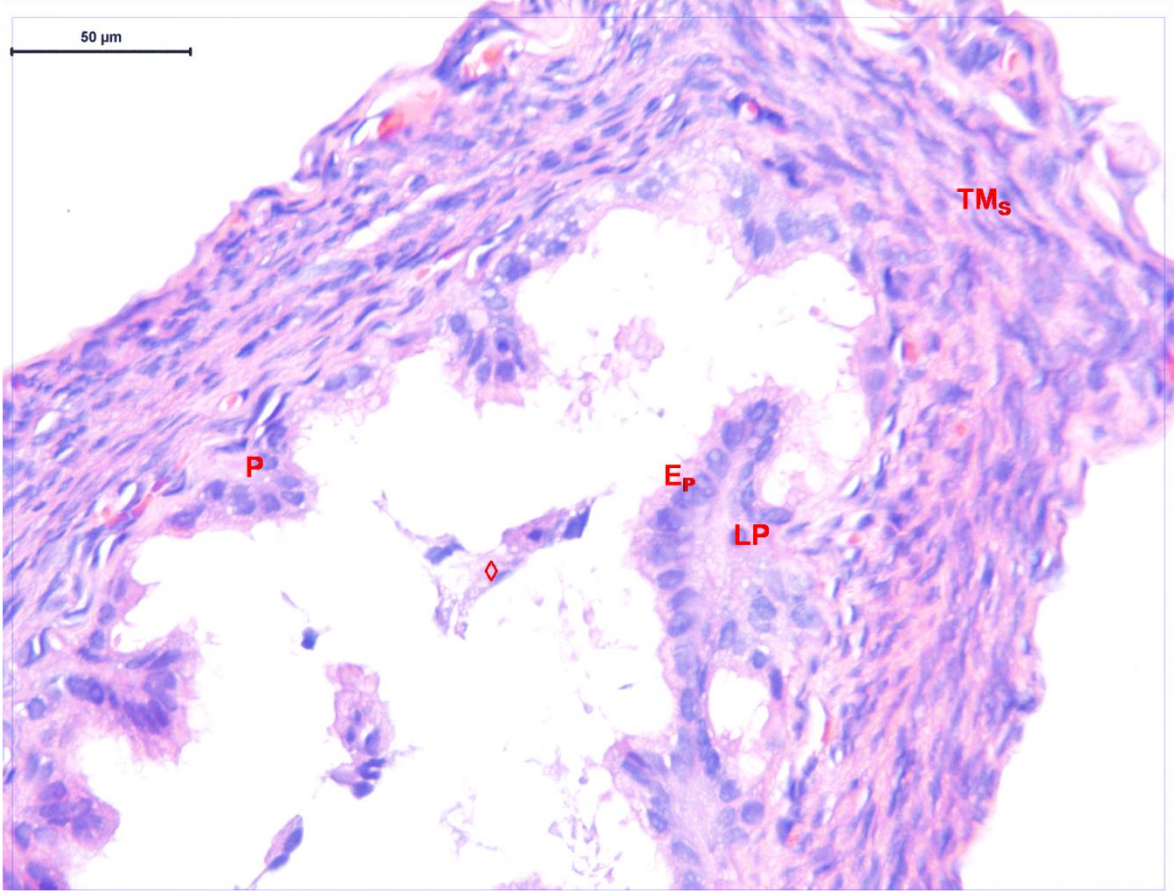
Resim 4.3. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100)



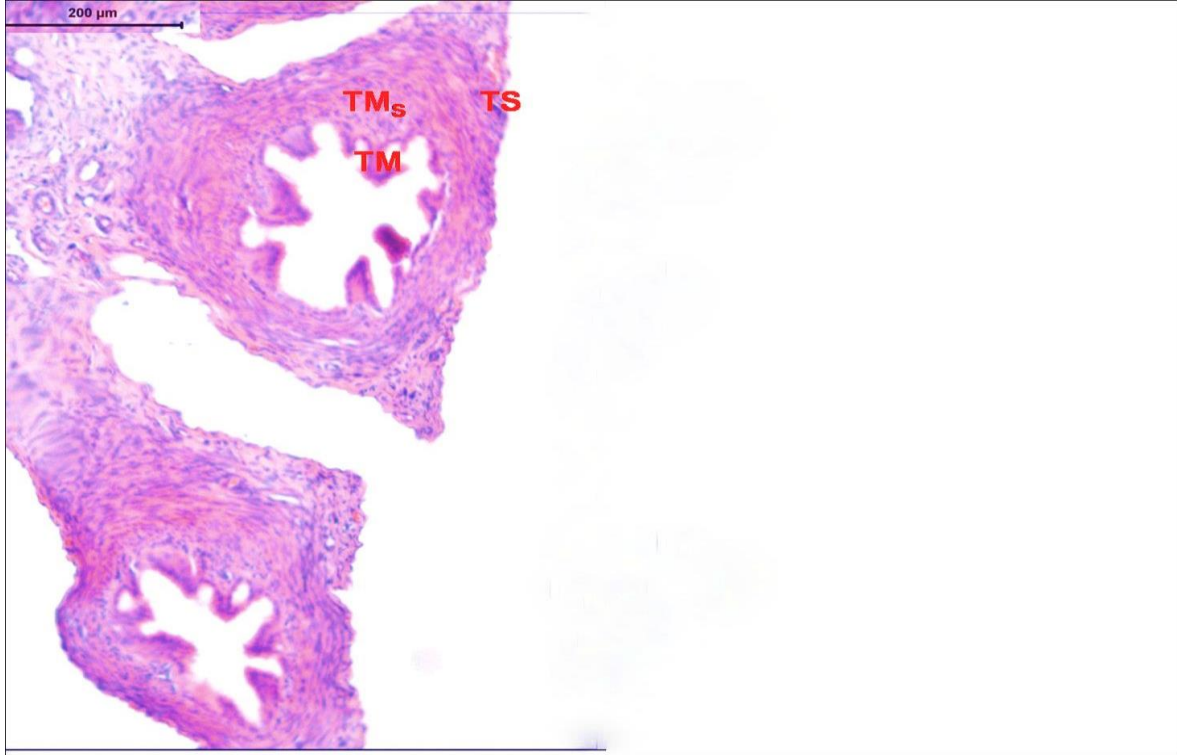
Resim 4.4. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda epitel (E_P), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



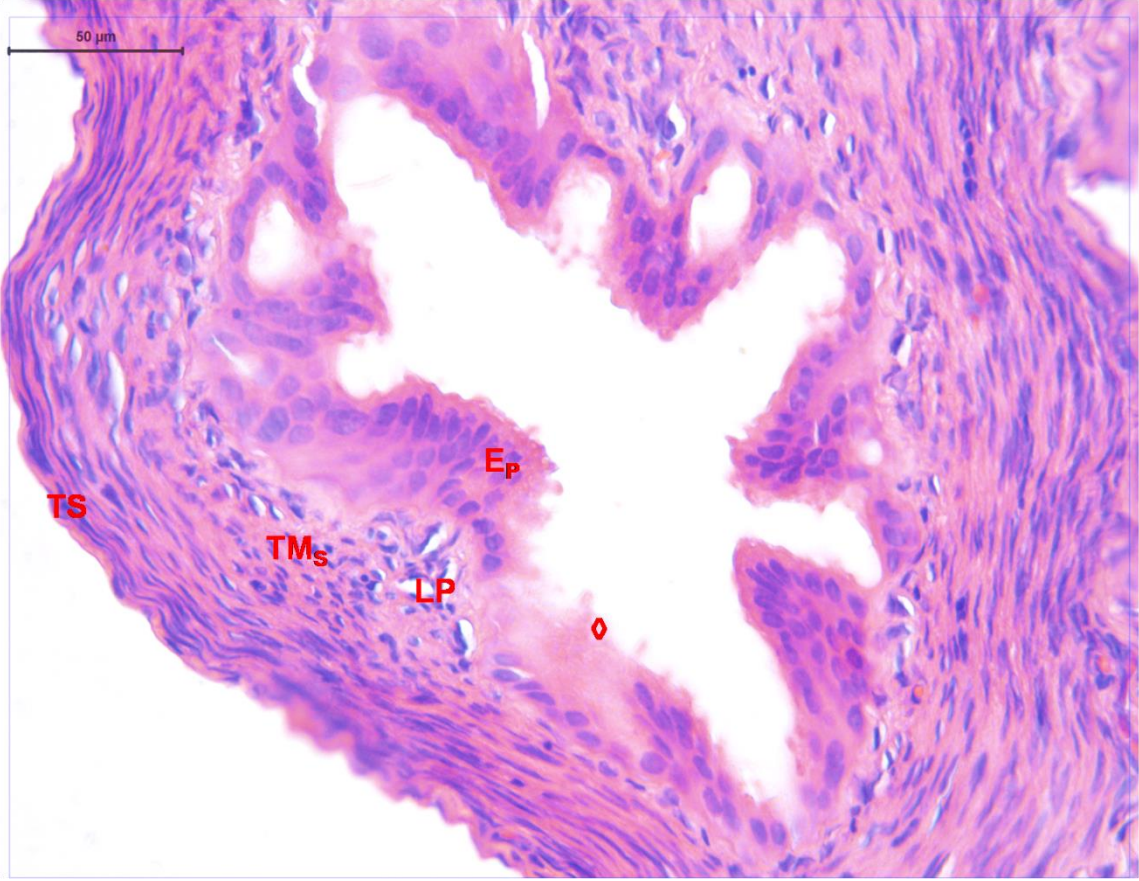
Resim 4.5. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s), Tunika Seroza (TS) yapıları ve epitelde dökülme (◊) izleniyor (Hematoksilen – EozinX100)



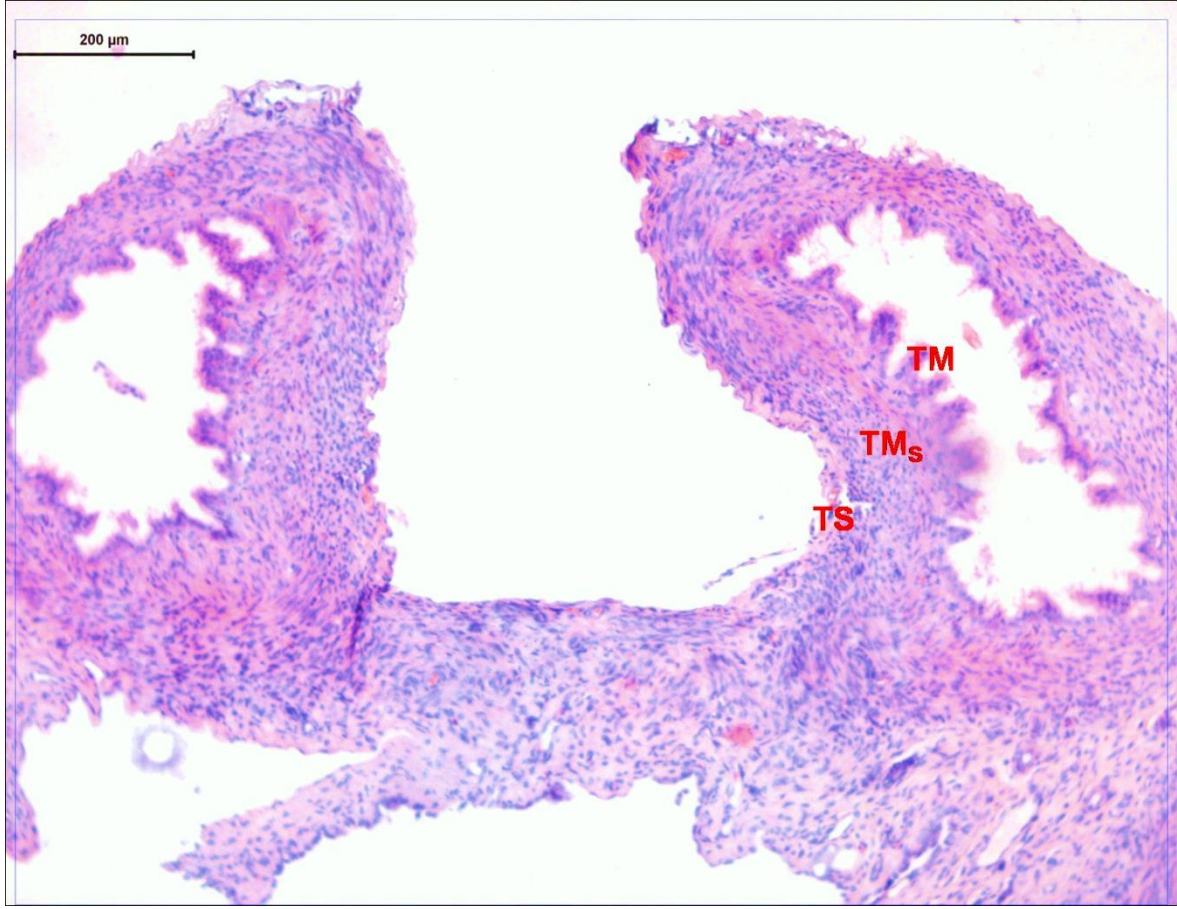
Resim 4.6. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan Tuba Uterina dokusunda epitel (E_p), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TM_s), Tunika Seroza (TS) yapıları ve epitelde dökülme (◊) izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



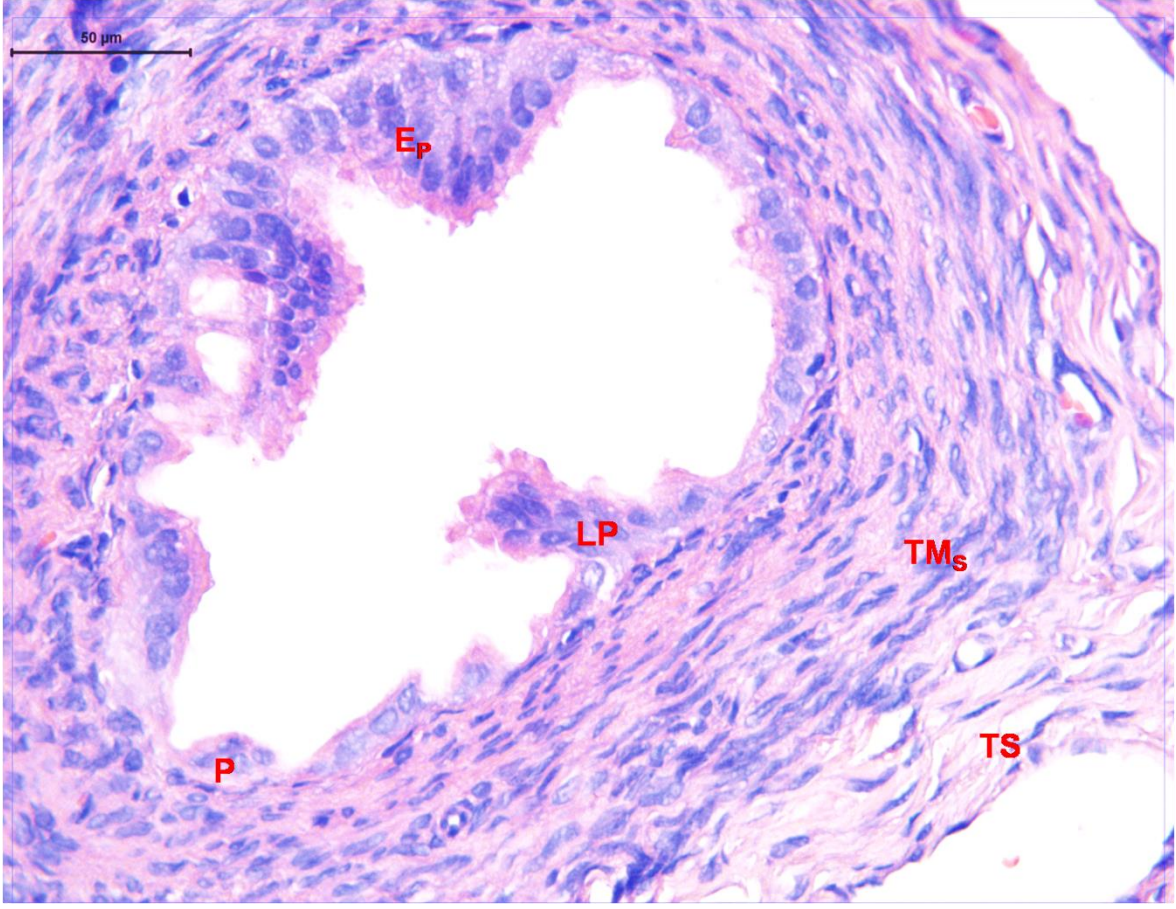
Resim 4.7. Çözücü uygulanan tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



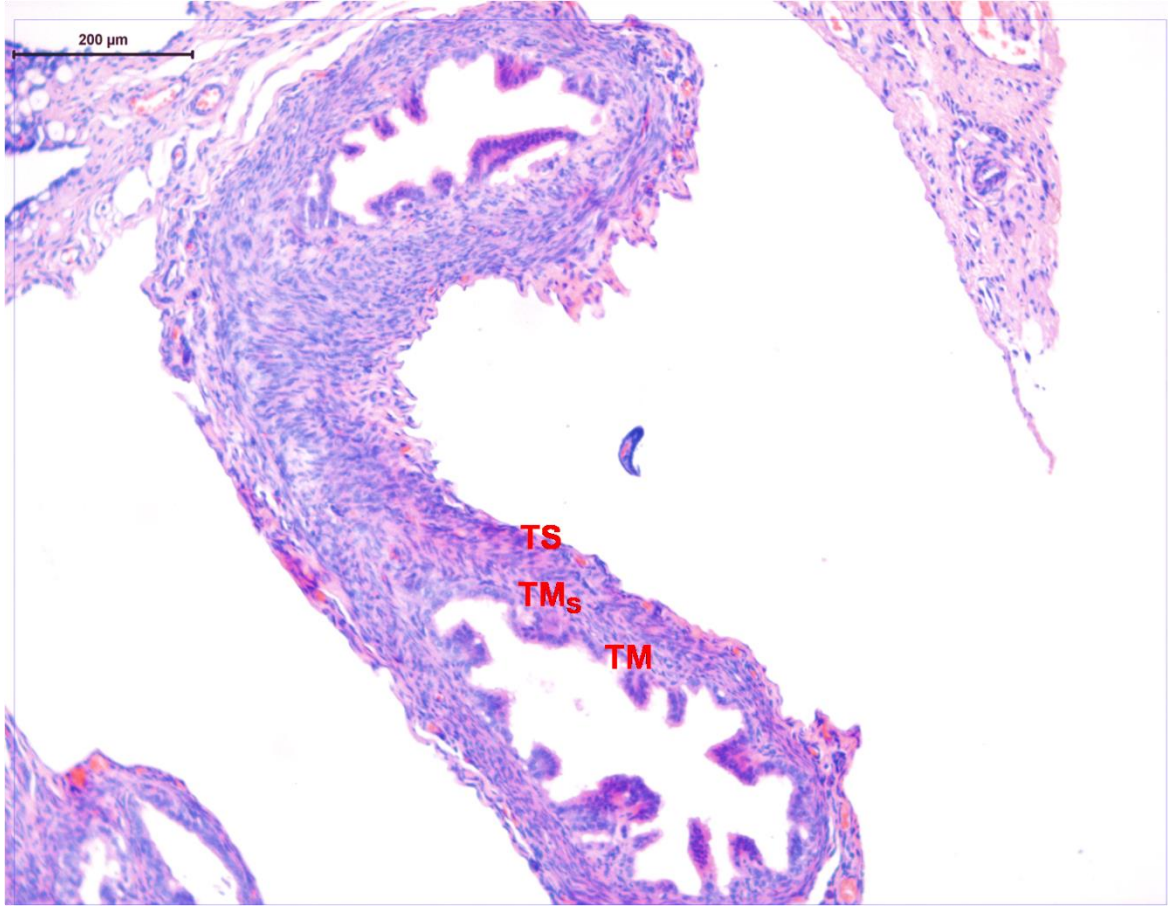
Resim 4.8. Çözücü (CMC) uygulanan Tuba Uterina dokusunda epitel (E_p), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TM_s), Tunika Seroza (TS) yapıları ve epitelde dökülme ($\diamond$) izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



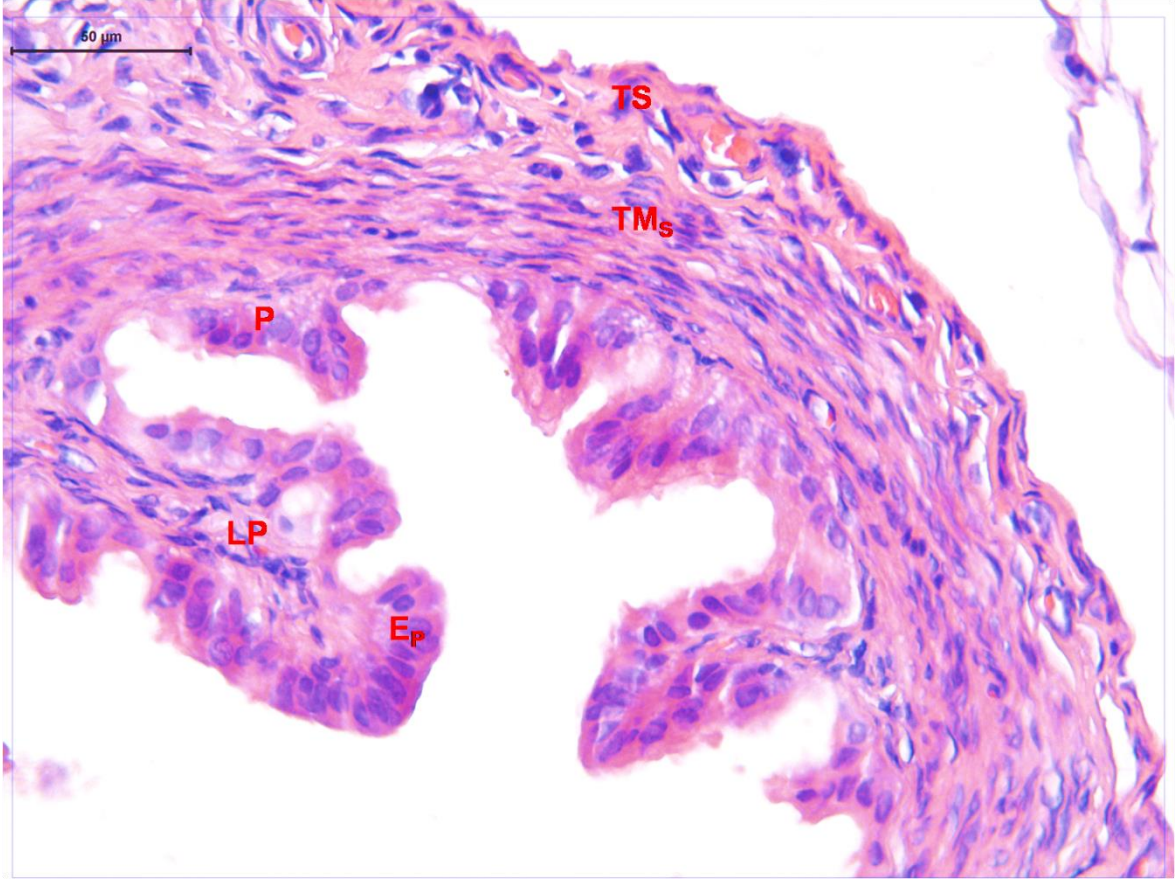
Resim 4.9. 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s), Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100)



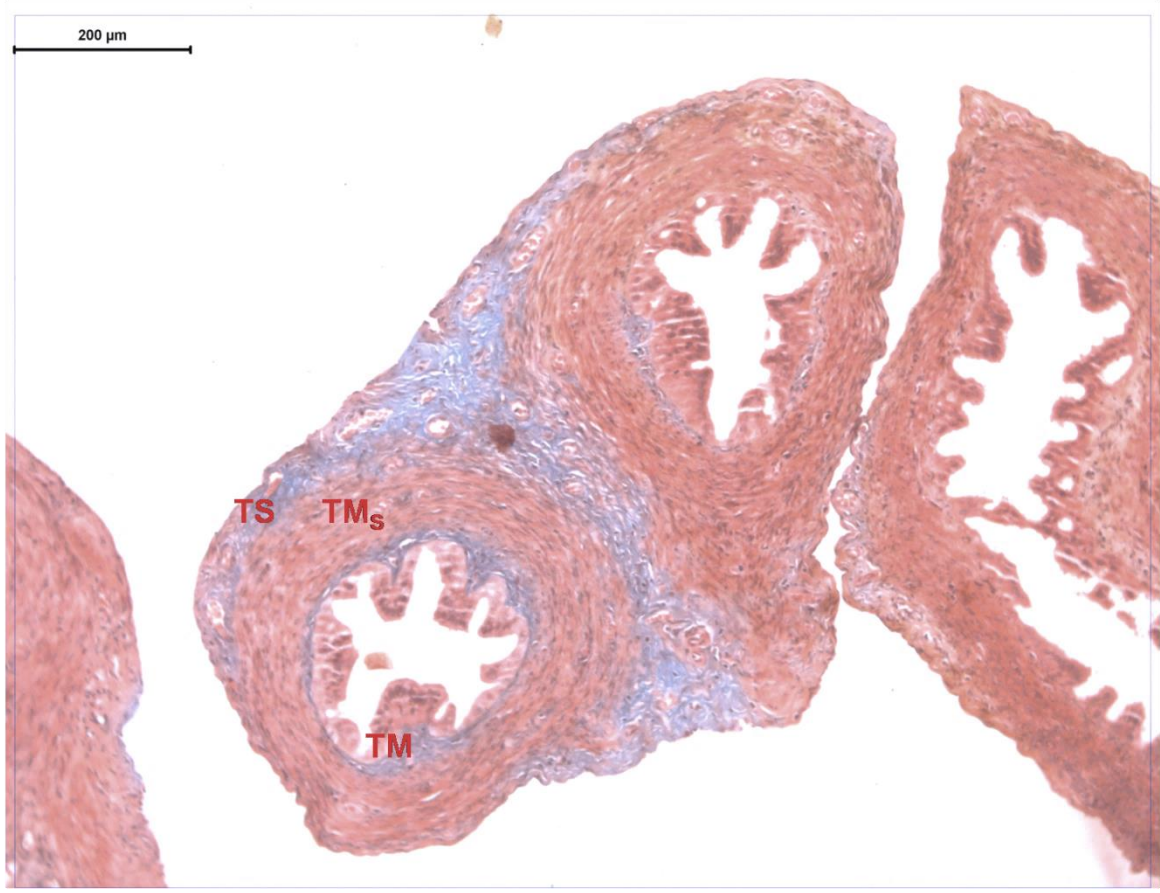
Resim 4.10. 500 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda epitel (E_p), Lamina Propria (LP), Peg hücresi (P), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



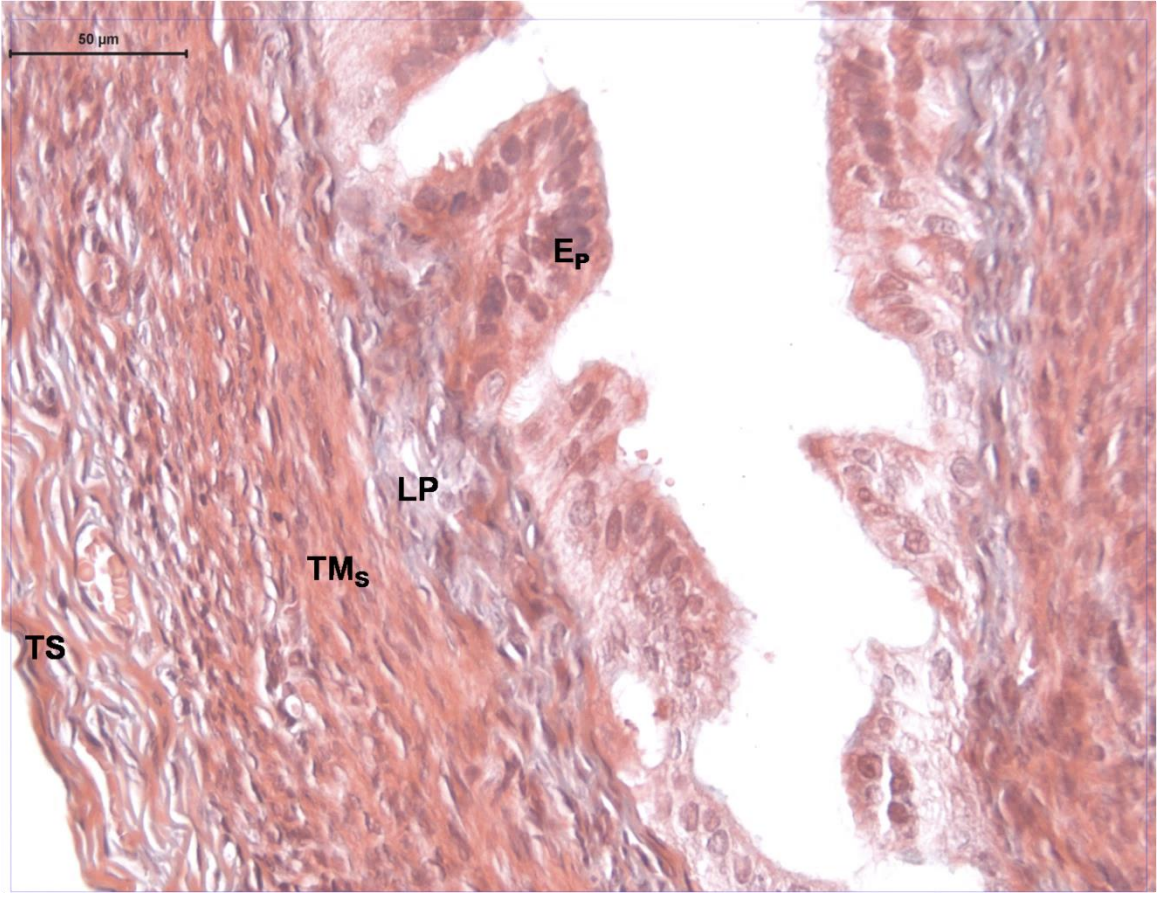
Resim 4.11.1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grupta Tuba Uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s), Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX100)



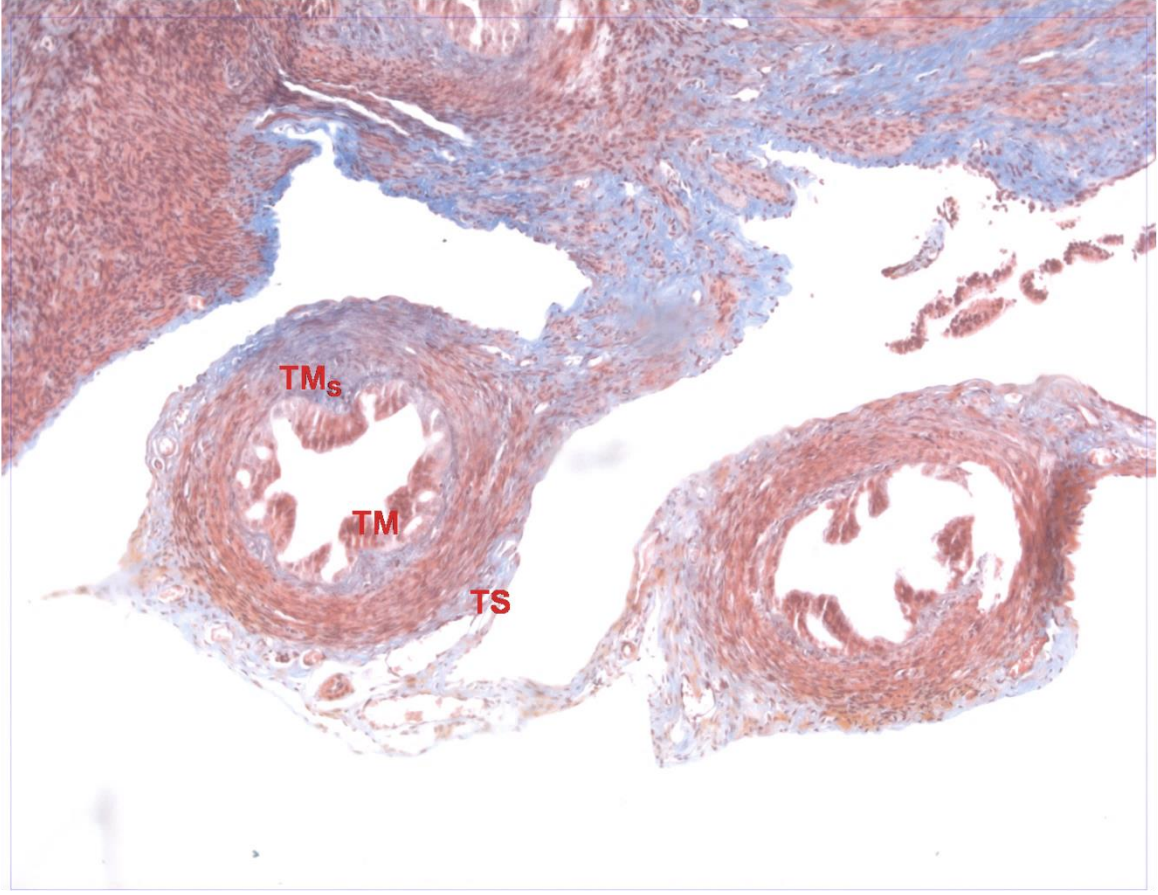
Resim 4.12.1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grupta tuba uterina dokusunda epitel (E_P), Lamina Propria (LP), Peg hücresi (P), Tunika Muskularis (T_M_S) ve Tunika Seroza (T_S) yapıları izleniyor (Hematoksilen – EozinX400)



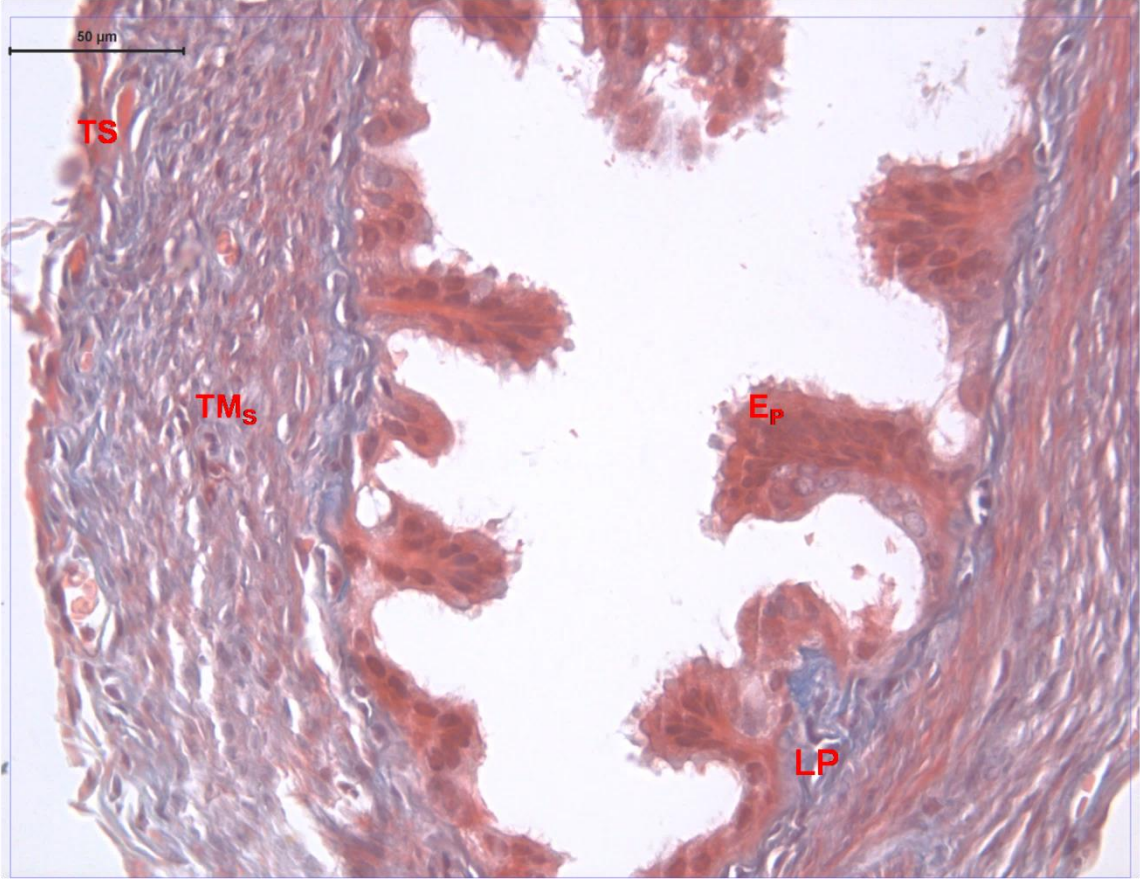
Resim 4.13. Kontrol grubu tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson's TrikromX100)



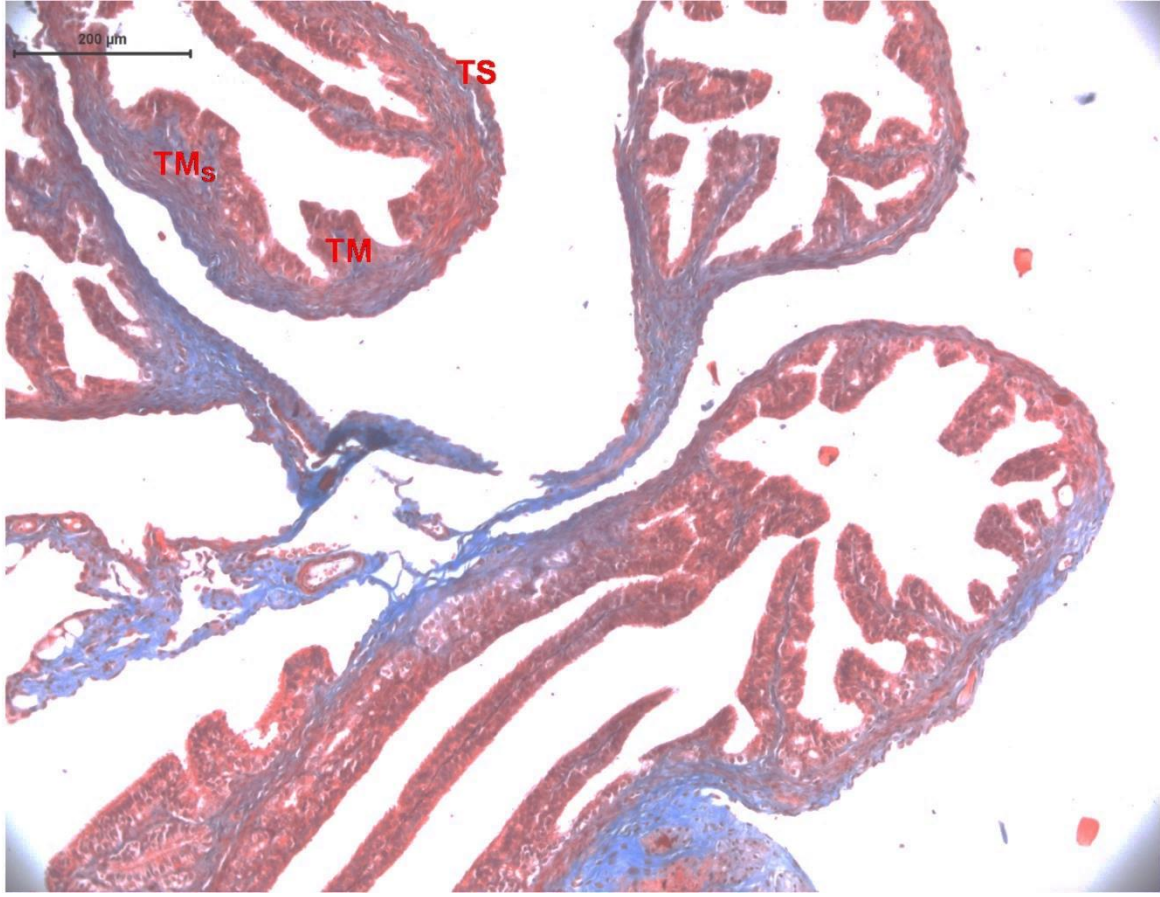
Resim 4.14. Kontrol grubu tuba uterina dokusunda epitel (Ep), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson's TrikrómX400)



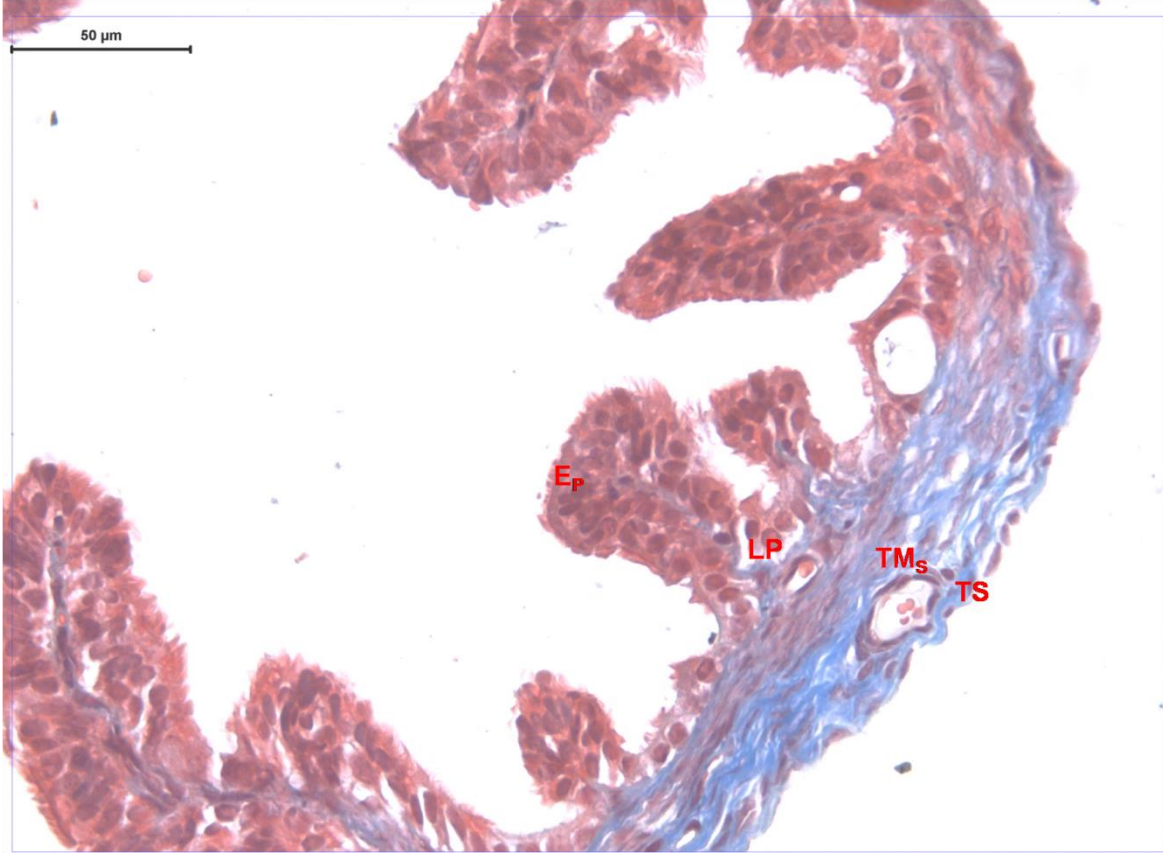
Resim 4.15. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100)



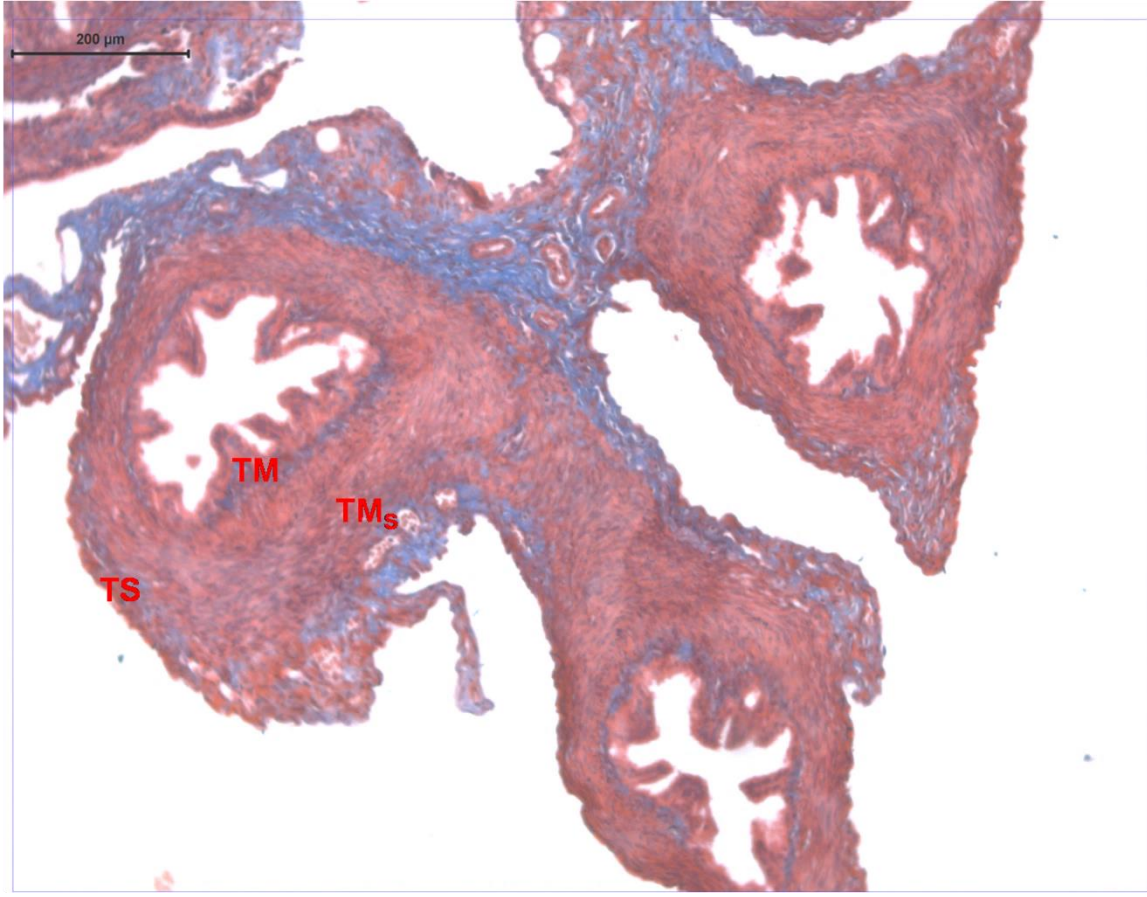
Resim 4.16. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun dokusunda epitel (E_P), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (T_M_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikrómX400)



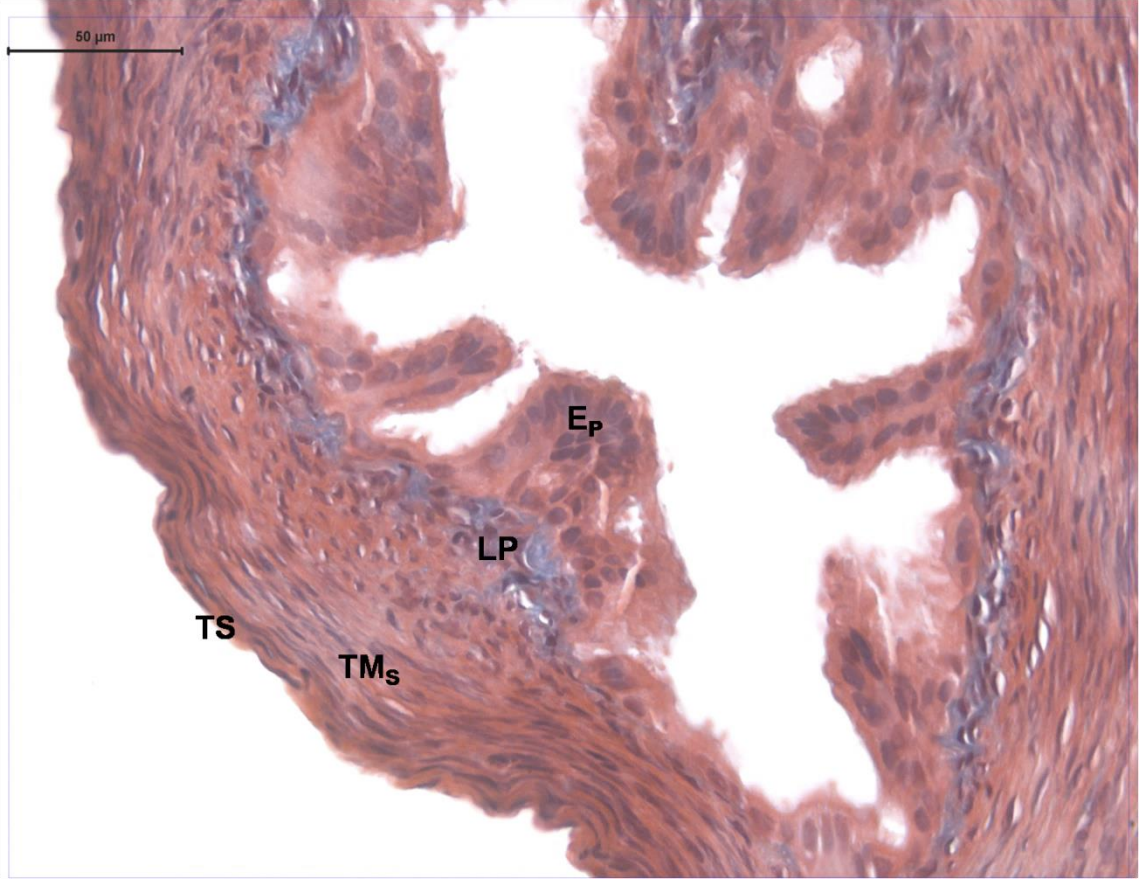
Resim 4.17. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza(TM), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikomX100)



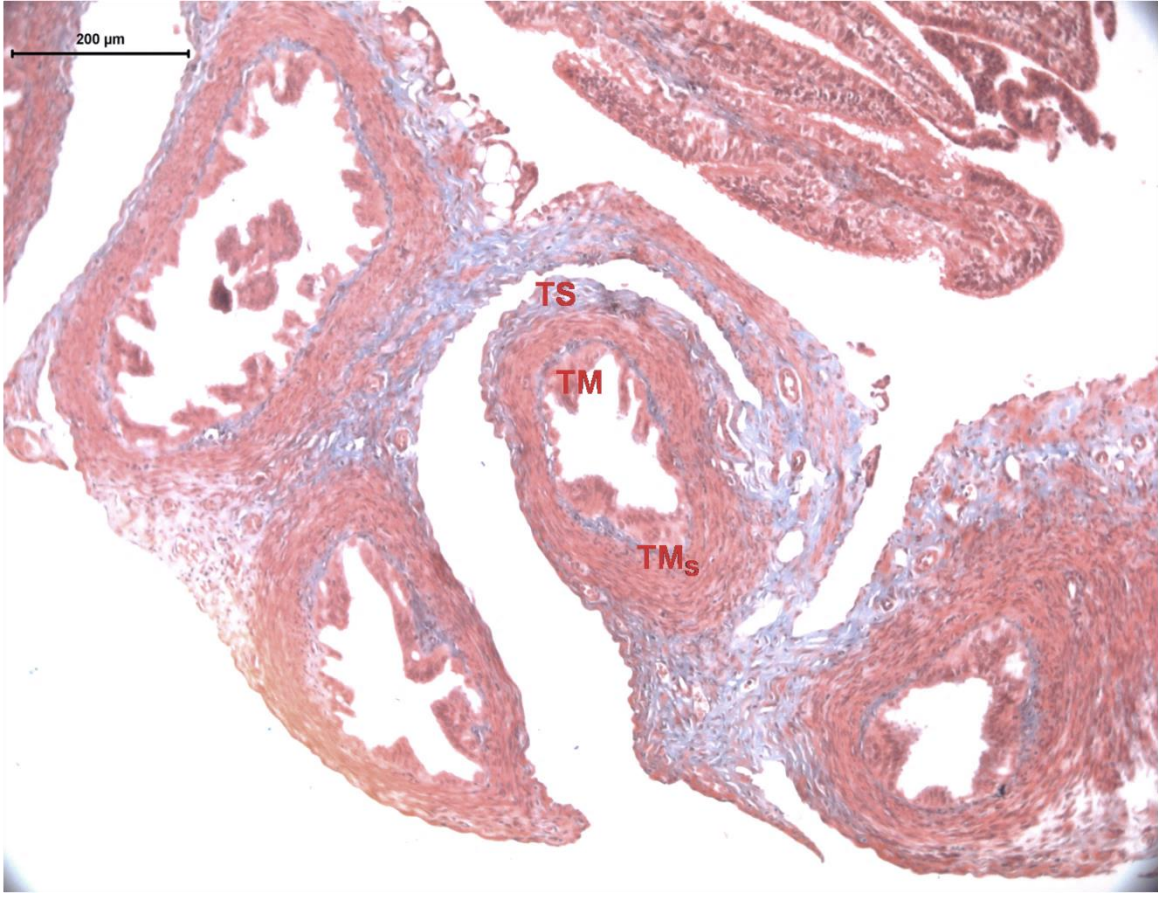
Resim 4.18. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun tuba uterina dokusunda epitel (E_p), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrichromX400)



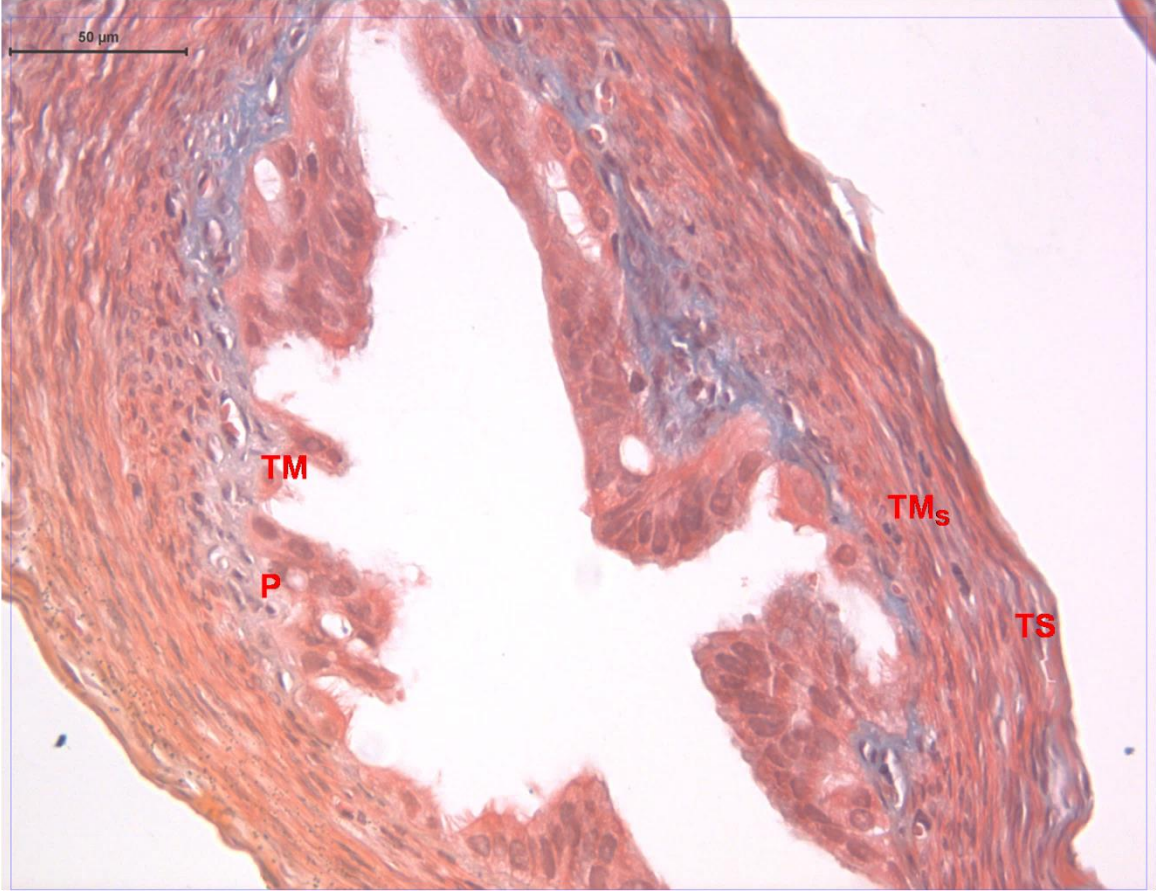
Resim 4.19. Çözücü (CMC) uygulanan grubun tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikrómX100)



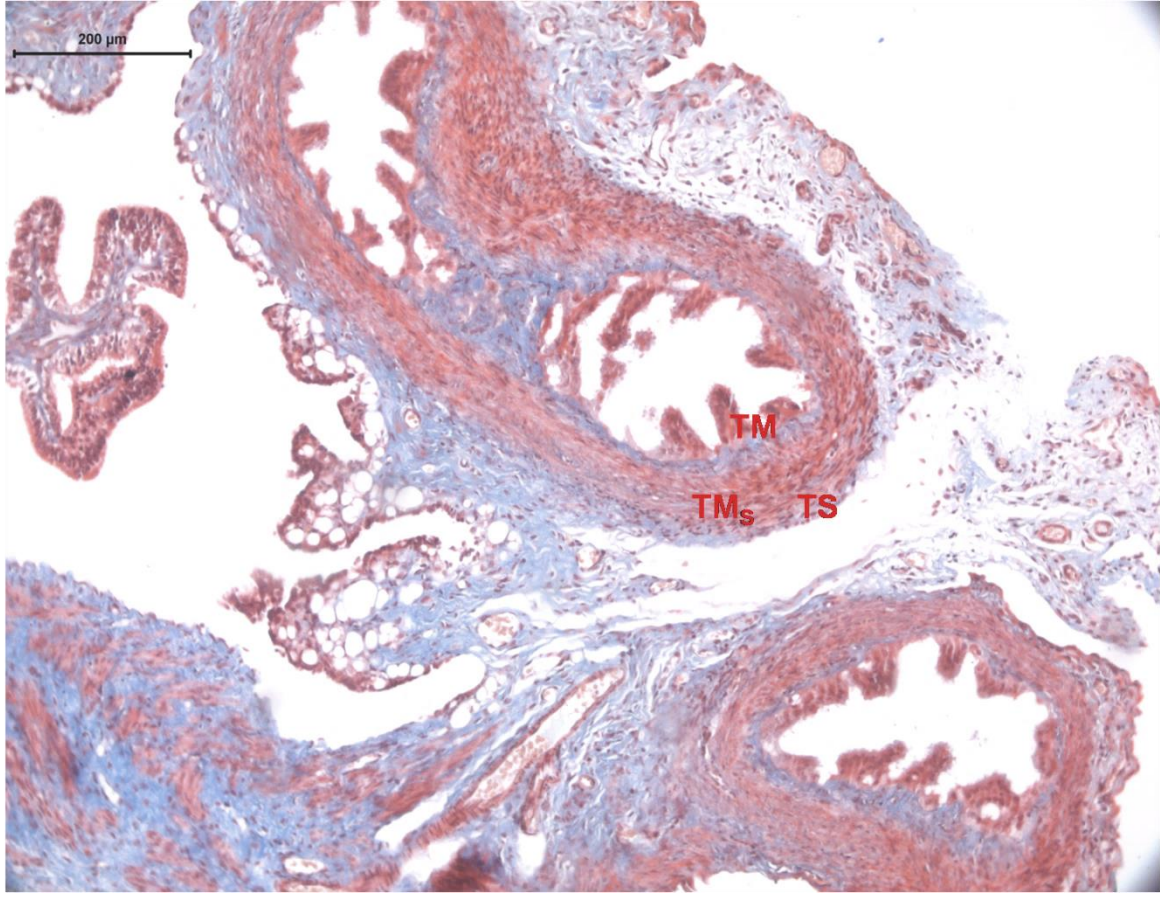
Resim 4.20. Çözücü uygulanan grubun tuba uterina dokusunda epitel (E_P), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikrómX400)



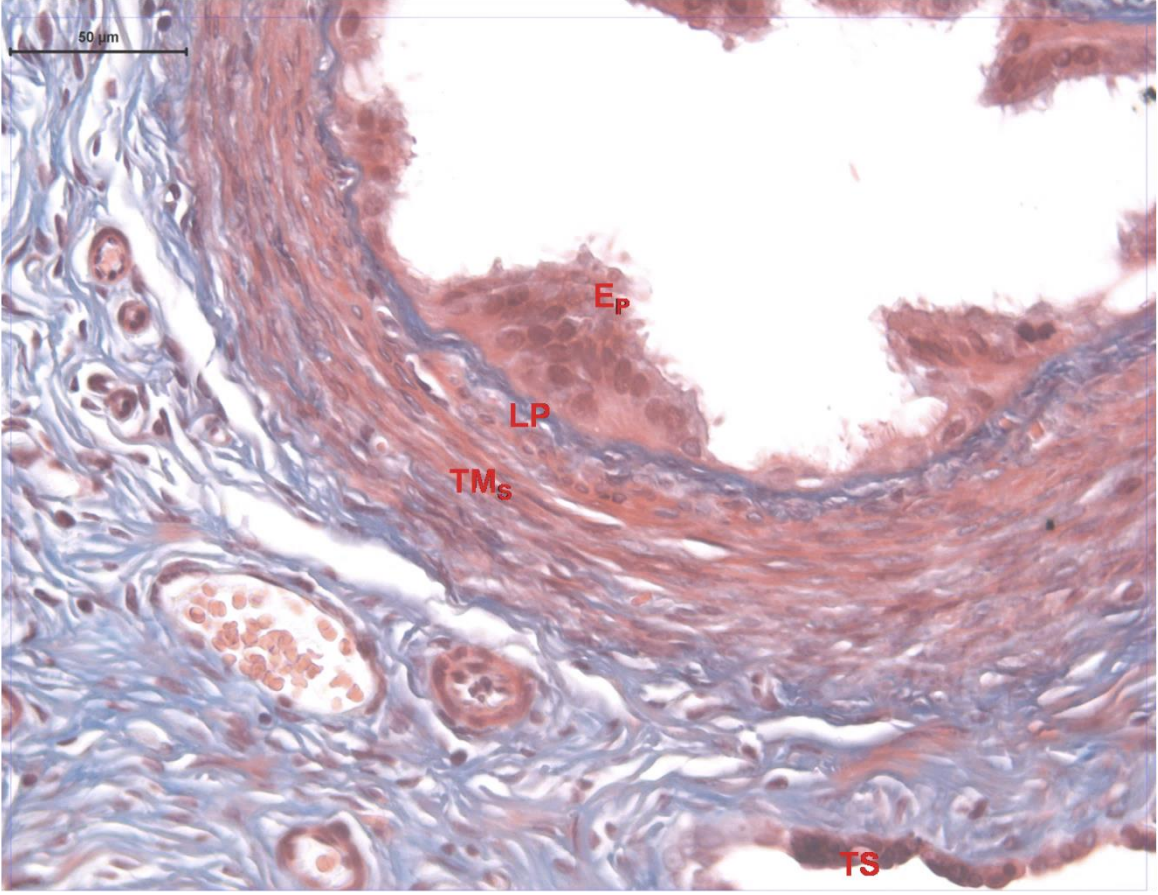
Resim 4.21.500 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grubun tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s TrikromX100)



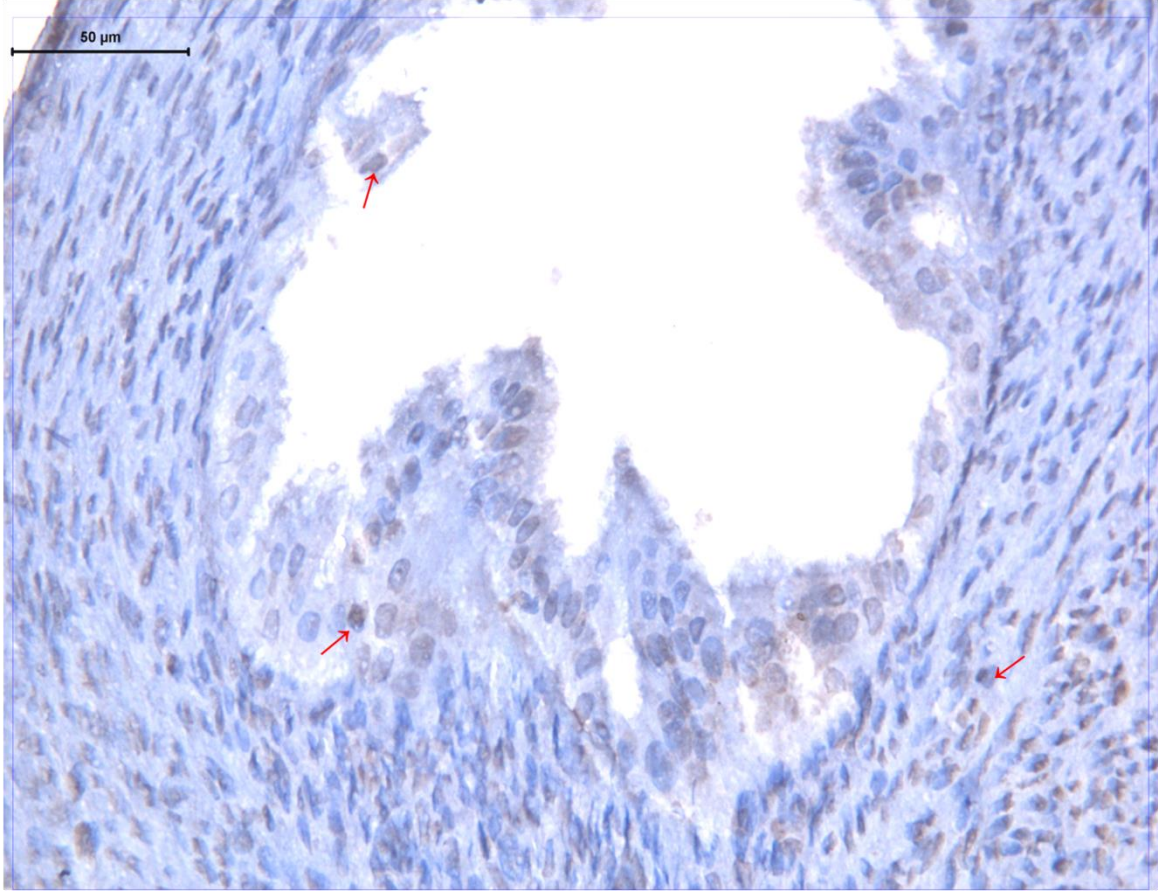
Resim 4.22.500 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grubun tuba uterina dokusunda epitel (E_P), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s Trikrom X400)



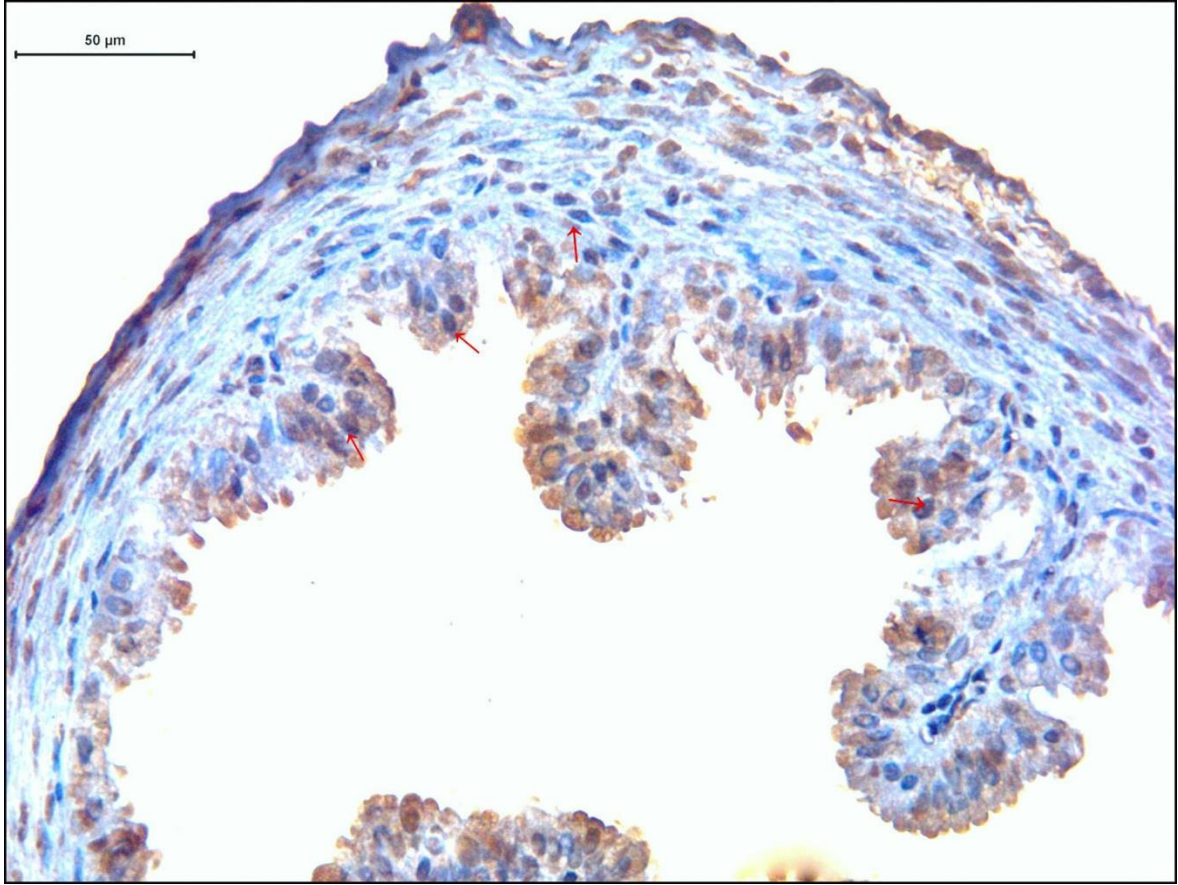
Resim 4.23. 1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun tuba uterina dokusunda Tunika Mukoza (TM), Tunika Muskularis (TM_s) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s Trikrom X100)



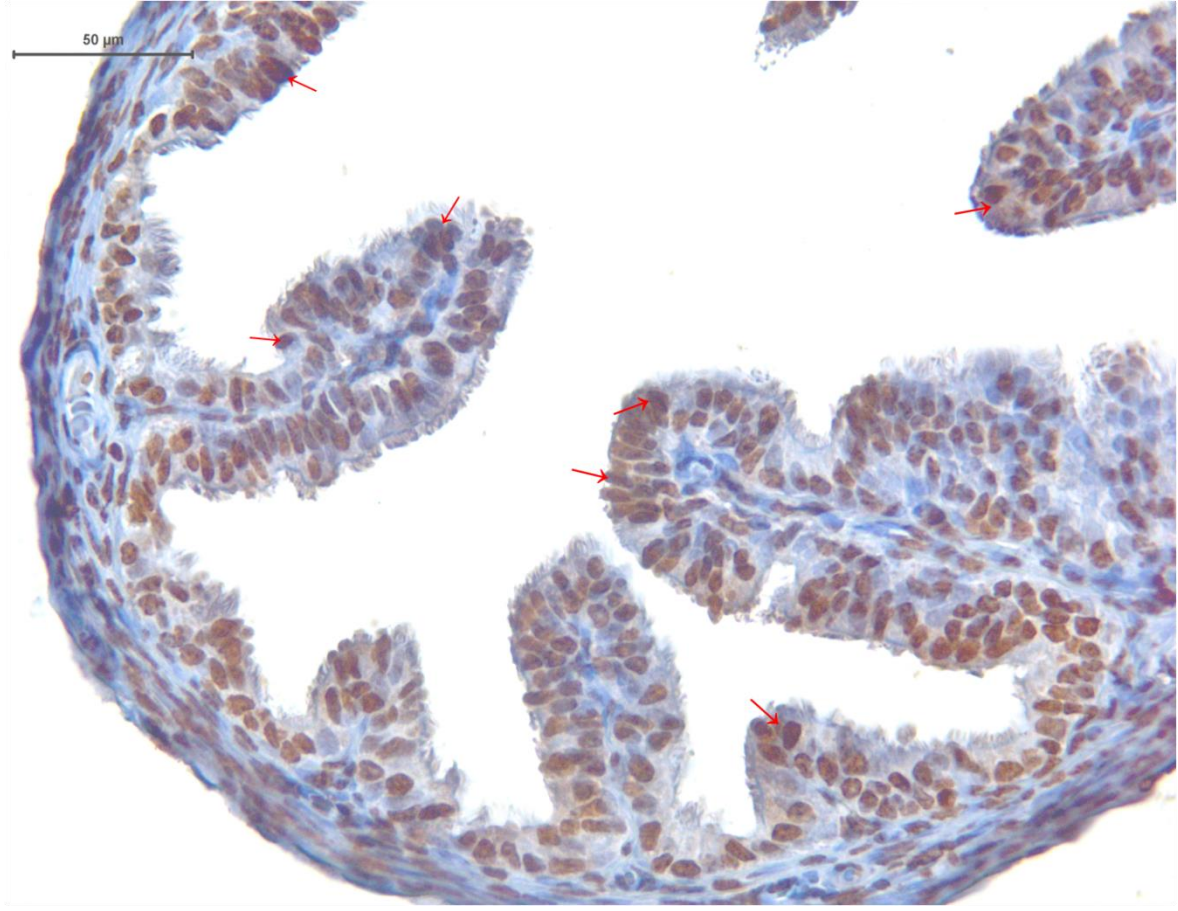
Resim 4.24. 1000 mg/kg/gün DBP+Resveratrol uygulanan grubun tuba uterina dokusunda epitel (Ep), Lamina Propria (LP), Tunika Muskularis (TMs) ve Tunika Seroza (TS) yapıları izleniyor (Masson' s Trikrom X400)



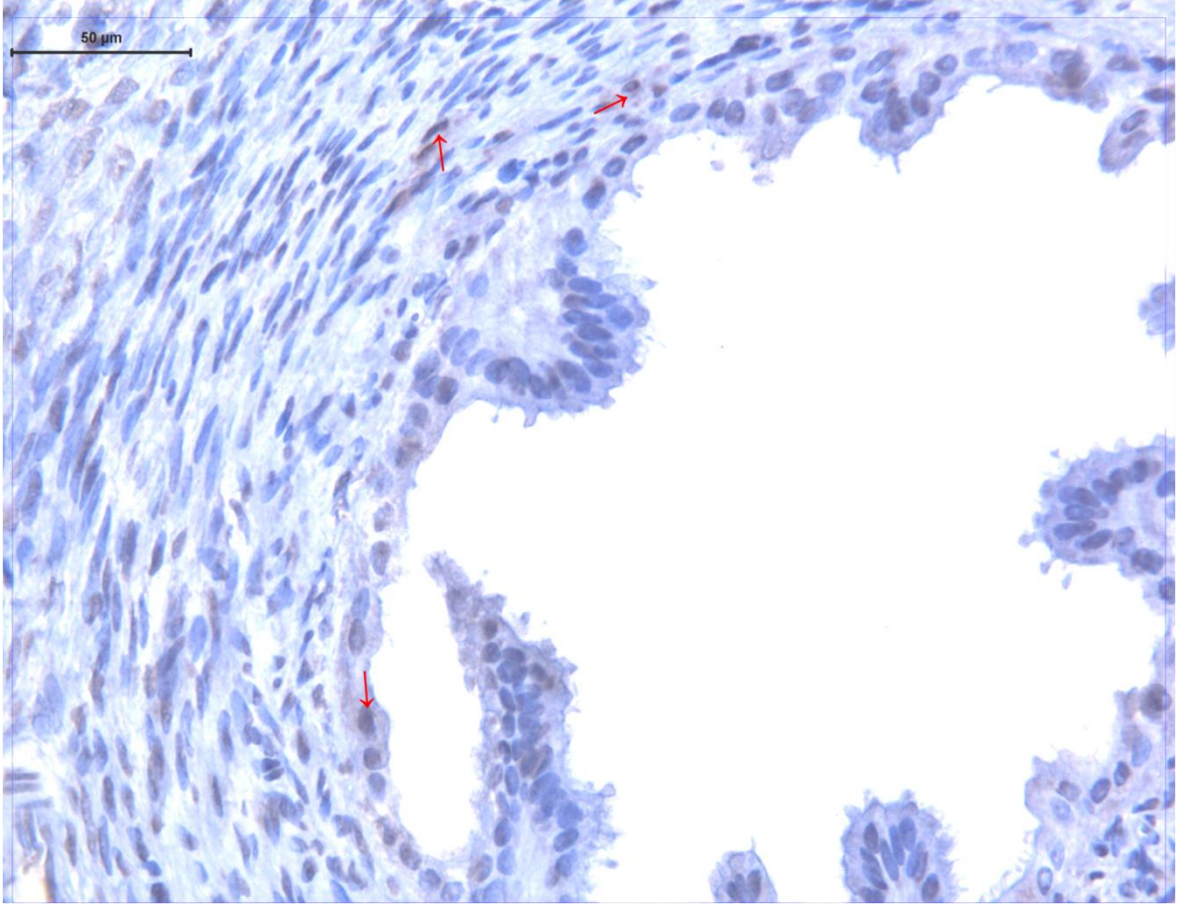
Resim 4.25. Kontrol grubu tuba uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immunreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikoru X400)



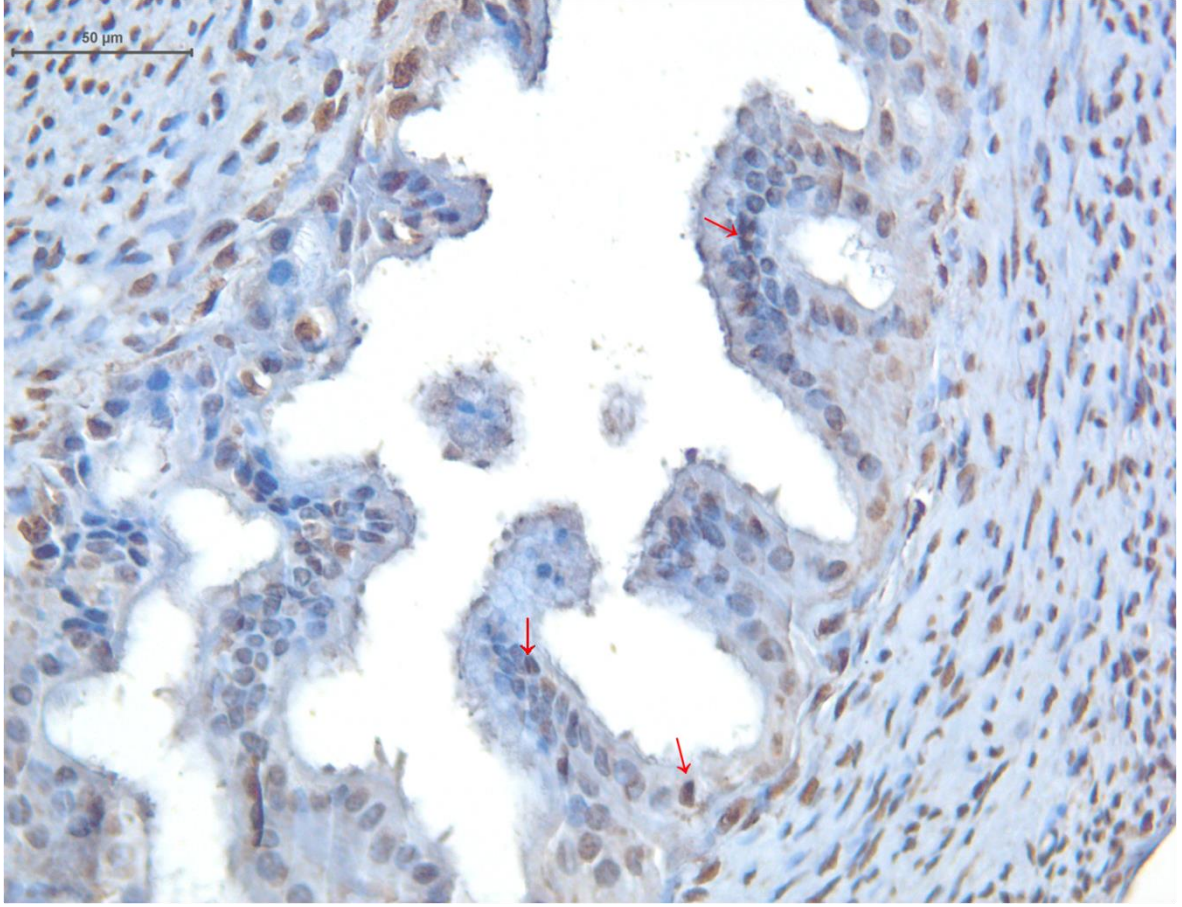
Resim 4.26. 500 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun tuba uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikoru X400)



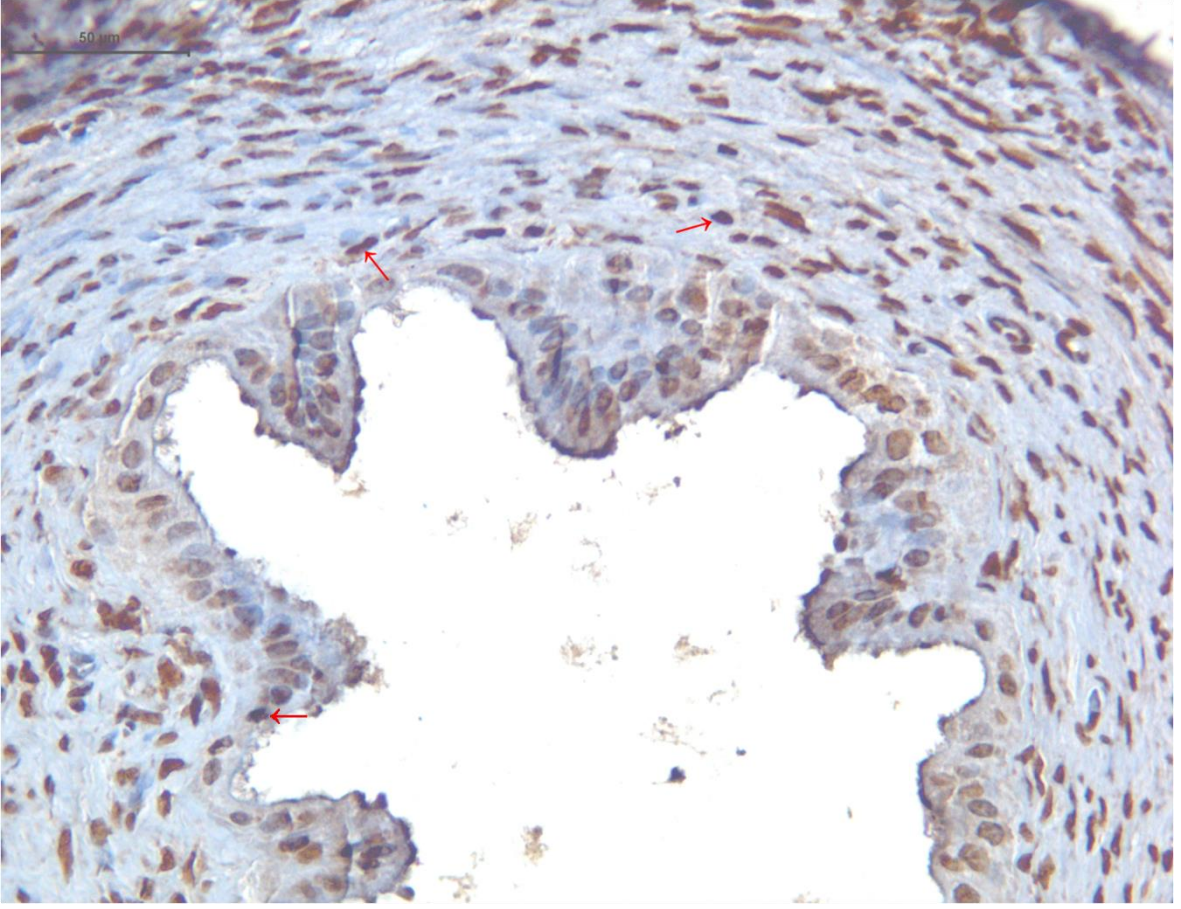
Resim 4.27. 1000 mg/kg/gün DBP uygulanan grubun tuba uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikoruna X400)



Resim 4.28. Çözücü (CMC) uygulanan grubun tuba uterina dokusunda sitokrom-c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- c antikoru X400)



Resim 4.29. 500 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun tuba uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar izleniyor (Sitokrom- c X400)



Resim 4.30. 1000 mg/kg/gün DBP + Resveratrol uygulanan grubun tuba uterina dokusunda sitokrom- c ile boyanan immünreaktif yapılar (→) izleniyor (Sitokrom- cX 400)

5. TARTIŞMA

Endokrin bozucular ekzokrin olarak organizmaya alınan ve organizmaya alındıktan sonra canlıda ve onun gelecek kuşaklarında endokrin sistemin çalışmasını olumsuz şekilde değiştiren madde ya da madde karışımlarıdır. Hormonların üretimi, salınımı, bağlanması, taşınması, etkinlikleri, yıkımları ve vücuttan atılmaları üzerinde etki gösterirler. Boya, plastik, çözücü, herbisit, pestisit, fungusit gibi kimyasallarda bulunurlar [117,118,127].

Fitoöstrojenler gibi doğal endokrin bozucuların yarı ömürleri kısadır. Bu nedenle dokularda birikmeden kolayca atıldıklarından organizmaya büyük zararları yoktur. Fakat sentetik endokrin bozucular lipofilik özellikleri nedeniyle yağ dokusunda birikirler. Öte yandan metabolize olmaları da zor olduğundan organizmada depolanır ve hasar oluştururlar [125,126].

Di-n-bütilfitalat (DBP), tüm dünyada oldukça çeşitli kullanım alanları olan, polivinil gibi elastomerlerde plastikleştirici olarak kullanılan düşük molekül ağırlıklı bir fitalik asit esteridir. Endojen östrojeni taklit ederek organizmada östrojenik etkiler gösterdiği için bir endokrin bozucu olarak kabul edilir. Plastik ve reçinelerde, yapıştırıcı, cila, vernik, boya ve baskı mürekkeplerinde, kozmetikte özellikle parfümlerde, spreylere, kremlerde ve ojelerde, oyuncaklarda, ilaçların enterik kaplamalarında, kan transfüzyonu ve diş malzemeleri gibi tıbbi ekipmanlarda, pestisitlerde, tekstilde ve gıda ambalajlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [139,143,184].

DBP'nin prenatal ve postnatal evrelerde, puberte öncesi ve yetişkinlik dönemlerinin tamamında toksik etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Akut toksisitesi orta düzeydeyken kronik etkin kalma daha ciddi sonuçlara yol açabilmektedir [159,160].

DBP, bir peroksizom arttırıcısıdır. Bu nedenle, hepatosit çoğalmasına bağlı olarak karaciğer büyümesi yaptığı, kanda trigliserit seviyesini düşürdüğü, kilo artışına ve bununla paralel gelişebilen depresyona yol açabildiği, birçok enzimi ve enzimatik yolların uyarımını gerçekleştirdiği bilinmektedir. Ayrıca kısmi büyüme geriliğine ve uyku düzeninde bozulmalara neden olmaktadır [162,163].

Braun ve arkadaşları 2013 yılında ftalatların çocuk sağlığı üzerindeki etkilerini araştırmaya yönelik bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmanın soncunda di-2-hekzilftalat (DEHP) ve btilbenzilftalat'ın (BBzP) ocuklarda astım ve egzama gibi alerjik hastalıkların olasılığını arttırdığını ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmaya göre uterus içi DEHP, BBzP, DBP ve DEP'e (dietilftalat) etkin kalma durumlarında çocukların fiziksel gelişiminde yetersizlikler görüldüğü ve otistik davranışlar gibi nraldefektlere de neden olabildiği belirlenmiştir. Çalışmanın bir diğer sonucu olarak uterus içi ftalata etkin kalan erkek çocuklarda anogenital aralığın daha kısa geliştiği, kız çocuklarda ise pubik kıllanmanın arttığı kanıtlanmıştır [185].

Velez ve arkadaşları 2008 – 2011 yılları arasında, Kanada'da 2001 kadın üzerinde, fenol ve ftalatların gebelik zamanına etkisini araştırmışlar ve çalışmalarını 2015 yılında yayımlamışlardır. Buna göre ftalatların gebeliği engelleyici herhangi bir anlamlı etkisi ortaya konmazken gebelik süresini kısalttığı, erken doğumlara neden olduğu belirlenmiştir. Öte yandan İtalya'da yapılan bir başka çalışmaya göre infertile 56 çiftte fertile çiftlere göre daha yüksek oranlarda ftalat saptanmıştır [186,187].

Kohn ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları çalışmanın verilerine göre insanların %95'i günlük, kilogram başına, 10µg'dan az olacak dozlarda DBP'ye etkin kalmaktadır. Bununla birlikte özellikle 20 – 40 yaş arası kadınların erkeklere ve diğer yaş gruplarına göre daha fazla DBP'ye etkin kaldıkları ortaya konmuştur [188].

Blount ve arkadaşlarının yine 2000 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada ise özellikle parfüm, sa spreyi, tırnak cilası gibi kişisel bakım ürünleriyle yoğun olarak etkileşimde bulunan insanların idrar analizleri yapılmıştır. Bu kişilerin günlük 30 µg/kg hatta bazılarının 100 µg/kg gibi yüksek oranlarda DBP'ye etkin kaldıkları belirlenmiştir [189].

Kaynak taramaları incelendiğinde DBP'nin günümüze dek uterus, ovaryum gibi dişi üreme sistemindeki bazı organlarda çalışılmış olduğu grlmştir. Fakat tuba uterina dokusu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bununla birlikte 2007 yılında Güney ve arkadaşları tarafından yayımlanan bir çalışmada bir organofosfat pestisit olan ve yoğun olarak fitalat içeren Metil Paration'un (MP) tuba uterina'da oluşturduğu hasarlar araştırılmıştır. Bu erekle 16 haftalık dişi sıçanlar gruplara ayrılmıştır. 3 gruba ayrılan deneklere 4 hafta boyunca kontrol grubuna mısır yağı, diğer gruplara 5 mg/kg/gün MP ve 5 mg/kg/gün MP + E vitamini – C Vitamini gavaj yoluyla uygulanmıştır. Deneklerin tuba uterinaları elektron mikroskopisi ile yapısal ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada fitalata etkin bırakılan deneklerin tuba'larında mikrovilluslarda delesyon, epitelyum yüzeyindeki kinosilyalarda azalma, organın genelinde yer yer apoptotik hücreler ve mitokondriyal hasarlar olduğu ortaya konmuştur [190].

Güney ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tuba uterina'da hasar oluşturmak üzere fitalat içeren bir ürün olan pestisiti kullanırken biz deneklere doğrudan bir fitalat olan DBP uyguladık. Bizim çalışmamız da kısa süreliydi, ancak doza bağımlıydı. Çalışmamızda antioksidan madde olarak E ve C vitamin değil, Resveratrol uygulaması yapıldı. Pestisit gibi DBP'inde tuba uterina histolojisinde, epitelde dökülme, silinme, tunika muskularis düz kas hücrelerinde kayıp bunun yerine bağ dokusu liflerinde artma gibi önemli histolojik değişimlere neden olduğu izlenmiş, E ve C vitamini gibi resveratrol'ün de önemli ölçüde koruyucu etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Zeliann ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada DBP'ye kısa dönem etkin kalan genç dişi farelerin ovaryumlarında DBP'nin toksisiteye neden olup olmadığı araştırılmıştır. Bunun için 35 günlük dişi farelere kontrol grubuna mısır yağı, diğer gruplara 0.01 – 0.1 ve 1000 mg/kg/gün olacak şekilde gavaj yoluyla 10 gün boyunca DBP uygulanmış ve östrojenik döngüleri, steroidogenezleri, ovaryum morfolojileri, apoptozisleri, steroidogenezdeki gen ifadenmeleri ölçülmüştür. Çalışmanın sonucunda tüm dozlardaki DBP'nin serum E₂'yi (17- β -östradiol) azalttığı saptanmıştır. Ayrıca 0.1 mg/kg/gün DBP'nin FSH'ı arttırdığı, antral folikül sayısını azalttığı, pro-apoptotik genleri kodlayan mRNA miktarını arttırdığı ortaya konmuş ve DBP'nin ovaryum fonksiyonlarını bozduğu ifade edilmiştir [191].

Zeliann ve arkadaşları DBP'nin uterus üzerinde doza bağımlı ve kısa dönem etkilerini incelemişlerdir. Biz ise DBP'nin doz bağımlı hasar oluşturunca etkisini tuba uterina dokusunda inceledik. Benzer şekilde DBP'ye etkin kalan deneklerin tuba uterina dokularında ifadenmesi artan sitokrom c nedeniyle mitokondrial iç zar yapısının bozulması üzerinden apoptozisin tetiklenmiş olabileceğini düşündük.

Gray ve arkadaşları 2006 yılında DBP'ye kronik olarak etkin kalmanın dişi üreme sisteminde doğumdan gebeliğe kadar olan etkilerini araştırmışlardır. İlk deneyde deneklerin döllenme oranlarının belirlenmesi ereğiyle yeni doğan, ergenlik, erişkinlik, çiftleşme ve gebelik dönemindeki dişi sıçanlara 500mg/kgDBP uzun süreli olarak gavaj yolu ile uygulanmıştır. İkinci deneyde ise dişi sıçanlara 250, 500 ve 1000 mg/kg/gün DBP uzun süre gavaj yoluyla uygulanmış ve ovaryum işlevindeki değişimlerin seyri incelenmiştir. 250 mg/kg/gün dozu uygulanan grupta gebelik süresince bir anormallik izlenmezken 500 mg/kg/gün dozu uygulanan gruptaki deneklerin gebeliklerinin ikinci trimesterında düşükler ve serum progesteron düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Özellikle yüksek doz (1000 mg/kg/gün) DBP uygulanan gruptaki dişilerin uterus ağırlıkları azalmış, canlı doğum oranları ciddi şekilde düşmüş, hemorajik korpus luteum izlenmiştir. Çalışmanın sonucu olarak DBP'ye kronik olarak etkin kalmanın ovaryumda salgılanan progesteron miktarının azalmasına neden olduğu ortaya konmuştur. Bu hormonun yeterli düzeyde olmaması ise bireylerde infertilite nedenlerinden biri olarak bilinmektedir [192].

Gray ve arkadaşları doğumdan gebeliğe kadar olan süreçte DBP'ye etkin kalmanın dişi üreme sistemi üzerindeki etkilerini araştırırken biz çalışmamızda yalnızca prepubertal deneklere ve 30 gün süresince gavaj yoluyla DBP uygulayarak tuba uterina dokularını inceledik. Literatürdeki bu çalışmaya uygun olarak biz de DBP'nin dişi üreme sistemindeki tuba uterina dokularına hasar verdiğini ve mukozal ve muskuler histolojik değişimler nedeniyle infertiliteye neden olabileceğini saptadık.

Wine ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada DBP'nin üreme üzerinde oluşturduğu hasarlar hem dişilerde hem erkeklerde hem de onların çiftleştirilmesiyle elde edilen yavrularda araştırılmıştır. Bu erekle sıçanlara %0.1, 0.5 ve 1.0 oranlarında DBP

içeren diyet uygulanmıştır. Böylece erkek sıçanlar sırasıyla 52, 256, 509 mg/kg DBP' ye, dişi sıçanlar ise 80, 385, 794 mg/kg DBP' ye etkin bırakılmışlardır. Histopatolojik incelemelerde % 1.0 oranında DBP'ye etkin bırakılan erkek sıçanlarda epididimis defektleri ve seminifer tübüllerinde dejenerasyon olduğu belirlenmiştir. Dişi sıçanlarda ise 17- β östradiol seviyesi azalırken uterus ve ovaryum dokularında herhangi bir yapısal defekt izlenmemiştir. Ancak bu dişiler ve erkekler çiftleştirildiklerinde çiftleşme, gebelik ve doğurganlık oranları ile vücut ağırlıklarının azaldığı ortaya konmuştur. Ek olarak birinci nesil yavruların doğum ağırlıklarının da düşük olduğu ve sayılarının azaldığı belirlenmiştir. İkinci nesil yavrularda ise bu tablo daha da belirgin duruma gelmiş, DBP'nin hasar oluşturma etkisi tüm dozlardaki denekler için saptanmıştır [193].

Wine ve arkadaşları DBP'nin üreme fonksiyonu üzerindeki etkilerini araştırırken biz çalışmamızda puberte öncesi deneklere 500 mg/kg/gün ve 1000 mg/kg/gün dozunda DBP uyguladık. Hem düşük hem de yüksek doz DBP'nin tuba uterina'nın yapısal özelliklerini bozarak hasar oluşturduğunu ve hücre içi stresi artırarak artan sitokrom- c ifadelenmesi ile karakterize olan apoptozisi tetiklediğini ortaya koyduk.

Da Peng ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada di – n –bütifitalat' ın metabolitlerinden biri olan monon-bütifitalat'ın [MBP] implantasyon öncesi embriyolardaki etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında 10^{-4} M MBP' ye etkin kalan deneklerde blastosist evresine geçmenin geciktiğini belirtmişlerdir. 10^{-3} M MBP'ye etkin kalan embriyolarda ise reaktif oksijen çeşitlerinin arttığı (ROS), immüno-florasans analize göre DNA metilasyonunun azaldığı ve sitokrom- c içsel yolağı üzerinden gerçekleşen apoptozisin önemli ölçüde arttığını saptamışlardır. Çalışmanın sonucunda bir fitalat olan MBP'nin preimplantasyon sürecindeki embriyolarda gelişimsel anomalilere neden olduğu vurgulanmıştır [194].

Bu çalışmadan ayrıcalıklı olarak bizim çalışmamız prepubertel dişi sıçanların tuba uterina dokularında kurgulanmış ve DBP'nin önemli histolojik değişimlere neden olduğu ve Da Peng ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde sitokrom- c içsel yolağı üzerinden apoptozisi gene önemli ölçüde arttırdığı gösterilmeye çalışılmıştır.

Melnick ve Schiller yaptıkları bir çalışmada sıçanların karaciğer mitokondrisinde fitalat esterlerinin enerji gerektiren süreçlerde ve süksinat oksidasyonundaki etkilerini araştırmışlardır. MBP, DBP, MEHP ve DEHP fitalatlarının oksidatif fosforilasyon ve aktif potasyum taşınımı gibi enerji gerektiren süreçlere etkilerinin incelenmesi ereğiyle izole edilmiş rat karaciğer mitokondrilerini bu fitalatlara etkin bırakan araştırmacılar, süksinat oksidasyonu ve mitokondriyal membran geçirgenliğinde artış tespit etmişlerdir. Ayrıca ilgi çekici olarak DBP'nin sitokrom- c redüktaz aktivitesini baskıladığını saptamışlardır [195].

Melnick ve arkadaşlarının sıçan karaciğeri üzerinde yaptıkları ve DBP'nin mitokondriyal iç zar geçirgenliğini arttırdığını, suksinat sitokrom- c redüktaz aktivitesi ölçülerek gösterdikleri çalışmalarından ayrıcalıklı olarak biz çalışmamızda sitokrom- c immunohistokimyasal boyamasını DBP'ye etken kalan sıçanların tuba uterina dokuları üzerinde araştırdık ve sitokrom- c ifadelenmesinin artmış olduğunu izledik.

Sekeran ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada süt döneminde fitalata uzun süre etkin kalan erkek sıçanlarda testis histolojisini araştırmışlardır. Çalışmada doğum sonrası 1 – 21. günler arasında deneklere DEHP uygulanmış ve denekler 60. günde kurban edilmişlerdir. Testiküler yapıları incelenen deneklerde sertoli hücrelerindeki sıkı bağlantı birimlerinin yapısındaki dejenerasyonlara bağlı olarak bozulmuş testis histolojisi, artmış oksidatif stres, sertoli hücrelerinde azalmış antioksidan düzeyi saptamışlardır. Bununla birlikte apoptotik protein salınımindaki değişimlere bağlı olarak sitokrom- c yolağı üzerinden apoptozis geliştiğini ve önemli ölçüde olduğunu ortaya koymuşlardır [196].

Biz ise çalışmamızda Sekeran ve arkadaşlarından ayrıcalıklı olarak prepubertal dönemdeki dişi sıçanları kullandık ve benzer şekilde ancak bu sefer dişi üreme organlarından biri olan tuba uterina dokusunu araştırdık. Araştırmacıların çalışmalarına benzer şekilde biz de tuba uterina dokusunda önemli histolojik değişimler ve gene benzer şekilde sitokrom- c ifadelenmesinde artma nedeniyle DBP'nin hücre içi stresi arttırdığını ve apoptozisi uyardığını gözlemledik.

Tüm bu nedenlerle DBP'nin üreme ve gelişim fonksiyonları üzerinde hasar yaratabileceği belirlenmiştir.

Günümüz dünyasının getirdiği stresli ve yorucu yaşam, dengesiz beslenme, uyku düzensizliği, sanayileşmenin sonuçlarından biri olarak kimyasallara daha çok etkin kalıyor oluşumuz toksik maddelerin vücudumuzda daha çok birikmesine neden olmaktadır. Tüm bu maddeler organizmada oksidatif stres yaratarak hasar oluştururlar. DBP de bu toksik maddelerden biridir. Antioksidan olarak adlandırdığımız bir grup madde bu hasarları engelleyebilme ve hatta tedavi ederek geri döndürebilme erkine sahiptir. Gün geçtikçe oksidatif stres kaynaklarının artmasına bağlı olarak, son yıllarda antioksidanlarla ilgili çalışmalar da hız kazanmıştır. Oldukça eski zamanlardan beri etkisi ve yararlılığı bilinen, en dikkat çekici antioksidanlardan biri resveratrol'dür [1,2,9].

Resveratrol doğada üzüm kabuğunda ve şarapta bol bulunan non -flavonoid yapıda, polifenolik bir fitoaleksindir. Antioksidan erki yüksek olan *Poligonum cuspidatum* bitkisinin köklerinde bulunur. Resveratrolün farklı dokulardaki farklı biyolojik etkileri şunlardır: Kalp sağlığı üzerinde olumlu etkileri, antioksidan etki, antikanserojen etki, antimikrobiyal etki, antienflamatuar etki, antitrombosit etki, anjiyogenezis etkisi, karaciğer koruyucu etki, yaşlanma karşıtı etki, *Helicobacter pylori* ve Herpes simplex üzerindeki etkileri, östrojenik etki [40,48,44].

De Lorgeril ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Fransızların yüksek yağ oranlı, kolesterol içerikli beslenmesine ve sigara tüketimine karşın kardiyovasküler rahatsızlıklardan kaynaklanan ölüm oranının düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durumun gelişmesinde en önemli etkenin yaşa ve cinsiyete koşut olarak, orta düzeyde, düzenli şarap tüketimi olduğu ortaya konmuştur. Bu olay "Fransız Paradoksu" olarak nitelendirilmektedir [60].

Resveratrol vücuda oral yolla alınarak 10 dakika içerisinde plazmada en yüksek düzeye ulaşır ve 10-15 dakika içerisinde bağırsaklardan emilir. Ancak tüm doku ve organlara dağılımı yaklaşık yarım saat içerisinde gerçekleşmektedir. Resveratrol karaciğerde gluküronatlanır, karaciğer ve duodenum'da ise sülfatlanır. Bu formlarına dönüştükten sonra metabolize olmaktadır [74,75].

Zhu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tamoksifenle adenomiyozis (uterus kas tabakasının kalınlaşması) oluşturulan 28 dişi farede resveratrol'ün etkileri araştırılmıştır. Doğumdan 4 hafta sonra başlayan tamoksifen uygulamasının 16. haftada deneklerin tamamında adenomiyozis oluşturmasıyla birlikte deney modeli oluşturulmuştur. Buna göre deneklerin 12 tanesine yalnızca çözücü verilerek kontrol grubu olarak belirlenmiş, diğer iki gruba ise düşük doz (2 mg/kg/gün) ve yüksek doz (3 mg/kg/gün) olacak şekilde Resveratrol uygulaması gavaj yoluyla, 3 hafta süresince yapılmıştır. Deneklerin uterus boynuzları ve beyinleri incelenmiş, plazmalarındaki enzimle ilişkili kortikosteronu (CORT) ölçmek üzere kan örnekleri alınmıştır. Çalışmanın sonucunda resveratrol'ün doza bağımlı olarak uterusun miyometriyal infiltrasyonunu baskıladığı, uterus hiperaktivitesini ve plazma CORT seviyesini azalttığı ortaya konmuştur. Ayrıca nöronlardaki GAD65 (Glutamat dekarboksilaz) oranının yükselmesine bağlı olarak genel hiperaljezi (ağrıya aşırı duyarlılık) seviyesinin düştüğü saptanmıştır. Adenomiyozisin bireylerin yaşamını olumsuz olarak en çok etkileyen yönlerinden birinin pelvik ağrı olduğu bilinmektedir. Tüm bu nedenlerle resveratrolün adenomiyozis tedavisinde etkin bir şekilde kullanılabileceği düşünülmüştür [198].

Zhu ve arkadaşlarından farklı olarak biz, resveratrolün tuba uterina'daki etkilerini doza bağımlı olarak inceledik. Benzer şekilde biz de tuba'da DBP nedeniyle oluşabilen potansiyel hasarlara karşı resveratrolün doza bağımlı etkisini araştırdık ve bir antioksidan olarak koruyucu, iyileştirici etkisi olduğunu saptadık.

Yaşla birlikte oosit ve folikül sayısının azaldığı, oosit kalitesinin düştüğü, serbest radikallerin daha yüksek oranda DNA mutasyonlarına, protein hasarına, telomerlerin kısalmasına, apoptozise ve ovaryumun daha hızlı yaşlanmasına neden olduğu bilinmektedir. Mengyuan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada artan yaşa bağlı olarak gelişen infertiliteye karşı resveratrolün koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bunun için 2 -3 aylık, genç dişi C57/BL6 fareler iki gruba ayrılmıştır. Bir grubun içme suyuna 30 mg/l (yaklaşık eşit 7mg/kg/gün) dozunda resveratrol eklenmiş, diğer gruba resveratrol verilmeyerek kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Deney üç kez tekrarlanmış, 12.ayın sonunda resveratrol uygulanan gruptaki deneklerin fertil oldukları fakat yaşları aynı olan kontrol grubunda hiç yavru olmadığı saptanmıştır. Resveratrol uygulanmış deneklerde daha çok

folikül olduğu, oosit sayısının ve kalitesinin arttığı, ayrıca in vitro olarak embriyonun gelişimine katkıda bulunulduğu ortaya konmuştur. Telomeraz aktivitesi, uzunluğu, ovaryumların yaş ilişkili gen ifadenmesi genç farelerde benzer olsa da yaşlı farelerde resveratrol uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Sonuçta resveratrolün dişi farelerde fertil olmayı olumlu yönde etkilediği kanıtlanmıştır [199].

Mengyuan ve arkadaşlarının çalışmalarından ayrıcalıklı olarak biz çalışmamızda DBP'nin neden olabileceği infertilite karşısında Resveratrol'ün koruyucu etkisini araştırdık ve tuba uterina dokusunda DBP'nin neden olduğu histolojik değişimleri geri döndürmesi nedeniyle oldukça etkili bir antioksidan olabileceği kanısına vardık.

TCDD (2,3,7,8 –tetraklorodibenzo-p-dioksin) dioksin grubuna ait bir toksik maddedir. Çevresel bir gıda kirleticisi olarak bilinmektedir. Nagarkatti ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada resveratrolün anneyi ve fetüsü TCDD'nin immünotoksik etkilerinden koruduğu kanıtlanmıştır. Fetüsün uterusta TCDD'ye etkin kalması timustaki T hücrelerinde değişimlere neden olarak ileriki yaşamında onu otoimmün hastalıklarla karşı karşıya getirmektedir. TCDD ayrıca AhR'nin (aril hidrokarbon reseptörü) aktivasyonunu tetikleyerek annenin immün sistemini de hamilelik süresince etkilemektedir. Çalışmada öncelikle 14 günlük hamile farelere 10 µg/kg tek doz TCDD verilmiştir. Denekler iki gruba ayrılarak bir gruba 14 –19. günler 100 mg/kg/gün dozunda resveratrol gavajla uygulanmış, diğer gruba uygulanmamıştır. Sonuç olarak resveratrol uygulanan hamile farelerin ve onların fetüslerinin TCDD'nin neden olduğu timik atrofi, apoptozis ve T hücre reseptörlerindeki değişimlerden korundukları kanıtlanmıştır [200].

Biz de Nagarkatti ve arkadaşları gibi çalışmamızda çevresel bir kirletici olan DBP'nin yarattığı toksik hasara karşı resveratrolün etkisini inceledik. Bizim çalışmamız da kısa dönem uygulandı, fakat doza bağımlıydı. Çalışmamızda resveratrolün etkisi uterus ve fetüslerde değil dişi üreme sistemine ait bir başka organ olan tuba uterinalarda incelendi. Biz de Nagarkatti ve arkadaşlarının saptamalarına benzer şekilde olarak resveratrolün apoptozisi azalttığı sonucuna vardık.

Singh ve arkadaşları diabetik hamilelere oral yolla resveratrol uygulayarak embriyoda oksidatif stres ve apoptozisin azaldığını ortaya koymuşlardır. Diabetik hamilelerin embriyolarında oksidatif stres ve apoptozisin artması diabetik embriyopati olarak adlandırılır ve erken organogenez döneminde embriyoda malformasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Bunu önlemek amacıyla diabetik hamilelere resveratrol uygulanarak sonuçları incelenmiştir. Çalışmada 60 günlük Sprague Dawley cinsi 48 dişi sıçan erkek sıçanlarla çiftleştirilerek vajinal smearlarında sperm bulunan ilk günün ertesinde deneklerin yarısına streptozisin uygulanmış ve diabetik hamile sıçan modelleri oluşturulmuştur. Toplamda 48 hamile sıçan 4 gruba ayrılmıştır. İlk grup diabetik değildir, ikinci grup diabetik değildir ve resveratrol uygulanmıştır, üçüncü grup diabetiktir, dördüncü grup ise diabetiktir ve resveratrol uygulanmıştır. Resveratrol uygulamaları 10 gün boyunca gavaj yoluyla yapılmış 12.günde sıçanlar sakrifiye edilerek embriyoları toplanmıştır. Sonuçta embriyonik malformasyonları tetikleyen, kraniyal nöral tüpte görülen apoptozisin diyabet tarafından indüklendiği, diabetik olmayan sıçanlarda resveratrol uygulamasının anlamlı bir farklılık yaratmadığı ancak diabetik hamilelerde resveratrolün embriyolardaki apoptozisi anlamlı şekilde azalttığı kanıtlanmıştır [201].

Singh ve arkadaşlarının çalışmalarından ayrıcalıklı olarak dişi üreme sistem organlarından biri olan tuba uterina dokusu üzerinde DBP'nin olası zararlı etkisi karşısında, araştırmacıların çalışmalarına benzer şekilde Resveratrol'ün apoptozisi önemli ölçüde azalttığını izledik.

Takeo ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada resveratrolün oositlerde mitokondriyal fonksiyonu ve fertilizasyonu güçlendirdiği ortaya konmuştur. Deney modelinde inek oositleri ile çalışılmış, 26–30 aylık inek oositleri toplanarak iki gruba ayrılmış ve kontrol grubuna resveratrol verilmezken diğer grup 20µM resveratrol ile kültüre edilmiştir. Deney 4 kez tekrarlanmış ilkinde resveratrol uygulanan oositlerde SIRT1 ekspresyonunun düzenlendiği, ikincisinde normal fertilizasyon oranının ve toplam blastosist sayısının arttığı, üçüncüsünde olgun oositlerde ATP miktarında ciddi artış olduğu ve donör bağımlı olarak mitokondriyal DNA miktarında ve mitokondriyal membran potansiyelinde artış olduğu, dördüncüsünde ise in vitro fertilizasyondan sonra kortikal granüllerin

ekzositozunda artış olduğu ve proteinazın zona pellusidayı eritmesinin daha çok zaman aldığı ortaya konmuştur. Tüm bunlara dayanarak resveratrolün oositlerin gelişimlerini olumlu olarak etkilediği ve polispermik fertilizasyonu engelleyerek fertilizasyonu arttırdığı belirtilmiştir [202].

Takeo ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde biz de çalışmamızda resveratrol'ün dişi üreme sistemi üzerinde önemli bir antioksidan olabileceğini saptadık.

Fu – Chao ve arkadaşlarının 2015 yılında yayımlanan derleme çalışmalarına göre resveratrol, serbest radikalleri ve inflamasyon öncesi çok sayıda üretilen ara maddeleri azaltmakta, adhezyon moleküllerinin miktarını değiştirmekte ve nötrofil fonksiyonunu inhibe etmektedir. Bu olaylar nitrik oksit sentaz, deasetil sirtuin1, mitojen aktiviteli proteinkinaz, hemooksijenaz 1, peroksizom arttırıcıyla ilişkili reseptör gibi sinyal yolları üzerinden gerçekleşmektedir. Tüm bunlar iskemi ve reperfüzyon hasarından sonra gelişen organ dejenerasyonunu azaltmada önemli rol oynamaktadırlar. Çalışmanın sonucunda resveratrolün oksidatif stresin oluşturduğu iskemi – reperfüzyon hasarına karşı organ koruyucu etkisi olduğu ortaya konmuştur [203].

Resveratrol'ün sağlık için oldukça yararlı bir antioksidan olması ve kullanımının artması araştırmacıları resveratrol'ün olası toksik etkilerini araştırmaya yöneltmiştir. Bu amaçla Juan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada Sprague-Dawley cinsi ratlara 20mg/kg/gün (70 kg'lık bir insanın alabileceğinden 1000 kat fazla) dozda resveratrol oral olarak 28 gün boyunca uygulanmış, hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik değerlerine bakılmıştır. Kanda ALT ve AST gibi toksisite göstergesi olabilecek proteinler, serumlipit, elektrolit ve enzim miktarı normal değerler kapsamında bulunmuştur. Bunun yanı sıra patolojik ve histopatolojik değerlerde de herhangi bir etkilenmenin olmadığı gösterilmiştir [74].

Juan ve arkadaşları gibi bir çok çalışmada resveratrol'ün bir toksik etkisi olmadığı gösterildiğinden tek başına bir resveratrol grubu oluşturmadığımız çalışmamızda, resveratrol'ün hem çözücü olarak kullandığımız CMC hem de çevresel kirletici olan DBP'nin zararlı etkilerini önemli ölçüde geri döndürdüğünü izledik.

Sonuç olarak günlük hayatta oldukça sık karşılaştığımız DBP' nin ovaryum, uterus gibi dişı üreme sistemi organlarından biri olan tuba uterina'larda da, artan dozlarda, özellikle epitel ve tunika muskularis'in düz kas hücreleri olmak üzere önemli histolojik yapı değişimlerine neden olabileceğini, resveratrol'n ise DBP'nin bu olumsuz etkilerini geri çevirebilme erki olduğunu, fakat bu erkin artan dozlarda daha az etkili olduğunu düşünüyoruz.

6. SONUÇ

Yaptığımız Hematoksilen–Eozin ve Masson’s Trikróm boyamaları sonucunda, DBP’nin düşük dozlarda epitelde yer yer dökülmeler, tunika muskularis katmanının düz kas hücrelerinde kayıp gibi önemli histolojik değişimlere neden olduğu saptandı. Bununla birlikte 1000 mg/kg/gün DBP gibi yüksek doz uygulanan grupta bu dejeneratif değişimin oldukça artmış olduğu izlendi.

Gözlemlemiş olduğumuz, artan DBP dozuna koşut, immünohistokimyasal reaksiyonu da yükselen Sitokrom- c immünboyanması nedeniyle, DBP’nin hücre içi stresin artmasına ve mitokondrial membran yapısının bozulmasına neden olabileceği düşünüldü. Sitokrom- c ‘nin düşük dozlu DBP uygulanan grupta sitoplazmik immünreaktiviteyi arttırdığı, DBP dozunun artmasına bağlı olarak hem sitoplazmik hem de çekirdek immünreaktivitesinin arttığı ve immünpozitif(+) hücrelerin de çoğaldığı saptandı.

Resveratrol’ün çözücüsü olarak uygulanan CMC’nin (Karboksimetil selüloz) de çok masum olmadığı, düşük doz DBP uygulanan grupta izlenen dejeneratif bulgulara benzer ancak daha az yapısal dejeneratif değişimlere neden olduğu saptandı.

Ancak resveratrol’ ün hem çözücünün hem de DBP’ nin neden olduğu dejeneratif bulguları geri çevirmesi nedeniyle oldukça güçlü bir antioksidan özelliği taşıdığı ve tuba uterina dokusunda da önemli ölçüde koruyucu etkiye sahip olduğu gözlemlendi.

Günlük hayatta istenmese de oldukça sık etken kalınan DBP’ nin neden olduğu tuba uterina dokusunda olaylanan dejeneratif bulguların özellikle epitel ve lamina propria’ da yani tunika mukoza’ da olaylandığı saptandı. İkincil olarak etkilenen yapı ise tunika muskularis olarak gözlemlendi. Oositin taşınması ve spermin olgunlaşması ve fertilizasyona hazır duruma gelmesi gibi oldukça önemli görevleri olan tuba uterina’ların tunika mukoza’sındaki ve tunika muskularis’indeki bu histolojik değişimlerin olası bir infertilite nedeni olabileceği ve resveratrol’ ün bu olumsuz etkileri önemli ölçüde geri çevirebilmesi nedeniyle dişi üreme sistemi açısından oldukça önemli ve koruyucu bir antioksidan olduğu kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Lovekamp-Swan, T., and Davis, B.J. (2003). Mechanisms of Phthalate Ester Toxicity in the Female Reproductive System. *Environmental Health Perspectives*, 111,139-145.
2. Nikonorow M., Mazur H., and Piekacz H. (1973). Effect of orally administered plasticizers and polyvinyl chloride stabilizers in the rat. *Toxicology Pharmacology*, 26,253-259.
3. Ema, M., Miyawaki, E., and Kunio, K. (2000). Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reproductive Toxicology*, 14,13-19.
4. Lyche, J. L., Gutleb, A. C., Bergman, A., Eriksen, G. S., Murk, A. T.J., Ropstad, E., Saunders, M., and Skaare, J. U. (2009). Reproductive and Developmental Toxicity of Phthalates. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 12(4), 225-249.
5. Hong, E.J, Choi, K.C., Manabe, N., and Jeung, E.B. (2005). Conflict of estrogenic activity by various phthalates between in vitro and in vivo models related to the expression of Calbindin-D9k. *Journal of Reproduction and Development*, 51,253-263.
6. Nikonorow, M., Mazur, H., and Piekacz, H. (1973). Effect of orally administered plasticizers and polyvinyl chloride stabilizers in the rat. *Toxicology Pharmacology*, 26,253-259.
7. Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR), (2001). National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services. NTP-CERHR Expert Panel *Report on Di-n-Butyl Phthalate*, 3,72- 73.
8. Ema, M., Miyawaki, E., and Kunio, K. (2000). Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reproductive Toxicology*, 14, 13-19.
9. Sen, N., Liu, X., and Craig, Z.R. (2015). Short term exposure to di-n-butyl phthalate (DBP) disrupts ovarian function in young CD-1. *Reproductive Toxicology*, 312,7-15.
10. Guney, M., Oral, B., Demirin, H., Take, G., Giray, S.G., Altuntas, I., and Mungan, T. (2007). Fallopian damage induced by organophosphate insecticide methyl parathion, and protective effect of vitamins E and C on ultrastructural changes in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 23, 429-438.
11. Smith, E.M., Hammonds-Ehlers, M., Clark, M.K., Kirchner, H.L., and Fuortes, L. (1997). Occupational exposure sand risk of female infertility. *Journal of Occupational Environmental Medicine*, 39,138-147.
12. Savouret, J.F. and Quesne, M. (2002). Resveratrol and cancer. *Biomed Pharmacother*, 56, 84-87.

13. Moore, L.K., and Persaud, T.V.N. (2002). *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. Yıldırım, M., Okar, İ., Dalçık, H. (Çeviri editörleri) (Birinci Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 323-339.
14. Sadler, T.W. (2005). *Langman's Medikal Embriyoloji*. Başaklar, A.C. (Çeviri Editörleri) (9. Baskı). Ankara: Palme Yayınları, 246-253.
15. Vainio, S., Heikkila, M., Andreas, K., Chin, N., and Macmahon, A.P. (1998). Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature*, 397,405-409.
16. Jeays-Ward, K., Hoyle, C., Brennon, J., Dondonneau, M., Alludus, G., Capel, B., and Swain, A. (2003). Endothelial and steroidogenic cell migration are regulated by Wnt4 in the developing mammalian gonad. *The Company Biologists Ltd.*, 130, 3365-3367.
17. Sulak, O., Malas, M.A., Esen, K., Çetin, E., Özgüner, H.M., ve Cankara, N. (2006). İnsan fetuslarında Tuba Uterina morfolojisi: Morfometrik ışık mikroskobu çalışması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(1), 27-31.
18. Evirgen, O., Tekelioğlu, M., Küçükeli, M. ve Bahçeci, M. (1997). İnsan tuba uterina ampulla ve fimbriya bölgeleri mukoza epitelinde menstrüel siklus süresince meydana gelen ultrastrüktürel değişiklikler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 50(4),181-185.
19. Gövsa, F. (2003). *Sistemik Anatomi*. İzmir: Güven Kitapevi, 81.
20. Ozan, H. (2004). *Anatomi*. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 108.
21. Kierszenbaum, A.L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi- Patolojiye Giriş*. Demir, R. (Çeviri Editörü). Ankara: Palme Yayıncılık, 367.
22. Snell, S.R. (2004). *Klinik Anatomi*. Yıldırım, M. (ÇeviriEditörleri) (6.Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 329-340.
23. Solomon, E.P. (2002). *İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş* (4.Baskı). İstanbul: Birol Basın Yayın Dağıtım, 247-260.
24. Ross, M.H., and Pawlina, W. (2013). *Histology Text and Atlas*. (6thEdition) Wolters Kluwer Heath,773-790.
25. Arıncı, K., ve Elhan, A. (2001) *Anatomi*. (3.Baskı). 1.Cilt. Ankara: Güneş Kitabevi, 339-340.
26. Atabenli, E.E., ve Tekelioğlu, M. (2002). *Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Ankara.
27. Bjorkman, N., and Fredricsson, B. (1962). Ultrastructural features of the human oviduct epithelium. *International Journal of Fertility and Sterility*, 7(3), 259-266.

28. Gartner, P. (1997). *Color Textbook of Histology*. Baltimore: W.B. Saunders Company, 382-402.
29. Junqueira, C.L., Carneiro, J., and Kelley, O.R.(1993). *Basic Histology*. (7th Edition). İstanbul: Barış Kitapevi, 517-548.
30. Brenner, R.M. (1969). Renewal of oviduct cilia during the menstrual cycle of the Rhesus monkey. *Fertility and Sterility*, 20,599-611.
31. Mc Comb, P., Lugley, L., Villatun, M., and Verdugo, P. (1986). The oviductal cilia and Kartagener's Syndrome. *Fertility and Sterility*. 46(3),412-416.
32. Honore, L.H. (1987). *Pathology of the Fallopian Tube*. Haines and Taylor Obstetrical and Gynaecological Pathology, (3rd Edition). Churchill, Livingstone:479-486.
33. Verhage, H.G., Bareither, M.I., Jaffe, R.C., and Akbar, M. (1979). Cyclic changes in ciliation secretion and cell height of the oviductal epithelium in women. *American Journal of Anatomy*, 156,505-522.
34. Borell, U., Nilsson, O., Wersall, J., and Westman, A. (1956).Electron microscope studies of the epithelium of the rabbit fallopian tube under different hormonal influence. *Acta Obstetricia et Gynecologica*. 35,35-42.
35. Eroschenko, V.P. (2001). *Di Fiore Histoloji Atlası* (9.Baskıdan Çeviri). Ankara: Palme Yayıncılık, 301-320.
36. Fawcett, D.W. (1986). The Oviduct or Fallopian Tube in *A Textbook of Histology*. 11th Edition, W.B Saunders Company,873-877.
37. Donnez, J., Casanas, R.F., Carpaspe, J., Ferin, J., and Thomas, K. (1985). Cyclic changes in ciliation, cell height and mitotic activity in human tubal epithelium during reproductive life. *Fertility and Sterility*, 43(4), 554-559.
38. Brosens, I.A., and Vasquez, G. (1976). Fimbrial Microbiopsy. *The Journal of Reproductive Medicine*, 16, 161-178.
39. Maximow, A.A., and Bloom, W. (1944). Female Genital System, The Oviduct of Fallopian Tube in *A Textbook of Histology*. (4thEdition). W.B. Saunders Company, 560-564.
40. Greep, R. (1996). Female Reproductive System, Uterine (Fallopian) Tubes in *Histology*. (2nd Edition). Mc Graw – Hill Book Company, 647-651.
41. Ganong, W.F. (2002). *Tıbbi Fizyoloji*. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çeviri). (20. Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri,419-438.
42. Guyton, A.C., and Hall, J.E. (2003). *Tıbbi Fizyoloji*. Solakoğlu, Z. (Çeviri Editörü). (10. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri,944-958.

43. Chen, R.S., Wu, P.L., and Chiou, R.Y. (2002). Peanut roots as a source of resveratrol. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 50,1665-1667.
44. Burns, J., Yokota, T., Ashilhara, H., Lean, M.E., and Crozier, A. (2002). Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 50,3337-3340.
45. Mehrabova, G.G., Ilgaz, C., Erdogan, D., ve Goktas, G. (2013). Hipertermide tuba uterina yapısı. *Gazi Medical Journal*, Ankara: 24,123-126.
46. Lapointe, J., and Bilodeau, J.F. (2003). Antioxidant defenses are modulated in the cow oviduct during the estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 68(4), 1157-1164.
47. Lyons, M.M., Yu, C., Toma, R.B., Cho, S.Y., Reiboldt, W., Lee, J., and Bremen, R.B. (2003). Resveratrol in raw and baked blueberries and billberries. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 51,5867-5870.
48. Aggarwal, B., and Shishodia, S. (2005). *Resveratrol in health and disease*. CRC Press,17.
49. Cantos, E., Garcia, V.C., de Pascual – Teresa, S., and Thomas, B.F. (2000). Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of CV. Napoleontablegrapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10),4606-4612.
50. Fremont, L. (2000). Biological effects of resveratrol. *Life Science*, 66(8),663- 673.
51. Gerogiannaki-Christopoulou, M., Athanasopoulos, P., Kyriakidis, N., Gerogiannaki, A.I., and Spanos, M. (2006). Trans-Resveratrol in wines from the major Greek red and white grape varieties. *Food Control*, 17(9),700-706.
52. Trela, B.C., and Waterhouse, A.L. (1996). Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 44, 1253-1257.
53. Stervbo, U., Vang, O., and Bonnesen, C. (2006). A review of the content of the putative chemopreventive phytoalexin resveratrol in red wine. *Food Chemistry*. 101,449-457.
54. Fremont L. (2000). Biological effects of resveratrol. *Life Science*. 66,663-673.
55. Soleas, G.J., Diamandis, E.P., and Goldberg, D.M. (1997). Wine as a Biological Fluid : History , Production and Role in Disease Prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 11,287-313.
56. Soleas, G.J., Diamandis, E.P., and Goldberg, D.M. (1997). Resveratrol:A molecule whose time has come and gone? *Clinical Biochemistry*. 30,91-113.
57. Langcake, P., and Pryce, R.J. (1976). The production of resveratrol and the Viniferins by grape wines in response to ultraviolet irradiation. *Phytochemistry*, 16,1193-1196.

58. Lamuela-Raventos, R.M., Romero– Perez, A.I., Waterhouse, A.L., and De La Tóree, B.M.C. (1995). Direct HPLC analysis of Cis and Trans Resveratrol and piceid isomers in Spanish Red Vitis Vinifera Wines. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 43,281-283.
59. De Lorgeril, M., Salen, P., Paillard, F., Laporte, F., Boucher, F., and De Leiris, J. (2002). Mediterranean diet and the French paradox: Two distinct biogeographic concepts for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary heart disease. *Cardiovascular Research*, 54(3),503-515.
60. Sun, A.Y., Simonyi, A., and Sun, G.Y. (2002). The "French paradox" and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(4),314-318.
61. Vidavalur, R., Otani, H., Singal, P.K., and Maulik, N. (2006). Significance of wine and resveratrol in cardiovascular disease: French paradox revisited. *Experimental and Clinical Cardiology*, 11(3),217-225.
62. Kopp, P. (1998). Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'?. *European Journal of Endocrinology*, 138,619-620.
63. Signorelli, P., and Ghidoni, R. (2005). Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(8), 449-466.
64. Celotti, L., Ferrarini, R., and Melcangi, R.C. (1996). Resveratrol content of some wines obtained from dried Valpolicella grapes: Recioto and Amonone. *Journal of Chromatography*, 730,47-52.
65. Bahşi, M. (2008). 7,12- Dmba uygulanan yaşlı sıçanların doku ve serumlarında -lipoik asidin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
66. Sener, D. (2011). Di-n-Bbütil fitalatın uterus endometriyumu üzerine etkisi ve resveratrolun olası koruyucu özelliğinin çeşitli mikroskopik yöntemlerle incelenmesi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
67. Juan, M.E., Buenafuente, J., Casals, I., and Planas, J.M. (2002). Plasmatic levels of trans-resveratrol in rats. *Food Research International*, 35,195-199.
68. Walle, T., Hsieh, F., De Legge, M.H., Oatis, J.E., and Walle, U.K. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug metabolism and disposition*, 32(12),1337.
69. Li, Y., Shin, Y.G., Yu, C., and Kosmeder, J.W. (2003). Increasing the throughput and productivity of Caco-2 cell permeability assays using liquid chromatography-mass spectrometry: application to resveratrol absorption and metabolism. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screen*, 6,757– 767.

70. Belguendouz, L., Fremont, L., and Linard, A. (1997). Resveratrol inhibits metalion dependent and independent peroxidation of porcine low density lipoproteins. *Biochemical Pharmacology*, 53, 1347-1355.
71. Söylemez, S. (2007).Dişi ve erkek sıçanlarda uzun süreli resveratrol tedavisinin endotel hücre reaktivitesi ve eNOS, iNOSekspresyonları üzerindeki etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, GaziÜniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara:
72. Lancon, A., Delmas, D., Osman, H., and Thenot JP. (2004). Human hepatic cell uptake of resveratrol: involvement of both passive diffusion and carrier- mediated process. *Biochemical Biophysical Research Community*, 316, 1132-1137.
73. Vitrac, X., Desmouliere, A., Brouillaud, B., and Krisa, S. (2003). Distribution of [14C] trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Science*, 72,2219-2233.
74. Juan, M.E., Vinardell, M.P., and Planas, J.M. (2001). The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *Journal of Nutrition*, 132, 257-260.
75. Bertelli, A.A.E., Giovannini, L., Stradi, R., Uriens, S., Tillement, J.P., and Bertelli, A. (1998). Evaluation of kinetic parameters of natural phytoalexinin resveratrol orally administered in wine to rats. *Drugs Experimental Clinical Research*, 24,51-55.
76. Walle, T., Hsieh, F., and Delege, M. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition*, 32, 1377-1382.
77. Signorelli, P., and Ghidoni, R. (2005). Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *Journal of Nutrient Biochemistry*, 16,449–466.
78. Das, D.K., and Maulik, N. Resveratrol in Cardioprotection: A Therapeutic Promise of Alternative Medicine. (2006). *Molecular Interventions*, 6(1), 36- 47.
79. Söylemez, H. (2006) Sigara Dumanına Maruz Bırakılmış Sıçanlarda Resveratrolün Testis Dokusundaki Antioksidan Etkisinin Araştırılması Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya.
80. Soleas, G., Diamandis, E., and Goldberg, D.M. (1997). Resveratrol:A molecule whose time has come? And gone? *Clinical Biochemistry*, 30(2),91- 113.
81. Leikert, J.F., Räthel, T., Wohlfart, P., Cheynier, V., Vollmar, A. M., and Dirsch, V. M.,(2002). Red wine polyphenols enhance endothelial nitricoxide synthase expression and subsequent nitricoxide release from endothelial cells. *Circulation*, 106(13),1614.
82. Sener, D. (2011). Di-n-Bbütil fitalatın uterus endometriyumu üzerine etkisi ve resveratrolün olası koruyucu özelliğinin çeşitli mikroskopik yöntemlerle incelenmesi.

Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

83. Bradamante, S., Barengi, L., and Villa, A. (2004). Cardiovascular Protective Effects of Resveratrol. *Cardiovascular Drug Reviews*, 22(3),169-188.
84. King, R.E., Bomser, J.A., and Min, D.B. (2006). Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5,65-70.
85. Hung, L., Su, M., Chu, W.K., Chiao, C.W., Chan, W.F., and Chen, J.K. (2002). The protective effect of resveratrols on ischaemia-reperfusion injuries of rat hearts is correlated with antioxidant efficacy. *British Journal of Pharmacology*, 135(7),1627-1633.
86. Fauconneau, B., Waffo-Teguo, P., Huguet, F., Barrier, L., Decendit, A., and Merillon, J.M. (1997). Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using in vitro tests. *Life sciences*, 61(21),2103-2110.
87. Sun, A., Chen, Y., James-Kracker, M., Wixom, P., and Cheng, Y. (1997). Ethanol-induced cell death by lipid peroxidation in PC12 cells. *Neurochemical Research*, 22(10),1187-1192.
88. Sun, A., Simonyi, A., and Sun, G.Y. (2002).The French paradox and beyond: neuroprotective effects of polyphenols 1, 2. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(4),314-318.
89. Bradamante, S., Barengi, L., and Villa, A. (2004). Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovascular Drug Reviews*, 22(3),169-188.
90. King, R.E., Bomser, J.A., and Min, D.B. (2006). Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5,65-70.
91. Ahmad, K.A., Clement, M.V., and Pervaiz, S. (2006). Pro-oxidant activity of low doses of resveratrol inhibits hydrogen peroxide-induced apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*,1010,365-373.
92. Baur, J.A., and Sinclair, D.A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature reviews*, 5,493-506.
93. Aziz, M.H., Kumar, R., and Ahmad, N. (2003). Cancer chemoprevention by resveratrol: In vitro and in vivo studies and the underlying mechanisms. *International Journal of Oncology*, 23,17-28.
94. Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C.W., Fong, H. H., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A. D., Mehta, R. G., Moon R.C., and Pezzuto, J. M. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275(5297),218- 220.

95. Athar, M., Back, J.H., Tang, X., Kim, K.H., Kopelovich, L., Bickers, D.R., and Kim A.L. (2007). Resveratrol: are view of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 224(3),274-283.
96. Aziz, M.H., Afaq, F., and Ahmad, N. (2005). Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in survivin. *Photochemistry and Photobiology*, 81,25-31.
97. Aziz, M.H., Kumar, R., and Ahmad N. (2003). Cancer chemoprevention by resveratrol: In vitro and in vivo studies and the underlying mechanisms. *International Journal of Oncology*, 23,17-28.
98. King, R.E., Bomser, J.A., and Min, D.B. (2006). Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5,65-70.
99. Das, D.K., and Maulik, N. (2006). Resveratrol in cardioprotection:A therapeutic promise of alternative medicine. *Molecular Interventions*,6(1), 36-47.
100. Falchetti, R., Fuggetta, M.P., Lanzilli, G., Tricarico, M., and Ravagnan, G. (2001). Effects of resveratrol on human immune cell function. *Life Sciences*, 21;70(1),81-96.
101. Gao, X., Xu, Y., Janakiraman, N., and Chapman, R. A.(2001). Immuno modulatory activity of resveratrol: suppression of lymphocyte proliferation, development of cell-mediated cytotoxicity, and cytokine production1. *Biochemical pharmacology*, 62(9), 1299-1308.
102. Marier, J., Chen, K., Prince, P., Scott, G., del Castillo, J.R.E., and Vachon, P. (2005). Production of ex vivo lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α , interleukin-1, and interleukin-6 is suppressed by trans-resveratrolin a concentration-dependent manner. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 69(2),151.
103. Khanna, S., Roy, S., Bagchi, D., Bagchi,M., and Sen, C. K.(2001). Upregulation of oxidant-induced VEGF expression in cultured keratinocytes by a grape seed proanthocyanidin extract. *Free Radical Biology &Medicine*, 31(1), 38-42.
104. Bertelli, A.A.E., and Giovannini De Caterina R.L. (1996) Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *International Journal of Tissue Reactions*, 17(1),1-3.
105. Saiko, P., Szakmary, A., Jaeger, W., and Szekeres, T. (2008). Resveratrol and its analogs: Defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? *Mutation Research*, 658,68-94.
106. Olas, B., and Wachowicz, B. (2002). Resveratrol and vitamin C as antioxidants in blood platelets. *Thrombosis Research*, 106(2),143-148.
107. Olas, B., Wachowicz, B., Stochmal, A., and Oleszek, W. (2005). Inhibition of blood platelet adhesion and secretion by different phenolics from *Yucca schidigera* Roezl. Bark. *Nutrition*, 21(2),199-206.

108. Pal, S., Ho, N., Santos, C., Dubois, P., Mamo, J., Croft, K., and Allister, E. (2003). Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *Journal of Nutrition*, 133(3),700.
109. Docherty, J., Fu, M., Hah, J.M., Sweet, T.J., Faith, S.A., and Booth, T. (2005). Effect of resveratrol on herpes simplex virus vaginal infection in the mouse. *Antiviral Research*, 67(3),155-162.
110. Docherty, J., Fu, M., Stiffler, B. S., Limperos, R.J., Pokabla, C.M., and De Lucia, A. L. (1999). Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication. *Antiviral research*, 43(3),135-145.
111. Mahady, G., and Pendland, S.(2000). Resveratrol inhibits the growth of *Helicobacter pylori* in vitro. *The American Journal of Gastroenterology*,95(7), 1849.
112. Mahady, G., Pendland, S., and Chadwick, L.R. (2003). Resveratrol and red wine extracts inhibit the growth of CagA+ strains of *Helicobacter pylori* in vitro. *The American Journal of Gastroenterology*, 98(6),1440.
113. Baur, J., Pearson, K., Price, N.L., Jamieson, H.A., Lerin, C., Kalra, A., Prabhu, V.V., Allard, J.S., Lopez-Lluch, G., and Lewis, K. (2006). Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, 444(7117),337-342.
114. Henry, L.A., and Diane, M.W. (2002). Resveratrol phytoestrogen effects on reproductive physiology and behavior in female rats. *Hormones and Behavior*, 41(2), 220-228.
115. Gehm, B.D., McAndrews, J.M., Chien, P.Y., and Jameson, J.L (1997). Resveratrol a polyphenolic compound found in grapes and wine is an agonist for the estrogen receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,14138-14143.
116. Bowers, J.L., Tyulmenkov, V.V., Jernigan, S.C., and Klinge, C.M. (2000). Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*, 141(10),3657-3667.
117. Yeşilkaya, E.(2008). Endokrin Bozucular. *Journal of Current Pediatrics*, 6, 76-82.
118. Safe, S. (2004). Endocrine disruptors and human health: is there a problem. *Toxicology*, 205(1-2),3-10.
119. Çetinkaya, S. (2009). Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, 36(1),59-66.
120. Yeşilkaya, E. (2008). Endokrin bozucular. *Güncel Pediatri*, 6,76-82.
121. Higuchi, T., Palmer, J., Gray Jr, L.E., and Veeramachaneni, D.N. (2003). Effects of dibutyl phthalate in male rabbits following in utero, adolescent or postpubertal exposure. *Toxicological Sciences*, 72(2),301.

122. Lehmann, K., Phillips, S., Sar, M., Foster, P., and Gaido, K. W. (2004). Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di(n-butyl) phthalate. *Toxicological Sciences*, 81(1),60.
123. Kohn, M.C., Parham, F., Masten, S.A., Portier, C.J., Shelby, M.D., Brock, J.W., and Needham, L.L. (2000). Human exposure estimates for phthalates. *Environmental Health Perspectives*, 108, A440-A442.
124. Endocrine Disruptors. URL: http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/bkh_report.pdf. Son erişim tarihi:03.07.2015.
125. Yeşilkaya E. Endokrin bozucular. (2008). *Güncel Pediatri*, 6,76-82.
126. Lee, M.M. (2007). Endocrine Disrupters. *A Current Review of Pediatric Endocrinology*,109-118.
127. Solomon, G.M., and Schettler, T. (2000). Environment and health. Endocrine disruption and potential human health implications. *Canadian Medical Association Journal*, 1116,1467-1474.
128. Lyche, J.L., Gutleb, A.C., Bergman, A., Eriksen, G.S., Murk, A.T.J., Ropstad, E., Saunders, M., and Skaare, J. U.(2009). Reproductive and developmental toxicity of phthalates. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 12(4), 225-249.
129. Staples, C.A., *The Handbook of Environmental Chemistry*. (2003). Germany: Verlag Heidelberg,28.
130. Heudorf , U., Mersch, S., and Angerer, J. (2007). Phthalates: toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210, 623-634.
131. Kavlock, R., Barr, D., Boekelheide, K., Breslin, W., Breyse, P., Chapin,R., Gaido, K., Hodgson, E., Marcus, M., Shea, K., and Williams, P.(2006).NTP- CERHR Expert Panel update on the reproductive and developmental toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate. *Reproductive Toxicology*, 22,291–399.
132. Calafat, A.M., Needham, L.L., Silva, M.J., and Lambert, G. (2004). Exposure to di-(2 ethylhexyl) phthalate among premature neonates in aneonatal intensive care unit. *Pediatrics*, 113,429-434.
133. Lovekamp-Swan, T., and Davis, B.J. (2003). Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environmental Health Perspectives*, 111,139-145.
134. Hong, E.J, Choi, K.C., Manabe, N., and Jeung, E.B. (2005). Conflict of estrogenic activity by various phthalates between in vitro and in vivo models related to the expression of Calbidin-D9k. *Journal of Reproduction and Development*, 51,253-263.

135. Staples, C. A., *The Handbook of Environmental Chemistry*. (2003). Germany: Verlag Heidelberg,28.
136. Keleş, A. (2008). Fitalik Asit Esterlerinden Dimetil Fitalatın Elektrokoagülasyon prosesi ile Arıtımı. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
137. Hauser, R., and Calafat, A. (2005). Phthalates and human health. *Occupational and Environmental Medicine*, 62(11), 806.
138. NTP-CERHR Expert Panel Report on Di-n-Butyl Phthalate. (2000). *Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR)*, National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services.
139. Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of di-n-butyl phthalate(DBP). (2003). *Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR)*, National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services, NIHPubl No.,03-4486.
140. Member State Committee Support Document for Identification of Dibutyl Phthalate (DBP) as a Substance of Very High Concern. (2008). *Substance of Very High Concern (SVHC) Support Document*, EC No., 201-557-4,6.
141. Ema, M., Miyawaki, E., and Kunio, K. (2000). Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reproductive Toxicology*, 14,13-19.
142. Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS). (1994). National Institute for Occupational Safety and Health, RTECS database available through the National Library of Medicine MEDLARS System: *J-Mazand University Medical Science Article*, A-10-1269-10.
143. Martin, H., and Worthing C.R. (edt) (1974). *Pesticide Manual*. (4thed) England: Publication of the British Crop Protection Council,167.
144. National Research Council (NRC). (1993). Pesticides in the diets of infants and children. Committee on Pesticides in the Diets of Infants and Children, Board on Agriculture and Board on Environmental Studies and Toxicology Commission on Life Sciences. Washington: *National Academies Press*, 1- 12.
145. Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M., and Hungerbuhler, K. (2006). What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? *Risk Analysis*, 26,803-824.
146. Fromme, H., Gruber, L., Schlummer, M., Wolz, G., Bohmer, S., Angerer, J., Mayer, R., Liebl, B., and Bolte, G. (2007). Intake of phthalates and di(2- ethylhexyl) adipate: results of the integrated exposure assessment survey based on duplicate diet samples and biomonitoring data. *Environment International*, 33,1012-1020.

147. Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of di-n-butylphthalate(DBP). (2003). *Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR)*, National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publ No.,03-4486.
148. Dickson-Spillmann, M., Siegrist, M., Keller, C., and Wormuth, M.(2009). Phthalate exposure through food and consumers' risk perception of chemicals in *Food Risk Analysis* 29(8), 1170-1181.
149. Overcash, M.R. (1982). Behavior of organic priority pollutants in the terrestrial system: Di-n-butyl phthalate ester, toluene and 2,4-dinitrophenol. *The National Technical Information Service*, PB82- 224- 544,104.
150. Tomita, I., Nakamura, Y., and Yagi, Y. (1977). Phthalic acid esters in various foodstuffs and biological materials. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1, 275-287.
151. Plunkett, E.R. (1976). *Handbook of Industrial Toxicology*. Chemical Publishing Co., New York:496.
152. Albro, P.W., and Moore, B. (1974). Identification of the metabolites of simple phthalate diesters in rat urine. *Journal of Chromatography*, 94,209-218.
153. Bedford, C.T. (1977). Biotransformations. PartII: Agricultural and industrial chemicals; miscellaneous organics. In *Foreign Compound Metabolism in Mammals*. The Chemical Society, London: 4, 239.
154. White, R.D., Carter, D.E., Earnest, D., and Mueller, J. (1980). Absorption and metabolism of three phthalate diesters by the rat small intestine. *Food and Cosmetics Toxicology*, 18,383-386.
155. Rowland, I.R., Cottrell, R.C., and Phillips, J.C. (1977). Hydrolysis of phthalate esters by the gastro-intestinal contents of the rat. *Food and Cosmetics Toxicology*, 15,17-21.
156. Scott, R.C., Dugard, P.H., Ramsey, J.D., and Rhodes, C. (1987). In vitro absorption of some o-phthalate diesters through human and rat skin. *Environmental Health Perspectives* 74, 223-227.
157. Elsisi, A.E., Carter, D.E., and Sipes, I.G. (1989). Dermal absorption of phthalate diesters in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12, 70-77.
158. Ching, N.P.H., Jham, G.N., Subbarayan, C., Bowen, D.V., Smit, A.L.C., Grossi, C.E., Hicks, R.G., Field, F.H., and Nealon, T.F. (1981). Gas chromatographic-mass spectrometric detection of circulating plasticizers in surgical patients. *Journal of Chromatography*, 222,171-177.
159. Existing Chemical Hazard Assessment: Dibutyl Phthalate. (2013). *Priority Existing Chemical Assessment Report*, 16.

160. NTP-CERHR Expert Panel Report on Di-n-Butyl Phthalate. (2003). *Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR)*, National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services:4, ill90.
161. Nikonorow, M., Mazur, H., and Piekacz, H. (1973). Effect of orally administered plasticizers and polyvinyl chloride stabilizers in the rat. *Toxicology Applied Pharmacology*, 26,253-259.
162. Walseth, F., and Nilsen, O.G. (1986). Phthalate esters: Effects of orally administered dibutyl phthalate on cytochrome P- 450 mediated metabolism in rat liver and lung. *Acta Pharmacology and Toxicology*, 59,263-269.
163. National Toxicology Program (NTP) Report (1994). Toxicology and Carcinogenesis Studies of Diethyl phthalate (CASNo.84-66-2) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Dermal Studies) with Dermal Initiation/Promotion Study of Diethyl phthalate and Dimethyl phthalate (CAS No. 131-11-3) in Male Swiss (CD-1) Mice. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, *Research Triangle Park*, Technical Report Series No. 429. NIH Publication No. 94-3356.
164. Cummings A. M., and GrayL. E., JR. (1987). Dibutyl phthalate: Maternal effects versus fetotoxicity. *Toxicology Letters*, 39, 43-50.
165. Scherdain, J.L. (1985). *Chemically Induced Birth Defects* (F.J. Di Carlo and F.W. Oehme, Eds.), New York, Marcel Dekker: 668-678.
166. Cheroni, S., Formantici, C., and Galante, Y.M. (2010). Depolymerization of Carboxymethyl cellulose in a hydro-alcoholic medium by a monocomponent endocellulase. *Enzyme and Microbial Technology*, 47;348–354.
167. Adinugraha, M., and Marseno, D. (2005). Synthesis and characterization of sodium carboxymethyl cellulose from cavendish banana pseudo stem (*Musa cavendishii* LAMBERT). *Carbohydrate Polymers*, 62(2), 164169.
168. Togrul, H., and Arslan, N. (2003). Production of carboxymethyl cellulose from sugar beet pulp cellulose and rheological behaviour of carboxymethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers* 54(1), 73-82.
169. Heydarzadeh, H.D., Najafpour, G.D., and Nazari-Moghaddam, A.A. (2009). Catalyst-Free Conversion of Alkali Cellulose to Fine Carboxymethyl Cellulose at Mild Conditions. *World Applied Sciences Journal*, 6(4), 564-569.
170. Niculae-Olaru, L.O., Aurel-Stoleriu, D.T. (1998). Carboxymethyl cellulose synthesis in organic media containing ethanol and/or acetone. *Journal of Applied Polymer Science*, 67(3),481-486.
171. Mohamed, M.A. (2010). Swelling Characteristics and Application of Gamma-Radiation on Irradiated SBR-Carboxymethylcellulose (CMC) Blends. Radiation Chemistry Department, National Center for Radiation Research and Technology Report, Egypt. 10, 1-17.

172. Wach, R.A., Kudoh, H., Zhai, M., Nagasawa, N., Muroya, Y., Yoshii, F., and Katsumura, Y. (2004). *Polymer*, Rate constants of reactions of carboxymethyl cellulose with hydrated electron, hydroxyl radical and the decay of CMC macroradicals. A pulse radiolysis study. (Birinci Baskı). 45, 8165-8171.
173. Kumar, V., Abbas, A.K., and Fausto, N. (2005). Cellular adaptations, cell injury, and cell death. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran *Pathologic Basis of Disease*. (7th ed). Philadelphia: Elsevier Saunders, 3-46.
174. Tsujimoto, Y., and Shimizu, S. (2000). Bcl-2 family: Life-or-death switch. *FEBS Letters*, 466(1), 6-10.
175. Hu, X. (2003). Proteolytic signaling by TNF α : caspase activation and IB degradation. *Cytokine*, 21(6), 286-294.
176. Chang, H.Y., and Yang, X. (2000). Proteases for Cell Suicide: functions and regulation of Caspases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), 821-846.
177. Hu, Y.M., Benedict, M.A., and Ding, L.Y. (1999). Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. *The EMBO Journal*, 18, 3586-3595.
178. Krajewski, S., Krajewska, M., Ellerby, L.M., Welsh, K., Xie, Z., Deveraux, Q.L., Salvesen, G.S., Bredesen, D.E., Rosenthal, R.E., Fiskum, G., and Reed, J.C. (1999). Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*: 96, 5752- 5757.
179. Newton, K., and Strasser, A. (1998) The Bcl-2 family and cell death regulation. *Current Opinion Genetics Development*, 8, 68-75.
180. Ameisen, J.S. (1996). The origin of programmed cell death. *Science*, 272, 1278.
181. Bellamy, C.O., Malcomson, R.D., Harrison, D.J., and Wyllie, A.H. (1995). Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology*. 6, 3-16.
182. Walker, N.I., Harmon, B.V., Gobe, G.C., and Kerr, J.F.R. (1998). Patterns of cell death. *Methods Achieve Experimental Pathology*, 13, 18-32.
183. Rao, R.V., Hermel, E., Castro-Obregon S. (2001). Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program: mechanism of caspase activation. *Journal of Biology and Chemistry*, 276, 869-874.
184. Member State Committee Support Document for Identification of Dibutyl Phthalate (DBP) as a Substance of Very High Concern. (2008). *Substance of Very High Concern (SVHC) Support Document*, EC No., 201-557-4, 6.

185. Braun, J.M., Sathyanarayana, S., and Hauser, R. (2013). Phthalate exposure and children's health. *Current Opinion in Pediatrics*, 25(2), 247-254.
186. Velez, M.P., Arbuckle, T.E., and Fraser, W.D. (2015). Female exposure to phenols and phthalates and time to pregnancy: the Maternal-infant research on environmental chemicals (MIREC) study. *Fertility and Sterility*, 103,1011- 1020.
187. Tranfo, G., Caporossi, L., Paci, E., Aragona, C., Romanzi, D., and De Carolis, C. (2012). Urinary phthalate monoesters concentration in couples with infertility problems. *Toxicology Letters*, 213,15-20.
188. Kohn, M.C., Parham, F., Masten, S.A., Portier, C.J., Shelby, M.D., Brock, J.W., and Needham, L.L. (2000). Human exposure estimates for phthalates. *Environmental Health Perspectives*, 108,A440-A442.
189. Blount, B.C., Silva, M.J., Caudill, S.P., Needham, L.L., Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Lucier, G.W., Jackson, R.J., and Brock, J.W. (2000). Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. *Environmental Health Perspectives* 108,979-982.
190. Guney, M., Oral, B., Demirin, H., Take, G., Giray, S.G., Altuntas, I., and Mungan, T. (2007). Fallopian damage induced by organophosphate insecticide methylparathion, and protective effect of vitamins E and C on ultrastructural changes in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 23,429-438.
191. Zeliann, R.C., Xiaosong, L., and Nivedita, S. (2015). Short term exposure to di-n-butyl phthalate (DBP) disrupts ovarian function in young CD-1 mice. *Reproductive Toxicology*, 3, 53.
192. Gray, L.E., Laskey, J., and Ostby, J. (2006). Chronic di-n-butylphthalate exposure in rats reduces fertility and alters ovarian function during pregnancy in female long evans hooded rats. *Toxicological Sciences*, 93(1),189-195.
193. Wine, R.N., Li, L.H., Barnes, L.H., Gulati, D.K., and Chapin, R.E. (1997). Reproductive toxicity of di-n-butylphthalate in a continuous breeding protocol in Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives*, 105,102-107.
194. Da- Peng, C., Shi, T., Da-Guang, S., Chan- Juan, H., Hong- Fei, X., and Xu, M. (2014). Corrigendum to: exposure to mono-n-butyl phthalate disrupts the development of preimplantation embryos. *Reproduction, Fertility and Development*, 26(3), 491-503.
195. Melnick, R.L., and Schiller, C.M. (1982). Mitochondrial toxicity of phthalate esters. *Environmental Health Perspectives*, 45, 51-56.
196. Sekaran, S., Balagapathy, P., Parsanathan, R., Elangovan, S., Gunashekar, S., Bhat, F.A., and Jadageesan, A. (2015). Lactational exposure of phthalate causes long-term disruption in testicular architecture by altering tight junctional and apoptotic protein expression in Sertoli cells of first filial generation pubertal Wistar rats. *Human and Experimental Toxicology*, 34(6), 575-590.

197. de Lorgeril, M., Salen, P., Martin, J.L., Mamelle, N., Monjaud, I., Touboul, P., and Delaye, J. (1996). Effect of a Mediterranean type of diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease insights into the cardioprotective effect of certain nutriment. *Journal of the American College of Cardiology*, 28(5), 1103-1108.
198. Zhu, B., Yumei, Chen., Hongping, Z., Xishi, L., and Sun-Wei, Guo. (2015). Resveratrol reduces myometrial infiltration, uterine hyperactivity, and stress levels and alleviates generalized hyperalgesia in mice with induced adenomyosis. *Reproductive Sciences*, 1-14.
199. Mengyuan, L., Yu, Y., Xiaoying, Y., Ming, Y., Qiang, Z., and Keefe, L.L. (2013). Resveratrol protects against age-associated infertility in mice. *Human Reproduction*, 28(3), 707-717.
200. Nagarkatti, P.S., Singh, U.S., Nagarkatti, M., and Singh, N.P. (2011). Resveratrol (3,5,4'- trihydroxystilbene) protects pregnant mother and fetus from the immunotoxic effects of TCDD. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(2), 209-219.
201. Singh, C.K., Kumar, A., Hitchcock, D.B., Fan, D., Goodwin, R., La Voie, H.A., Nagarkatti, P., Di Pette, D.J., and Singh, U.S. (2011). Resveratrol prevents embryonic oxidative stress and apoptosis associated with diabetic embryopathy, and improves glucose and lipid profile of diabetic dam. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(8), 1186-1196.
202. Takeo, S., Sato, D., Kimura, K., Monji, Y., Kuwayama, T., Kawahara-miki, R., and Iwata, H. (2014). Resveratrol improves the mitochondrial function and fertilization outcome of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Development*, 60, 2.
203. Fu-Chao, L., Hsin-I, T., and Huang-Ping, Y. (2015). Organ-protective effects of red wine extract, resveratrol, in oxidative stress-mediated reperfusion injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 568634, 15 pages.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Kararı



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ**

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

22.12./2009

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/138-17602
KONU:

Sayın

Doç.Dr.Gülnur TAKE
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-09.069 kod numaralı ve *“Di-n-bütıl fıtalat’ın (DBP) kadın ve erkek üreme sistemi organlarına etkisi ve Resveratrol’un olası koruyucu özelliğinin yapısal olarak incelenmesi”* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-09.069 and entitled *“The effects of Di-n-bütıl fıtalat (DBP) in male and female reproductive system organs and the possible protective effects of Resveratrol: Microscopic Study”* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı,adı :Akkaya,Pakize Nur
Uyruğu :T.C.
Doğumtarhiveyeri :15.08.1990 İzmir
Medeni hali :Bekar
Telefon :05064383019
e-mail :nurakkaya3981@hotmail.com

**Eğitim****Derece****Eğitim Birimi****Mezuniyet tarihi**

Yüksek Lisans

Gazi Üniversitesi

Devam ediyor

Lisans

Ankara Üniversitesi

2012

Lise

Çankaya Milli Piyango Anadolu Lisesi

2008

İş Deneyimi**Yıl****Yer****Görev**

2014

Gazi Üniversitesi

Araştırma

Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce, İtalyanca



GAZİGELECEKTİR..