

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

**AGOMELATİN VE GALLİK ASİD'İN STREPTOZOTOZİN (STZ) İLE  
İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK SIÇAN EPİDİDİMİNDE OKSİDATİF  
STRES ÜZERİNE ANTIOKSİDAN ETKİSİ**

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

**Hülya UĞUR**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Altuğ Yavaşoğlu**

**İZMİR  
2014**



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

**AGOMELATİN VE GALLİK ASİD'İN STREPTOZOTOZİN (STZ) İLE  
İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK SIÇAN EPİDİDİMİNDE OKSİDATİF  
STRES ÜZERİNE ANTİOKSİDAN ETKİSİ**

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

**Hülya UĞUR**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Altuğ Yavaşoğlu**

**İZMİR**  
**2014**

## DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(ADI SOYADI)

(İMZA)

Başkan: Doç. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU (Danışman)

Üye: Prof. Dr. Hüseyin AKTUĞ

Üye: Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Eylül, 2014

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca sürekli destek olup, değerli bilgi ve deneyimlerini aktararak her zaman yardımını gördüğüm ve eğitimim boyunca sabır ve anlayışını esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince değerli zamanlarını ayırarak yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Hüseyin AKTUĞ'a, Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Hocam Prof. Dr. Ayşegül UYSAL'a, tüm Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyelerine ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Dr. Fatih OLTULU'ya teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimim 3 aylık döneminde İngiltere'de eğitim almamda büyük katkısı olan Sayın Hocam Prof. Dr. Sibel GÖKSEL'e teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarını gördüğüm, arkadaşım Gürkan YİĞİTTÜRK'e aynı odayı paylaştığımız arkadaşlarım Eda AÇIKGÖZ, Pelin TOROS, Ümmü GÜVEN, Fahriye DÜZAĞAÇ'a ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim çalışanları Ertuğrul BÜYÜKTOPÇU, Şahin PALA, Erdinç YILMAZ, Sevim BALKIZ, Selman BAĞCI, Necla MENEKŞE, Ayşe FİDAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca yaşantımın her döneminde hep yanımda hissettiğim sevgili anneciğim ve babacığma, canım ablalarım Nurten ve Semra'ya, kardeşim Esra'ya, her konuda bana destek olan Ulvi BAYRAKTUTAN'a sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İZMİR, 2014

Hülya UĞUR

## ÖZET

### AGOMELATİN VE GALLİK ASİT'İN STREPTOZOTOZİN (STZ) İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK SIÇAN EPİDİDİMİSLERİNDEKİ OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ANTIOKSİDAN ETKİSİ

Oksidatif stres, Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) artışı ve antioksidanların miktarındaki azalmaya bağlı olarak vücutta serbest radikallerin oluşması demektir. Bu durum dokularda hasara yol açar. Diyabetli canlılarda da serbest radikallerin açığa çıkması sonucu oksidatif stres gözlenir. Oksidatif stresin birçok dokuda olduğu gibi epididimis fonksiyonunu da olumsuz etkilediği bilinmektedir. Bu bağlamda Oksidatif stres tedavisinde kullanılan maddelere antioksidan maddeler denir.

Projede oksidatif strese antioksidan madde olarak Agomelatin (Ago;16 mg/kg) ve Gallik Asit (Gal; 20 mg/kg) gavaj uygulamasıyla verilmiş ve epididimis dokusu üzerine olan etkileri incelenmiştir. Çalışma 21 günlük süreçte tamamlanmış olup 28 sıçan her grupta 7 sıçan olmak üzere rasgele şu 4 gruba ayrılmıştır: 1- Kontrol grubu, 2- Streptozotosin (STZ) (50mg/kg) ile indüklenmiş Diyabet grubu, 3- Diyabet + (16mg/kg) Agomelatin grubu, 4- Diyabet + (20 mg/kg) Gallik Asit grubu.

Süre sonunda alınan epididimis dokuları rutin ışık mikroskop yöntemlerinde analiz edildi. H.E ve PAS ile yapılan boyamalarda epididimislerde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabet grubunda stereosilyada dejenerasyon, bazal membran kalınlaşması ve interstisyel alanda yapısal değişiklikler gözlenmiştir. Tedavi grubundaki dokuların kontrole yakın düzeyde olduğu saptanmıştır. Diyabetli gruptaki dokuda iNOS, FN, Tnf- $\alpha$  ve Vegf ekspresyonunda kontrol grubuna göre artış olduğu görülmüştür. Tedavi gruplarında ise ekspresyonun diyabetli gruba göre daha zayıf ve kontrol grubuna yakın olduğu tespit edilmiştir. TUNEL boyama sonuçlarında da diyabetli grupta apoptotik hücre kontrol grubuna göre artış gösterirken, tedavi grubundaki apoptotik hücrelerde azalma olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, diyabetin epididimis dokusunda oluşturduğu yapısal dejenerasyona, Agomelatin ve Gallik Asidin koruyucu etkisi gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Diabetes Mellitus, Oksidatif Stres, Epididimis, Fibronektin, iNOS, TNF- $\alpha$ , VEGF

## **ABSTRACT**

### **ANTIOXIDANT ROLE OF AGOMELATINE AND GALLIC ACID ON OXIDATIVE STRESS IN STZ-INDUCED DIABETIC RAT EPIDIDYMIS**

Oxidative stress emerges from an imbalance between production of reactive oxygen species and reduction in antioxidants. This leads to a damage in tissues. Oxidative stress also occurs in patients with diabetes. It is known that oxidative stress affects epididymis function in addition to other tissues. Agents that are used to treat oxidative stress are called antioxidants.

In this project, agomelatin (Ago; 16 mg/kg) and gallic acid (Gal; 20 mg/kg) are given by oral gavage as antioxidants and their effects on epididymis have been investigated. We have completed this study in 21 days in which 28 rats were divided into 4 groups consisting of 7 rats: 1- control group; 2- streptozotocin (50 mg/kg) diabetes group, 3- Streptozotocin (50 mg/kg) + Agomelatin (16 mg/kg), 4- streptozotocin (50 mg/kg) + gallic acid (20 mg/kg).

Tissues that are obtained from all experimental groups were examined via light microscopy. In diabetic animals degeneration in stereocilia, basal membrane thickening and structural changes in interstitial region have been observed. No statistical difference has been observed between controls and the treatment groups. In diabetic animal epididymis the expressions of Fibronectin, iNOS, TNF- $\alpha$  and VEGF have been found to be increased. The expression of these parameters have been found to be weaker than controls and stronger than diabetic animals in treatment groups. The number of apoptotic cells were shown to be significantly elevated in diabetic animals compared to both controls and treatment groups where treatment regimens appeared to decrease the apoptotic cells as ascertained by TUNEL.

As a result, Agomelatin and Gallic acid's protective effects was observed at the structural form of diabetes in the epididymis tissue degeneration.

**Keywords:** Diabetes Mellitus, Oxidative Stress, Epididymis, Fibronectin, iNOS, TNF- $\alpha$ , VEGF

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
KISALTMALAR.....	X
<b>1. BİRİNCİ BÖLÜM</b>	
1.1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.2. GENEL BİLGİLER.....	3
1.2.1. Testis ve Duktus Epididimis Embriyolojisi.....	3
1.2.1.1. Testis ve Duktus Epididimisteki Embriyolojik Kalıntılar.....	6
1.2.2. Duktus Epididimis Anatomisi.....	6
1.2.3. Duktus Epididimis Histolojisi.....	7
1.2.4. Duktus Epididimis Damarlanması.....	9
1.2.5. Duktus Epididimis Fizyolojisi.....	9
1.2.6. Duktus Epididimis Fonksiyonlarını Etkileyen Faktörler.....	10
1.2.4. DİABETES MELLİTUS GENEL BİLGİLER.....	11
1.2.4.1. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi.....	12
1.2.4.2. Diabetes Mellitus'un Tanı ve Sınıflaması.....	13
1.2.4.3. Diabetes Mellitus Komplikasyonları.....	14
1.2.4.3.1. Akut Komplikasyonları.....	14
1.2.4.3.2. Kronik Komplikasyonları.....	16
1.2.4.3. Deneysel Diyabet.....	17
1.2.5. OKSİDATİF STRES.....	19
1.2.5.1. Serbest Radikaller.....	20
1.2.5.2. Antioksidan Sistemler.....	21
1.2.5.2.1. Enzim Yapısında Olan Antioksidanlar.....	23
1.2.5.2.2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar.....	24
1.2.5.3. Serbest Radikal Tayininde Kullanılan Yöntemler.....	25
1.2.6. DİYABETTE OKSİDATİF STRES.....	25
1.2.7. AGOMELATİN.....	25
1.2.8. GALLİK ASİT.....	26

1.2.9. Apoptozis.....	28
1.2.10. İmmünohistokimya Teknikleri.....	35
<b>2. BÖLÜM</b>	
2.1. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
2.1.1. Deneysel Araçlar.....	36
2.1.2. Deneysel Yöntem.....	37
2.1.2.1. Deney Grupları.....	38
2.1.3. Diyabet İndüksiyonu.....	39
2.1.4. Doku Örneklerinin Alınması.....	40
2.1.5. Mikroskopik Analiz Gereç ve Yöntem.....	41
2.1.5.1. Tespit Solüsyonları.....	41
2.1.5.2. Işık Mikroskopik Yöntem.....	41
2.1.5.2.1. Doku Takibi ve Gömme.....	41
2.1.5.2.2. Kesit Alma.....	42
2.1.6. Histokimyasal Boyamalar.....	42
2.1.6.1. Hematoksilen Eozin (H.E.).....	42
2.1.6.1.1. H.E. İçin Hazırlanan Solüsyonlar.....	43
2.1.6.1.2. H.E. Boyama Tekniği.....	43
2.1.6.2. Periyodik Asit Shift (PAS).....	44
2.1.6.3. İmmünohistokimyasal Boyama.....	45
2.1.7. TUNEL Metodu.....	46
2.1.8. Epididimis Tübül Çaplarının Ölçümü.....	47
2.1.9. Bazal Lamina Kalınlık Ölçümü.....	48
<b>3. BÖLÜM</b>	
3.1. BULGULAR.....	48
3.1.1. Histolojik Bulgular.....	50
3.1.1.1. Hematoksilen Eozin Bulgular.....	50
3.1.1.2. PAS Bulguları.....	62
3.1.2. İmmünohistokimya Bulgular.....	66
3.1.2.1. iNOS İmmünoreaktivitesi.....	66
3.1.2.2. VEGF İmmünoreaktivitesi.....	71
3.1.2.3. TNF- $\alpha$ İmmünoreaktivitesi.....	76
3.1.2.4. Fibronektin İmmünoreaktivitesi.....	81
3.1.2.5. TUNEL Boyası.....	87

3.1.3. Morfometrik Bulgular.....	91
3.1.3.1. Tübül Çapı Ölçümü.....	91
3.1.3.2. Bazal Lamina Kalınlık Ölçümü.....	93
<b>4. BÖLÜM</b>	
4.1. TARTIŞMA.....	95
<b>5. BÖLÜM</b>	
5.1. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	102
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>105</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>126</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1-1: 3 haftalık embriyoda primordiyal germ hücreleri.....	4
Şekil 1-2: Testisin 8. Hafta ve 4. Aydaki görünümü.....	5
Şekil 1-3: Oksidatif Stres.....	19
Şekil 1-4: Agomelatin kimyasal yapısı.....	26
Şekil 1-5: Gallik asidin kimyasal yapısı.....	28
Şekil 1-6: Fibronektinin primer yapısının özellikleri ve fonksiyonel domainleri...	31
Şekil 1-7: TNF genlerinin yapısı.....	34
Şekil 2-1: Hayvanların Gruplandırılması.....	38
Şekil 2-2: Gavaj Uygulaması.....	39
Şekil 2-3: STZ'nin i.p. olarak verilmesi.....	39
Şekil 2-4: Sıçanlarda ağırlık tartma.....	40
Şekil 2-5: Epididimislerin alınması.....	40
Şekil 3-1: Kontrol grubuna ait histolojik kesitlerdeHematoksilen-Eozin boyama...	51
Şekil 3-2: Diyabet grubuna ait histolojik kesitlerdeHematoksilen-Eozin boyama...	54
Şekil 3-3: GAL grubuna ait histolojik kesitlerdeHematoksilen-Eozin boyama.....	57
Şekil 3-4: AGO grubuna ait histolojik kesitlerdeHematoksilen-Eozin boyama.....	60
Şekil 3-5: Kontrol grubuna ait histolojik kesit PAS boyama.....	62
Şekil 3-6: Diyabet grubuna ait histolojik kesit PAS boyama.....	63
Şekil 3-7: GAL grubuna ait histolojik kesit PAS boyama.....	64
Şekil 3-8: AGO grubuna ait histolojik kesit PAS boyama.....	65
Şekil 3-9: Kontrol grubu iNOS immunoreaktivitesi.....	67
Şekil 3-10: Diyabet grubu iNOS immunoreaktivitesi.....	68
Şekil 3-11: GAL grubu iNOS immunoreaktivitesi.....	69
Şekil 3-12: AGO grubu iNOS immunoreaktivitesi.....	70
Şekil 3-13: Kontrol grubu VEGF immunoreaktivitesi.....	72
Şekil 3-14: Diyabet grubu VEGF immunoreaktivitesi.....	73
Şekil 3-15: GAL grubu VEGF immunoreaktivitesi.....	74
Şekil 3-16: AGO grubu VEGF immunoreaktivitesi.....	75
Şekil 3-17: Kontrol grubu TNF- $\alpha$ immunoreaktivitesi.....	77
Şekil 3-18: Diyabet grubu TNF- $\alpha$ immunoreaktivitesi.....	78
Şekil 3-19: GAL grubu TNF- $\alpha$ immunoreaktivitesi.....	79
Şekil 3-20: AGO grubu TNF- $\alpha$ immunoreaktivitesi.....	80

Şekil 3-21: Kontrol grubu Fibronektin immunoreaktivitesi.....	82
Şekil 3-22: Diyabet grubu Fibronektin immunoreaktivitesi.....	83
Şekil 3-23: GAL grubu Fibronektin immunoreaktivitesi.....	84
Şekil 3-24: AGO grubu Fibronektin immunoreaktivitesi.....	85
Şekil 3-25: Fibrozis skor grafiği.....	87
Şekil 3-26: Kontrol grubuna ait epididimis dokusunda TUNEL boyama.....	88
Şekil 3-27: Diyabet grubuna ait epididimis dokusunda TUNEL boyama.....	88
Şekil 3-28: GAL grubuna ait epididimis dokusunda TUNEL boyama.....	89
Şekil 3-29: AGO grubuna ait epididimis dokusunda TUNEL boyama.....	89
Şekil 3-30: Gruplara göre TUNEL pozitif hücre dağılım grafiği.....	91
Şekil 3-31: Tübül çapı ölçüm grafiği.....	93
Şekil 3-32: Bazal lamina kalınlık grafiği.....	95

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1-1:</b> Oksidatif strese neden olan reaktif türler.....	21
<b>Tablo 0-1:</b> Kontrol grubu sıçanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.....	48
<b>Tablo0-2:</b> DM grubu sıçanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri. ....	49
<b>Tablo0-3:</b> AGO grubu sıçanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.....	49
<b>Tablo 0-4:</b> GAL grubu sıçanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.....	50
<b>Tablo 3-5:</b> Epididimise ait kesitlerde iNOS immunohitokimyasal immunoreaktivitesi.....	71
<b>Tablo 3-6:</b> Epididimise ait kesitlerde VEGF immunohitokimyasal immunoreaktivitesi.....	76
<b>Tablo 3-7:</b> Epididimise ait kesitlerde TNF- $\alpha$ immunohistokimyasal immunoreaktivitesi.....	81
<b>Tablo 3-8:</b> Epididimise ait kesitlerde Fibronektin immunohistokimyasal immunoreaktivitesi bazlı stromal fibrozis skor tablosu.....	86
<b>Tablo 3-9:</b> Tunel Boyama Skor Tablosu ve p değerleri.....	90
<b>Tablo 3-10:</b> Tübül Çaplarının Karşılaştırılması ve p değerleri.....	92
<b>Tablo 3-11:</b> Bazal Lamina Kalınlık Karşılaştırılması ve p değerleri.....	94

## **KISALTMALAR**

ADA: Amerikan Diyabet Birliği  
ABD: Amerika Birleşik Devletleri  
AMH: Antimüllerriyan Hormon  
DAB: 3,3' - Diaminobenzidine  
DM: Diabetes Mellitus  
ECM: Ekstrasellüler Matriks  
EDFR: Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü  
eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz  
FN: Fibronektin  
GDM: Gestasyonel diabetes mellitus  
GnRH: Gonadotropin Salgılayıcı Hormonu  
GPx: Glutasyon Peroksidaz  
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz  
G6PD: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz  
GR: Glutasyon Redüktaz  
GST: Glutasyon S-Transferaz  
hCG: İnsan Koryonik Gonadotropin Hormon  
HNF: Hepatik Nükleer Faktör  
HIF-1: Hypoxia-Inducible Transcription Factor-1  
iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz  
IGT: Glukoz Tolerans Bozukluğu  
KAT: Katalaz  
LH: Luteinizan Hormon  
MAPK: Protein Kinaz A  
MDA: Malondialdehit  
MIM: Müllerriyan İnhibitör Madde  
NO: Nitrik Oksit  
NOS: Nitrik Oksit Sentaz  
nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz  
PAS: Periodic Acid Schiff  
PBS: Phosphate Buffered Saline

PIGF: Plasenta Büyüme Faktörü  
PON: Paraoksonaz  
SOD: Süperoksit Dismutaz  
SOR: Serbest Oksijen Radikalleri  
SRY: Sex Determining Region on Y  
STZ: Streptozotosin  
TBARS: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler  
TBF: Testis Belirleyici Faktör  
TNF: Tümör Nekrozis Faktör  
TURDEP: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Araştırması  
VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor  
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

## 1.BÖLÜM

### 1.1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücutta birçok reaksiyonda rol oynayan oksijen elementi, aerobik organizmalar için önemli bir molekül ve yaşam için vazgeçilmezdir. Vücut sürekli bir şekilde enerji üretim işlemlerinin bir parçası olarak oksijenle reaksiyona girer ve moleküllerin oksidasyonu ve indirgenmesi gerçekleşir. Reaksiyonun sonrasında üretilen serbest radikallerin, organizmada var olan veya diyetle alınan antioksidanlarla dengelenememesi durumunda oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stresin hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmesiyle insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Başta kanser olmak üzere, kalp-damar hastalıkları, şeker hastalığı, beyin bozuklukları (Alzheimer, Parkinson ) ve akciğer hastalıkları gibi hastalıklara yol açar (122, 124, 125, 128, 129).

Diabetes Mellitus (DM), karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki kronik bir bozukluktur. İnsülin yetersizliğine bağlı olarak gelişen, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. DM'un etkileri çeşitli organlarda uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu ve yetersizliği içerir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada 220 milyondan fazla insan diyabetlidir ve yine yapılan tahminlere göre diyabete bağlı ölümler 2005 ve 2030 yılları arasında ikiye katlanacaktır ve 2025 yılında tüm diyabetiklerin sayısı 300 milyon olacaktır (73, 74, 80, 82, 83, 84, 102).

Yapılan çalışmalarda hiperglisemiden dolayı serbest oksijen radikallerinin arttığı görülmüştür. Uzun süreli hiperglisemi sebebiyle hücre dışındaki proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretimi artmaktadır. Serbest radikallerin aşırı artışı da oksidatif stresi indüklemektedir. Diyabette oksidatif stres pek çok mekanizmaya bağlı olarak artabilmektedir, ancak bu mekanizmaların kesin katkısı tam olarak kanıtlanmış değildir. Çok sayıdaki deneysel bulgular artan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunun ve zayıflayan antioksidan savunmanın mekanizmaların temelini oluşturduğu ifade edilmektedir (140, 143, 145).

Deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir rolü olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Ayrıca uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceğini araştırmacılar vurgulanmaktadır (137, 141, 142, 146, 161, 162, 163).

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut antioksidanlar olarak bilinen birçok savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidanlar oksijen radikallerinin yıkıcı reaksiyonlarını engelleyerek veya bu radikalleri toplayarak zararlı etkilerini inhibe ederler (135).

Oksidatif stres kaynaklı hastalarda endojen kaynaklı antioksidanlar etkili olmadığı için, oksidatif hasarı azaltabilecek diyet sadece dışarıdan alınacak antioksidanlarla mümkündür. Yapılan çalışmalar sonucunda, spermin kalitesi dışarıdan alınan antioksidan tedavi ile artmaktadır. Bu tedaviyle lipid peroksidasyon potansiyelinin azaltılması, fertilizasyon oranlarının ise artması gözlenir (156, 157).

Çok güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu bilinen Melatonin hormonu analogu olan Agomelatin pineal bezde sentezlenip salgılanır ve organizmanın sirkadiyen ritmi düzenler. Kimyasal yapısında indol grubu yerine bir naftalen bioestere grubu ve NH grubu olan yerde HC=CH grubu içermesi ile melatoninden ayrılır (173, 176, 179) .

Diğer bir antioksidan madde olan Gallik asit ise doğal antioksidanların en önemli gruplarından biridir. Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit; C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>), doğal bir fenolik antioksidan olup hidroksibenzoik asitler sınıfındadır ve taninlerin asidik veya bazik hidrolizi ile elde edilebilir. Gallik asit özellikle yeşil çay olmak üzere bitkilerden ekstrakte edilir (65, 66, 70, 167, 168, 169).

Çalışmamızda intraperitoneal olarak verilen Streptozotosin (STZ) (50mg/kg) ile indüklenmiş diyabetli sıçanlarda oluşan oksidatif strese tedavi amaçlı olarak

Agomelatin (16 mg/kg) ve Gallik Asit (20 mg/kg) kullanılması ve 21 günlük deney süresi sonrasında epididimis yapısındaki olası histopatolojik değişimler, oksidatif stres açısından immunohistokimyasal ve ışık mikroskopik olarak araştırılacaktır.

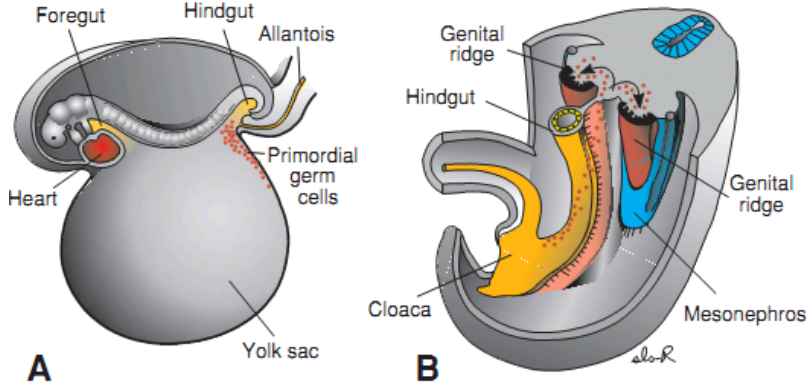
## 1.2. GENEL BİLGİLER

### 1.2.1. Testis ve Duktus Epididimis Embriyolojisi

Testisler, karın boşluğunun arka duvarında yer alan ara (intermediyer) mezodermden gelişirler (15, 21). Gonadlar (testisler ve overler) şu üç kaynaktan köken almaktadır: Karın arka duvarını döşeyen mezotel (epitel), Altında bulunan mezenşim (embriyonik bağ dokusu), Primordial germ hücreleri (ilkel cinsiyet hücreleri) (23, 24, 25).

Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkeğe veya dişiye ait morfolojik özelliklere sahip değildirler. Gonadal gelişimin ilk evreleri ise; embriyonel gelişimin 5. haftasında ortaya çıkmakta olup, mezonefrozun medial bölgesinde sölomik epitelyumun çoğalması ve alt kısımdaki mezenkimin yoğunlaşması ile meydana gelir ve sonuçta bir çift uzunlamasına gonadal sırt halinde ortaya çıkarlar. Gelişimin 6. haftasına kadar bu gonadal kapartılar içinde germ hücreleri bulunmaz (12, 24, 26, 27, 28).

Primaordiyal germ hücreleri gelişimin 4. haftasında vitellüs kesesinin allantois'e yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirir (23, 24). İçerikleri vücut hücrelerinden farklı ve gonadların testise farklılaşmasında indükleyici etkisi bulunup; 5. haftanın başında ilkel gonadlara, 6. haftada da gonadal kabartılara yerleşirler (25, 26). Primordiyal germ hücrelerinin göçü *stella*, *fragilis* genleri ve BMP-4 tarafından kontrol edilir. Primordiyal germ hücrelerinin göçü esnasında gonadal kabartının epiteli yeniden çoğalmaya başlar ve altlarında bulunan mezenşim içerisine gömülerek parmak şeklindeki, yüzey epiteline bağlı ilkel cinsiyet kordonlarını oluştururlar (14, 26, 29).



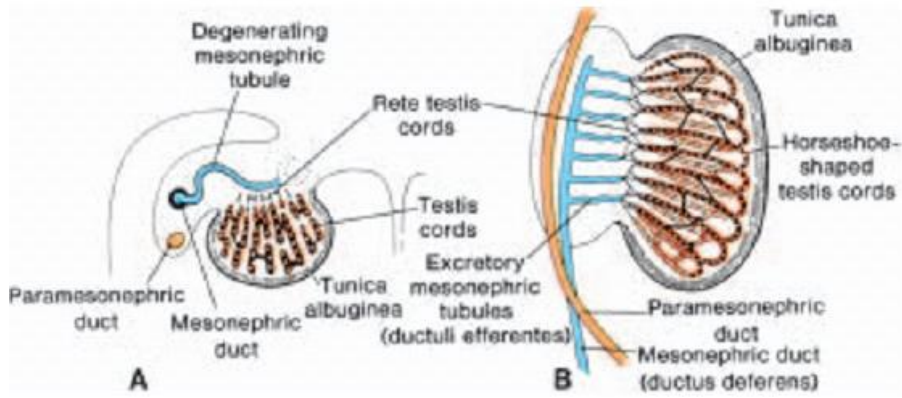
**Şekil 1-1:** A) 3 haftalık embriyoda, yolk kesesi duvarında ki primordiyal germ hücreleri, B) Primordiyal germ hücrelerinin, genital sırta doğru giden göç yolu (26).

Embriyo genetik olarak erkekse, primordiyal germ hücreleri XY kromozom kompleksine sahiptir. Y kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan ve testis belirleyici faktörü (TBF) kodlayan SRY geni, farklılaşmış gonadın testis olarak gelişiminde bir anahtar işlevi görmektedir (24,26).

Bu faktör etkisi ile primitif cinsiyet kordonları medullar kordonları oluşturmak üzere, çoğalmaya devam ederken medullanın derinliklerine doğru ilerler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru, daha sonra rete testis tübüllerini oluşturacak olan minik hücre sıraları halinde bir ağ oluşturacak şekilde dağılırlar. Gelişimin daha ileri evrelerinde tunika albuginea denilen yoğun fibröz bir bağ dokusu tabakası testis kordonlarını yüzey epitelinden ayırır. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefrozdan ayrılır ve kendi mezenterisi olan, mezorsiyum ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tübüli rekti ve rete testise farklılaşır. Fetal testislerin ürettiği testosteron, dihidrotestosteron ve antimüllerian hormon (AMH) normal erkek cinsiyet gelişimini biçimlendirmektedir. (8, 22, 23, 24, 26, 30).

Dördüncü ayda testis kordonları at nalı şeklini alır, iki uçları ile birleşerek ince bir kanal olan tübüli rekti oluşur ve bunlar rete testis'e açılırlar. Testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden gelişen Sertoli destek hücrelerinden meydana gelir (26).

Gestasyonun 8. haftasında gonadal sırtın orijinal mezenşiminden köken alan Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve androstenediyon) salgılamaya başlarlar. İşte bu hormonlar mezonefroz kanalların (Wolff) ve dış genitalerin erkek tipinde farklılaşmasını uyarır. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu uyarır. Bu hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein yapıda bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. AMH, Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından salgılanır. Bu hormonun salınması ergenliğe kadar devam eder, daha sonra ise seviyesi azalır. AMH, uterus ve tuba uterinalara farklılaşan, paramezonefroz kanallarının (Müller) gelişimini baskılar (8, 12, 22, 23, 24, 26, 28, 30).



**Şekil 1-2:** A) Gelişimin 8. haftasında testis yapısı, B) Testis ve genital kanalın 4 aydaki görünümü (26).

Seminifer tübüller, ergenliğe kadar katı halde kalırlar, ergenlikten itibaren lümen gelişir. Seminifer tübül duvarında germinal ve non germinal olmak üzere iki tip hücre bulunur: **Sertoli hücreleri:** Destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişir ve non germinal hücreler iken; **Spermatogonyum:** Sperm hücrelerinin öncüleri olup, primordiyal germ hücrelerinden farklılaşan germinal hücrelerdir (8, 23, 24, 26, 30).

Sertoli hücreleri, fetal testiste, seminifer tübüllerdeki hücrelerin çoğunluğunu oluştururken daha sonraki gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve

yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent kanalcıkları (duktuli efferentes) oluşturan, 15-20 adet mezonefroz tübüller ile devam eder. Bu kanalcıklar, duktus epididimisi oluşturan mezonefroz kanalı ile bağlanırlar (29, 31, 32, 33, 34).

### **1.2.1.1. Testis ve Duktus Epididimisteki Embriyolojik Kalıntılar**

Testislerin gelişimi sırasında, mezonefroz gerilerken birkaç boşaltım tübülü rete testis kordonlarıyla ilişki kurarak duktuli efferentesleri oluşturur. Testislerin kaudalindeki kanallar (paragenital tübüller) ise rete testis kordonlarıyla birleşmez. Bazen kanalın bir ucunda, bazen de her iki ucunda gerçekleşen bu durumda testis ya da duktus epididimise bağlı ya kör kanallar ya da kist biçiminde küçük kesecikler oluşur. Bu kalıntılara aberan kanallar adı verilir. Bu tür kalıntıya örnek duktus epididimisin baş bölgesinin hemen altında izlenen Apendiks testis (Morgagni kisti)'tir. Müler kanalının üst ucunun artığı olan bu yapı küçük, sapsız bir kist biçimindedir (1,4).

Epididimisin kuyruk kısmında duktus epididimisten ayrılan ve birçok kıvrım yaparak epididimisin başına değin uzanan kör bir kanal bulunur. Duktulus aberrans inferior denilen bu yapı duktus epididimiste görülen en büyük embriyolojik kalıntıdır. Ayrıca duktus epididimisin baş bölümünde rete testisten çıkan daha kısa kör bir kanal olan duktulus aberrans superior da görülebilir (5).

### **1.2.2. Duktus Epididimis Anatomisi**

Duktus epididimis, testisin posterolateral yüzeyine yarımay şeklinde yapışmış 5-6 metre uzunluğunda ve 400 µm çapında kanal yumağıdır. Kıvrımlarını birbirine gevşek bağ dokusu bağlar (2, 3, 6, 7, 15, 21).

Testiste tubuli rektiler birbirleri ile birleşme sonucu rete testisi meydana getirirler. Medistinumun üst kısmındaki rete testislerden de efferent duktuslar oluşur. Efferent duktuslar tunika albuginea'yı delerek kıvrımlı ve geniş bir yapı halindedirler. Her biri epididimal lobülleri oluşturur. Lobüller de bir araya gelerek epididimin baş kısmını oluşturur. Epididim başından sonraki kısımlar sırasıyla gövde

ve kuyruktan ibarettir. Kuyruk kısmından tek bir kanal halinde vaz deferens çıkar. Kalın duvarlı, kas yapılı ve ejakulatu iletme yeteneğine sahip vaz deferens epididimisin kuyruk kısmından çıktıktan sonra iç inguinal halkadan karına girer, ureterleri önden çaprazladıktan sonra mesane ve median umbilikal ligamentin arkasına geçer. Prostat bezine dökülmeden önce genişleyerek vaza ampullayı yapar, sonra ince bir yapı şeklinde prostata dökülür (3, 17, 18, 19).

Duktus epididimis, testisin arka kenarının ortasına bir periton plikası ile bağlıdır. Bu nedenle gövde ve testisler arasında sinus epididimis adı verilen bir çıkma oluşur. Bu yapıyı yukarıdan ligamentum epididymis superiorus, aşağıdan ligamentum epididymis inferiorus sınırlar (2, 3, 6, 7, 15, 21).

### 1.2.3. Duktus Epididimis Histolojisi

Duktus epididimis, testislerin arka yüzü boyunca uzanan, spermiyumların ileri doğru hareket etme özelliklerini kazandıkları oldukça kıvrımlı bir kanaldır. Kanalı, kan damarları ve düz kas hücrelerinden zengin sıkı bağ dokusu sarar. Epididimis anatomik olarak baş (caput), gövde (corpus) ve kuyruk (cauda) olarak üç esas bölümden oluşmuştur. Kuyruk duktus deferens ile devam eder.

Duvar, epitel ve kas katmanlarından oluşmuştur. Epitel apikal yüzünde dallanmış, uzun stereosilyalar içeren yalancı çok katlı prizmatiktir ve epitelinde  $\beta$ -defensin118 (DEFB118), cystatin ile ilişkili epididimise özgü (CRES) protein, disintegrin, metalloproteinaz gibi androjenlere bağımlı pek çok protein bulunmaktadır. Epitel stereosilyalı esas hücreler, bazal hücreler, apikal hücreler ve berrak hücreler olarak dört tip hücre içerir (9, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 53, 55, 62).

**Esas Hücreler:** Bazal laminadan lümene uzanan prizmatik şekilli hücrelerdir. Bu hücreler ayrıca Sertoli hücrelerince ortadan kaldırılamamış olan artık cisimleri ve bozulan spermiyumları fagosite eder. Apikal bölümlerinde dallanan stereosilyalar bulundurulur ve bunlar proksimalde daha uzun olup (120 mikron), ileri gittikçe kısalır (50 mikron). Bu hücrelerin hem absorpsiyon hem de sekresyon fonksiyonları vardır. Çekirdekleri uzunca ve çentiklidir. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi

kompleksi, lizozom ve veziküller bulunur. Hücreleri glikoproteinden zengin salgı oluştururlar.

**Bazal hücreler:** Esas hücrelerin farklanmamış öncülleri olarak kabul edilirler ve sayıca daha azdırlar. Bazal laminaya oturan piramidal şekilli hücrelerdir ve lümeneye doğru uzanırlar. Lokal immün defans mekanizmasından sorumludurlar.

**Apikal hücreler:** Duktus epididimisin baş bölgesinde gözlenirler ve sitoplazmaları mitokondriyonlardan zengindir.

**Berrak hücreler:** Duktus epididimisin kuyruk bölgesinde görülürler. Spermiumlardan sitoplazmik artıkların uzaklaşmasında rol oynarlar (9, 22, 35, 38, 53, 54, 55, 62).

Duktus epididimiste ayrıca intraepitelyal lenfositler (halo hücreleri) izlenir. Bunlar epididimis immünolojik engelinin önemli bileşenleridir. Buradaki lenfositler supresör ve sitoksik T-lenfosit sınıfındadırlar (38, 41, 42, 43).

Epididimde bazal hücreler ve intraepitelyal lenfositlere ek olarak bir diğer immün defans sistemi ise "hücreler arası sıkı bağlantılar"dır. Duktus efferentes ve kaput epididimdeki epitel hücreleri arasında bulunan bu sıkı bağlantı kompleksleri, aynı testislerdeki kan-testis bariyerinde olduğu gibi, kan-epididim bariyerini oluşturur. Bu bariyer epididimin kuyruk kısmına kadar uzanmaktadır (4, 53, 55).

Epitel ve bazal laminayı baştan kuyruğa doğru kalınlığı artan iç dairesel düz kas katmanı ve gövdeden başlayan iç ve dış uzunlamasına kas katmanı sarar. Kas katmanları kanal boyunca spermiumların taşınmasını kolaylaştırmak için peristaltik hareket yaparlar (9, 22, 35, 43, 53, 54).

Duktus epididimis lenfleri tunica vaginalisin yüzeyinde ve duktus epididimis ve testisin içinde olarak iki yerde bulunur. Funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna girer. V. Testicularisi izleyerek aortanın ön ve yan tarafındaki lenf düğümlerine açılırlar. Duktus epididimis sinirleri Torakal 10-11'den köken alan

sempatik sinirler damarların çevresindeki plexuslar aracılığı ile duktus epididimise gelirler (44, 56).

#### **1.2.4. Duktus Epididimis Damarlanması**

Testisler ve duktus epididimis, arteria testikularisten beslenir ki bu aortanın dalıdır. Bu arter aortadan çıkar ve iç inguinal ulaşabilmek amacıyla retroperitoneal bölgede bulunur. Venöz dönüşü sağlayan damarlar venae testicularislerdir ve sağda venae cava inferiora; solda venae renalis dökülürler. Damarın başlangıcı funiculus spermaticus içindeki plexus pampiniformistir. Bu venöz ağ ters yönde çalışan ısı düzenleyici bir sistemdir ve testis ısısının vücut ısısından daha düşük olmasında rol oynar (3, 10, 11, 16, 20, 52).

#### **1.2.5. Duktus Epididimis Fizyolojisi**

Testislerde üretilen spermiumlar duktuli efferenteslerden epididimise taşınır. Epididim içerisinde spermin geçişi yaklaşık 1 gün ile 11-12 gün arasında değişir. Bu süreç günlük sperm üretimi ile ilgilidir. Sperm üretimi arttıkça geçiş süresi de kısalmıştır. Duktus epididimis spermiumların olgunlaşması, depolanması, beslenmesi ve taşınması işlevlerini görür. Ayrıca spermatogenezis sırasında oluşan artık cisimciklerin ortadan kaldırılmasından da görevlidir(45, 55).

Spermiumlar epididimis kanalında olgunlaşarak ileri doğru hareket ve dölleme yeteneği kazanırlar, epididimis bu süreç için gerekli sıvı ortamı sağlar. Testiküler sıvının yaklaşık %90'ı duktuli efferentes ve epididimiste sentezlenir. Stereosilyalı esas hücreler rete testis sıvısının emiliminde ve gliserolfosforil kolin, proteinler, siyalik asit gibi diğer organik bileşenlerin salınımında görevlidir. Gliserolfosforilkolin, proteinler, siyalik asit gibi organik bileşenlerin epididimis epitelinden salgılanması ya da kan akımından emilmesi nedeniyle epididimal plazma hiperozmotiktir (46, 57, 58, 59, 60, 62)

Epididimisin salgı oluşturması için yüksek düzeylerde testosterona gereksinim vardır. Çevresel dolaşımdan ya da rete testis sıvısından köken alan androjenler almaçları aracılığıyla epididimal hücrelere girerek etkilerini çekirdekte gösterirler. Bu etkileri

siproteron asetat gibi antiandrojenlerce engellenir. Androjenler aynı zamanda glikoprotein gibi mikroçevreye özgü moleküllerin sentezinde ve salgılanmasında düzenleyici olarak rol oynamaktadır (45, 61, 62).

Epididimis androjenlerin hareketine aracılık eden almaçları taşımaya ek olarak testosteron gibi steroidlerin metabolize edilmesiyle de yükümlüdür. Testosteronun en önemli metaboliti dihidrotestosterondur. Antiandrojenler epididimisin androjenleri metabolize etme yeteneğini de engellerler (47).

Androjenler plazma zarını geçerek sitoplazmada HSP70, 90, 56 ve p23 ile birleşmiş halde bulunan almaçları tarafından yakalanır. Almaçlar ligandlarıyla birleşince değişime uğrayarak çekirdeğe girmeye uygun hale gelirler. Almaç-ligand kompleksi hedef DNA dizilerine bağlanarak ilgili genlerin ifadenmesini düzenlerler. Çekirdeğe girdikten bir süre sonra içerisinde bazı genlerin transkripsiyonunu uyararak önemli düzeyde protein ifade edilmesini sağlarlar (47, 48).

Androjenler genomik olmayan etkilere de sahiptir. Bu etkiler mitojen aktive edici protein kinaz A (MAPK) ve protein kinaz A'nın hızlıca uyarılması ya da hücre içi kalsiyum düzeyinin düzenlenmesidir (47, 48).

Embriyogenezde, testiküler gelişim ve Wolf kanalının epididimis, duktus deferens, seminal vezikül ve ejakulatuvar kanala farklılaşmasını sağlayarak erkek fenotipinin oluşumundan androjenler sorumludur. Leydig hücrelerince üretilen testosteron ve dolaşımda bulunan testosteron Wolf kanalına dolaşım ile ya da testiküler sıvı aracılığıyla ulaşır ve Wolf kanalının kalıcılığını sağlar (49, 50)

Beyinden salgılanan nöropeptitler ve nörotransmitterler hipotalamusta gonadotropin salgılayıcı hormonu (GnRH) uyarır. GnRH hipofizden glikoprotein yapısında FSH ve LH salgılanmasını sağlar. LH spermatogenezisi dolaylı olarak uyarırken, iç kaynaklı testosteron üretimini de uyarır. FSH'nin hedefi ise özgül almaçları olan Sertoli hücreleridir. Bu nedenle testosteron ve FSH, seminifer kanal epiteline etki eder. Androjen bağlayıcı protein bir Sertoli hücresi ürünüdür.

Testosteron LH'nin birincil baskılayıcısıdır ve potent etkili dihidrotestosterona ya da östradiole dönüşebilir ve hipotalamus yolu ile baskılayıcı etki yapar. FSH'nin baskılanması Sertoli hücrelerinden salgılanan bir nonsteroid olan inhibinle sağlanmaktadır (51, 62).

### **1.2.6. Duktus Epididimis Fonksiyonlarını Etkileyen Faktörler**

Epididimis lümeni içindeki sıvı hem biyokimyasal kompozisyon bakımından kan serumundan ayrılır hem de osmolarite, elektrolitler ve protein bakımından epididim içinde de bölgesel farklılıklar gösterir. İçeriğindeki bu farklılıkların nedeni epididim kanalının damarlanmasının bölgesel farklılık göstermesi, kan-epididim bariyerinin yarı-geçirgen olması ile sıvı içeriğinin absorpsiyon ve sekresyonunun kanal boyunca bölgesel farklılıklar göstermesidir. Örneğin epididimin kaput ve proksimal korpus bölgelerinde epididime spesifik HE-2 geni saptanmıştır. Bu gen atnı zamanda 10 kD bir glikoprotein yapımını sağlar. Bu protein de epididim epitelinden başka, sperm başının subakrozomal ekvatorial bölgesinde de gösterilmiştir (55).

Epididim sekresyonunda ayrıca epididime spesifik olarak gliserilfosforil kolin, karnitin ve sialik asit bulunur. Ayrıca sperm fonksiyonlarına yönelik çok sayıda da protein sekresyonu yapar. Bu proteinler ileri motilite proteini, sperm survival faktör, progressiv motiliteyi devam ettiren faktör, sperm motilitesini inhibe edici faktör, asidik epididimal glikoprotein, EP2 ve EP3 proteinleri. Ayrıca, proteinaz inhibitörler, glutasyon peroksidaz ve gama glutamil transpeptidazlar da epididimlerden geçerken sperminin uğrayabileceği proteolizis ve oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterirler (55).

### **1.2.4. DİABETES MELLİTUS GENEL BİLGİLER**

Diabetes Mellitus (DM), karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki kronik bir bozukluktur. İnsülin yetersizliğine bağlı olarak gelişen, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. DM'un etkileri çeşitli organlarda uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu ve yetersizliği içerir. Klinik olarak belirtileri susama, poliüri, görme bulanıklığı ve kilo kaybı ile ortaya çıkabilir (73, 74, 83, 84).

İnsülin aktif bir madde olup karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olup, Banting ve arkadaşları tarafından 2003'de keşfedilmiştir. Pankreasta, Langerhans adacıklarında bulunan  $\beta$  hücrelerine glukozun girmesiyle başlar. Glukoz  $\beta$  hücrelerine girer ardından glukoz -6- fosfata dönüştürülür. Bunu oluşturan ATP, ATP kapılı potasyum kanallarını uyarıp potasyumun hücre dışına çıkmasını sağlar. ATP-kapılı potasyum kanallarının kapanmasıyla gerçekleşen depolarizasyon olayı, voltaj kapılı kalsiyum (Ca) kanallarının açılmasına ardından hücre içine Ca'un girmesine sebep olur. Bu olay, insülin veziküllerini membrana doğru hareket ettirir böylece insülin hücre dışına salınmış olur. Pankreatik bir hormon olan bu insülin hormonunun yetersiz ya da hiç salınmaması da diyabete neden olur (102, 104, 105, 107 108, 110).

DM'nin gelişiminde doğrudan ya da dolaylı olarak pankreas dışındaki faktörlerin etkisi de bulunmaktadır. Nörolojik bozukluklar, sağlıksız beslenme, yağlılık, kalıtsal etmenler, karaciğer, enfeksiyon, böbrek üstü bezleri, tiroit ve hipofizdeki patolojik değişimler bu hastalığın nedenleri arasında yer alır. Ayrıca, kortikosteroidlerin doğal olarak yüksek düzeyde bulunması ya da dışarıdan uzun süre kortikosteroid verilmesi şeker hastalığını başlatabilir. Akut şeker hastalığına çok seyrek rastlanılıp, tedavi uygulanmadığında birkaç hafta içerisinde ölüm görülebilir (76).

DM hastalığının keşfinde Strasbourg Tıp Fakültesi asistanı Oscar Minkowski'nin 1889 yılında yaptığı deney buluş niteliğindedir. Deney, Lipaz enzimleri içeren pankreas dokusunun köpeklerde yağ sindirimi için önemli olup olmadığını araştırmayı amaçlamıştır. Köpeklerin pankreasını çıkarıp bunun sonucunda köpeğin normalden fazla idrara çıktığını ve çıkardığı idrarın şekerli olduğunu fark etmiştir. Böylece pankreasının kan şeker seviyesini düzenleyen bazı maddeler içerdiğini, bulunmamasının da şekerli diyabete neden olduğu düşünülmüştür ( 107, 109, 111).

#### **1.2.4.1. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi**

DM tanınması, erken dönemde tanı konması ve tedavi programlarının belirlenmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi önemlidir. National Diabetes Data Group (1979) önerileri doğrultusunda, 1985 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından standardize edilen DM tanı kriterleri, 1997 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından, 1998 ve 1999 yıllarında ise WHO tarafından yeniden düzenlenmiş ve öncesinde 140 mg/dl olan açlık kan şekeri düzeyi 126 mg/dl'ye çekilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada 220 milyondan fazla insan diyabetlidir ve yine yapılan tahminlere göre diyabete bağlı ölümler 2005 ve 2030 yılları arasında ikiye katlanacaktır ve 2025 yılında tüm diyabetiklerin sayısı 300 milyon olacaktır (80, 82, 102).

DM tüm dünyada görülen bir hastalıktır ancak, gelişmiş ülkelerde daha sık (özellikle tip 2 diyabet) görülür. 2030 yılında en fazla diyabet görüleceği tahmin edilen ülke yaklaşık 80 milyon kişi ile Hindistan'dır ve bu ülkeyi 40 milyon kişi ile Çin ve 30 milyon kişi ile de Amerika Birleşik Devletleri (ABD) izlemektedir. Diyabet ve komplikasyonları Amerika'daki morbidite ve mortalitenin önemli nedenidir. Diyabetin görülme sıklığı yaş ilerledikçe artmaktadır ve yaşlı nüfusun sayısının artmasına paralel olarak diyabetik hasta sayısının artacağı tahmin edilmektedir (78, 81).

Ülkemizde yapılan en geniş çalışma Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Araştırması (TURDEP) olup; 20 yaş ve üzerinde, % 45'i erkek ve % 55'i kadın; toplam 24.788 hastadan oluşan, toplum kökenli kesitsel bir alan çalışmasıdır. Bu çalışmada DM prevalansı % 7,2 ve glukoz tolerans bozukluğu (IGT) prevalansı % 6,7 olarak saptanmıştır. Kadınlarda DM, IGT ve obezite daha yüksek bulunmuştur (79).

#### **1.2.4.2. Diabetes Mellitus'un Tanı ve Sınıflaması**

DM hastaları etyolojik özelliklerinden ziyade tedavi ihtiyaçlarına göre sınıflandırılmakta olup, şu dört ana başlıkta toplanmıştır; Tip 1 diabetes mellitus, Tip 2 diabetes mellitus, Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) ve diğer spesifik diabetes mellitus tipleri. Spesifik DM hastaların beta hücrelerinde, hepatik nükleer faktör (HNF) 4 alfa, glukokinaz, HNF1, HNF3 ve insülin promotör faktör 1 (IPF-1)

gibi genlerde çeşitli spesifik genetik bozukluklar saptanmıştır. Bu tipte insülin etkisinde değil, insülin sekresyonunda bozukluk mevcuttur. Gestasyonel Diabetes mellitus (GDM), gebelik sırasında tespit edilen değişik düzeylerdeki hipergliseminin görüldüğü karbonhidrat intoleransıdır. GDM, anne ve fetus için kötü sonuçlar doğurabileceğinden teşhisi hamileliğin 24 ile 28. haftaları arasında uygulanmaktadır. Bu dört ana başlıktan görülme sıklığı en fazla olan Tip 1 DM ve Tip 2 DM'dir (83, 88, 75).

Tip 1 diyabet, kanda insülin bulunmamasından ve hücrelerin glukozu alıp kullanamayıp ve kanda glukoz birikmesidir. Her 100 hastadan 10'unda bu tip diyabet görülür. Genellikle genç yaşlarda ortaya çıkar ve kan şekerinin düzenlenmesi için mutlaka dışarıdan insülin alınmasını gerektirir. Tip 1 diyabet, deneysel olarak alloksan veya streptozotosin gibi kimyasal ajanların hayvanlara uygulanması ile oluşturulabilmektedir.  $\beta$  hücrelerindeki otoimmün hasar diyabetin insüline bağlı bu tipinin oluşmasının başlıca sebebidir. Tip I DM oluşmasında önemli çevresel etkenlerden biri viral enfeksiyonlardır. Yanmış etlerde bulunan nitrozaminler de pankreas beta ( $\beta$ ) hücreleri için toksik etkiye sahip alloksan, streptozotosin ve Vacor kimyasalları gibi diyabetojenik etki gösterebilmektedir.  $\beta$  hücre yıkım hızı çocuk ve gençlerde hızlı olurken, erişkinlerde bu süreç yavaştır. Bazılarında hafif düzeyde açlık hiperglisemisi varken, bu durum hızla ciddi düzeyde hiperglisemi veya ketoasidoza yol açabilir fakat özellikle erişkinlerde rezidüel  $\beta$  hücre fonksiyonlarının olması nedeniyle hastalığın belirgin hale gelmesi yıllar içinde olabilmektedir (83, 88, 112).

Tip 2 DM'de ise glukoz Langerhans adacıklarındaki  $\beta$  hücrelerini insülin salgılamaları yönünde uyarmaktadır; ancak insülin yetmezliği ve buna eklenen periferik dokularda insüline yanıt yetersizliği vardır. Bu yüzden glukoz yine hücre içine alınamaz ve kanda birikir. Genellikle 45 yaş üzerinde görülen diyabetin bu tipi genetik orijinli olup, kalıtsal özellik gösterir. Ayrıca bu hastaların % 60-90'ının obez olduğu bilinmektedir. Bu tip diyabet sıklığı, ırk ve etnik alt gruplar arasında değişkenlik göstermektedir (77, 83, 88, 103, 106).

#### **1.2.4.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

DM Komplikasyonları 2 gruba ayrılmıştır: Akut Komplikasyonlar ve Kronik Komplikasyonlar

#### **1.2.4.3.1. Akut Komplikasyonlar**

##### ***Diyabetik Ketoasidoz***

Hiperglisemi koması adı da verilir ve tip 1 diyabette görülür. Ciddi insülin yetersizliği sonucu kan glikozunun artışıyla osmotik diürez gelişir. Lipolizin hızlanması sonucu kanda ketoasitler artar ve asidoz oluşur. Kliniğinde hızlı ve derin solunum, nefeste aseton kokusu, belirgin dehidratasyon, ortostatik hipotansiyon, bilinç bulanıklığı görülür. Laboratuvar bulguları arasında hiperglisemi, hiperketonemi, düşük serum bikarbonat düzeyi, idrarda glukoz ve keton cisimleri artışı mevcuttur (87, 90, 98, 100).

##### ***Hipoglisemik Koma***

Kan glikoz düzeyi 50 mg/dl'nin altına düştüğünde görülür. Beyin dokusunun glikozdan yoksun kalması, oksijen kullanımını azaltır ve anoksiye sebep olur. İnsülinle tedavi edilen diyabetik hastalarda hipoglisemi, aşırı insülin dozu, yemek gecikmesi ve aşırı fiziki aktivite ile oluşabilir. Adrenerjik uyarı, terleme, tremor, taşikardi ve kas güçsüzlüğüne sebep olur. Hipogliseminin santral sinir sistemi semptomları baş ağrısı, konuşmada güçlük, fokal nörolojik belirtiler, zihin bulanıklığı ve komaya kadar ilerleyebilen bilinç değişikliklerini kapsar (87, 91, 95, 100, 101).

##### ***Laktik Asidoz***

Laktik asidoz kanda laktat konsantrasyonunun arttığı durumlarda gözlenir. Genellikle altta yatan ciddi bir hastalığı bulunanlarda görülen ve dokulara oksijen dağılımı ve kullanımının yetersizliğinden kaynaklanan ağır bir metabolik asidoz biçimidir (87).

##### ***Hiperglisemik Nonketotik Koma***

Genellikle yaşı ve insüline bağımlı olmayan diyabetik hastalarda görülür. Lipolize engel olacak miktarda bulunan insülin etkisiyle ketozisin şekillenmediği ancak hiperglisemi, hiperosmalite ve dehidratasyonla sonuçlanan bir tablodur (100).

### **1.2.2.3.2. Kronik Komplikasyonlar**

Kronik komplikasyonlar, diyabete bağlı olarak değişik organ ve sistemlerde görülen biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerdir. Bu komplikasyonların oluşumundaki temel faktör kronik hiperglisemidir. Diyabetik ayak, kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, kapillerbazal membran kalınlaşması, trombosit fonksiyonlarında bozulma, retinopati, böbrek hastalıkları, nöropatiler sık karşılaşılan kronik komplikasyonlardır. Bu komplikasyonlar, diyabette mortalite ve morbidite oranlarını arttırdığından önemlidir. (97, 99, 100).

#### ***Diyabetik Nefropati***

Diyabetik nefropati özellikle batı ülkelerinde, böbrek yetmezliğinin esas nedenidir. Diyabetik nefropatinin insidansı Tip I ve Tip II DM'de birbirine yakındır. Tip I DM'li hastaların %30-40'ında diyabetik nefropati görülür. Diyabetik nefropatiye sahip hastaların %50-60'ında da Tip II DM vardır (86, 92).

Diyabete özgü renal lezyon, interkapiller glomerülosklerozdur. Diyabetle birlikte olan diğer böbrek hastalıkları papiller nekroz, kronik interstisyel nefrit ve arterosklerozdur. Hiperglisemi, intraglomerüler basınç artışına sebep olabilir. Bu da bazal membranda hasara ve mezangiumda protein depolanmasına yol açar. İlk belirti genelde proteinüridir ve sıklıkla nefrotik sendroma, son dönem olarak da böbrek hastalığına doğru ilerler (90).

#### ***Diyabetik Nöropati***

Nöropati, diyabetin en sık rastlanan komplikasyonlarından biridir. Diğer periferik nöropati nedenleri dışında; DM seyrinde klinik veya subklinik düzeyde ortaya çıkar. Diyabetik nöropati diyabet yaşı ile birlikte görülme sıklığı artan bir

komplikeyondur. Cinsiyet, bölge, ırk farklılığı göstermekle beraber, bazılarında kötü kontrole karşın daha geç görülmesi ya da görülmemesi genetik katkının önemli olduğunu göstermektedir (89). Diyabetik nöropatide, Schwann hücrelerinde fonksiyon değışiklikleri ile birlikte sinir ileti hızının yavaşlaması sonunda segmental demiyelinizasyon ve akson dejenerasyonu oluşur. Periferik nöropati en sık görülen sendromdur. Otonom nöropati daha az görülür. (90, 93).

### ***Diyabetik Retinopati***

Diyabetik retinopati, hiperglisemi ya da insülin yetersizliği sonucu ortaya çıkan, retinanın perikapiller arteriollerini, kapillerlerini ve venüllerini tutan bir mikroanjyopati tablosudur. Gelişmiş ülkelerde 20–74 yaş arası yaş grubunda görülen en önemli körlük nedeni diyabetik retinopatidir. Hastalığın süresi diyabetik retinopatinin gelişmesinde en önemli rolü teşkil eder. Lipid düzeyleri yüksek hastalar, retinopati açısından yüksek risklidir (87, 93, 94).

### **1.2.4.3. Deneysel Diyabet**

Çeşitli hastalıklara tanı konması, patogenezlerinin aydınlatılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. Hayvan modelleri kullanımının avantajları şöyle sıralanabilir: araştırmacı, deneysel değışkenleri kolayca kontrol altında tutabilmesi, araştırılan patolojiye genetik olarak uygun türler, hatta alt türler seçilebilmesi, anlamlı istatistiksel değlendirmeye yetecek sayıda örnekle çalışılabilmesi, uygun hayvan modeli ile çalışma çok daha kısa sürede tamamlanabilmesi, hayvan modellerinde birden fazla risk faktörü veya patolojiyi çalışılabilmesi, henüz denenmemiş terapötik yaklaşımların denenmesine olanak vermesidir (113).

Deneysel diyabet oluşturulmak için cerrahi, kimyasal, viral, genetik vb. modeller kullanılmaktadır. Tip-1 ve Tip-2 diyabet oluşturma modelleri şöyle sıralanabilir: Tip-1 Diyabet Modelleri; 1. Kimyasal olarak oluşturulan tip-1 diyabet modelleri: Alloksan, streptozotosin, çinko şelatörleri, Rodentisid-Vacor, diet nitrozaminleri vb., 2. Spontan tip-1 diyabet modelleri: BB (Bio-Breeding) sıçan, NOD (non-obese diabetic) fare ve diğerleri (Macaca nigra maymunu, Keeshand

köpeği, Çin hamsteri, kobay, Yeni Zelanda beyaz tavşanı, KDP (Komedo Diabetes Prone) sıçan), 3. Virüsle oluşturulan modeller 4. Transgenik tip-1 diyabet modelleri olmak üzere 4 dört farklı şekilde oluşturulabilir. Tip-2 Diyabet Modellerin oluşturulması ise, 1. Spontan modeller: Ağır düzeyde hiperglisemili modeller (db/db fare, Rhesus maymunu, çöl kemirgenleri) ve ılımlı hiperglisemili modeller 2. Eksperimental modeller: Kimyasal modeller (Streptozotosin, alloksan), cerrahi modeller (pankreatektomi, hipotalamik lezyon), diyet (yüksek yağlı ve şekerli diyetle beslenme), hormonlar, anne karnında malnutrisyon, insülin karşıtı hormonların yüksek dozları, hiperinsülinemiye uzun süreli maruziyet ve benzerleri 3. Transgenik modeller olarak söylenebilir (114, 119).

Bu yöntemlerden en çok kullanılanları kimyasal ajanlar kullanılarak oluşturulan diyabet modelleridir. Laboratuvar hayvanları üzerinde deneysel diyabet oluşturabilmek için yaygın olarak STZ ya da alloksan kullanılır. STZ daha spesifik  $\beta$ -hücre sitotoksitesine sahip olduğundan laboratuvar çalışmalarında daha çok tercih edilmektedir (120).

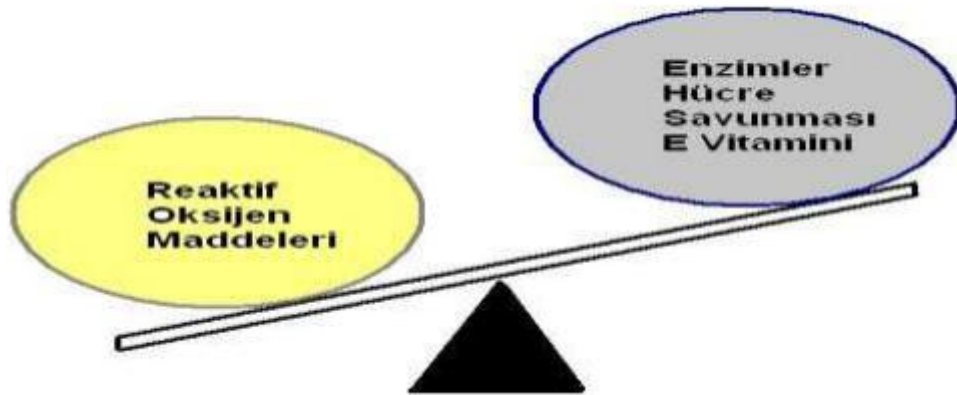
Streptozotosin (2-deoksi-2-[3-metil-e-nitrosourido]-D-glucopyranose) *Streptomyces achromogenes* bakterisinden ekstre edilen bir glikoz analogudur ve pankreas  $\beta$  hücreleri üzerine spesifik diyabetojenik hasar oluşturur. Diyabetojenik özelliğinin yanında mutajenik ve karsinojenik özelliğindedir ve broadspektrumlu antibiyotik özelliği göstermektedir. STZ ayrıca glukoz transporteri GLUT-2 tarafından pankreas  $\beta$  hücresine taşınan,  $\beta$  hücre toksisitesine ve insülin eksikliğine sebep olan bir N acetylglucosamine (GlcNAc) analogudur. STZ seçici olarak O-GlcNAc 1 proteinden ayıran  $\beta$  hücre O-GlcNAc aktivitesini inhibe eder. Bu, hücre içi proteinlerin geri dönüşsüz Oglukolizasyonuna sebep olur ve  $\beta$  hücre apoptozuyla sonlanır (115, 117, 118).

STZ hem tip 1 hem de tip 2 diyabeti indükler. Tek doz enjeksiyonda 40 mg/kg'ın altındaki dozların etkisiz kalabildiği bildirilmiştir. Bunun yanında düşük doz multiple enjeksiyonların uygulandığı diyabet modelleri oluşturulmaktadır. Tip 2 diyabet sıçanlara doğdukları gün 100 mg/kg intra vasküler ya da intra peritoneal STZ enjeksiyonu ile kolaylıkla oluşturulabilmektedir (116).

Kimyasal diyabet sonucu biyokimyasal değişiklikler görülür. Diyabetojenik ajan uygulanması sonrası kan glukozunda üç aşamalı bir yanıt sistemi görölmekte ve bu aşamalar şöyle özetlenebilir: 1. Geçici hiperglisemi fazı, ilk 2 saatte oluşur; karaciğerde glikojenin ani yıkılımına bağlı olarak kan şekeri yükselir. Bu durum uygulamadan önce hayvan 12-18 saat aç bırakılırsa azaltılabilir. Bu dönemde plazma insülin düzeyleri düşüktür. 2. Şiddetli hipoglisemi fazı, uygulamadan yaklaşık 6 saat sonra başlar. Hipoglisemi,  $\beta$  hücrelerinin ölümlüyle birlikte aşırı miktarda insülinin kana salınımına bağlıdır ve plazma insülin düzeyleri çok yüksektir. Şiddetli hipoglisemiye bağlı ölümlere engel olabilmek için diyabetojenik ajanın tok karnına uygulanması da önerilmektedir 3. Kalıcı hiperglisemi fazı, diyabetojenik ajan uygulanımından 10-12 saat sonra başlar. Bu fazda plazma insülin düzeyleri düşer ve aylarca düşük düzeylerde seyreder (114).

### 1.2.5. OKSİDATİF STRES

Vücutta birçok reaksiyonda rol oynayan oksijen elementi, aerobik organizmalar için önemli bir molekül ve yaşam için vazgeçilmezdir. Vücut sürekli bir şekilde enerji üretim işlemlerinin bir parçası olarak oksijenle reaksiyona girer ve moleküllerin oksidasyonu ve indirgenmesi gerçekleşir. Reaksiyonun sonrasında üretilen serbest radikallerin, organizmada var olan veya diyetle alınan antioksidanlarla dengelenememesi durumunda oksidatif stres meydana gelir (122, 124, 125, 128, 129).



Şekil 1-3: Oksidatif Stres (150)

Oksidatif stresin hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmesiyle insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Başta kanser olmak üzere, kalp-damar hastalıkları, şeker hastalığı, beyin bozuklukları (Alzheimer, Parkinson ) ve akciğer hastalıkları gibi hastalıklara yol açar (124, 129).

#### **1.2.5.1. Serbest Radikaller**

Fizyolojik ve patolojik reaksiyonlar esnasında başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girip onların yapısını bozan moleküllere serbest radikaller denir. Hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşmaktadır. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Eşleşmemiş elektron bulunması kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. Hücrenin tüm bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler (124, 127).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikaller olup bunlara serbest oksijen radikalleri (SOR) denir. Bunların en önemlileri süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) radikalleridir. Serbest radikaller hücrelerin protein, DNA, karbonhidrat, lipidler ve diğer molekül grupları ile reaksiyona girerek onların metabolizmalarını etkilerler (133, 134).

SOR'un oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut antioksidanlar olarak bilinen birçok savunma sistemi geliştirmiştir. SOR'un oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması beklenir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirlerse, hücrede serbest radikaller artar (133, 134).

Diyete (doymamış yağ asitleri tüketimi, sebze ve meyve bakımından fakir beslenme gıdaların uygun koşullarda hazırlanmaması vb.) ve çevresel faktörlere

(sigara, hava kirliliği, radyasyon gibi) bağlı olarak vücutta oksidatif strese neden olduğu bilinen radikal ve radikal olmayan karakterdeki reaktif türler Tablo 1-1’de gösterilmiştir:

<b>RADİKALLER</b>	<b>RADİKAL OLMAYAYANLAR</b>
Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	
Süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil ( $OH^{\cdot}$ )	Hipobromöz asit ( $HOBr$ )
Hidroperoksil ( $HO_2^{\cdot}$ )	Ozon ( $O_3$ )
Lipid peroksil ( $LO_2^{\cdot}$ )	Singlet oksijen ( $O_2$ )
Lipid alkoksil ( $LO^{\cdot}$ )	1)
	Lipid peroksitler ( $LOOH$ )
	Maillard reaksiyonu ürünleri
<i>Reaktif klorür türleri (RCS)</i>	
Atomik klor ( $Cl^{\cdot}$ )	Hipokloröz asit ( $HOCl$ )
	Nitril klorür ( $NO_2Cl$ )
	Kloraminler
<i>Reaktif azot türleri (RNS)</i>	
Nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ )	Nitröz asit ( $HNO_2$ )
Azot dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ )	Nitrozil katyonu ( $NO^+$ )
	Nitroksil anyonu ( $NO^-$ )
	Diazot tetraoksit ( $N_2O_4$ )
	Diazot trioksit ( $N_2O_3$ )
	Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )
	Peroksinitröz asit ( $ONOOH$ )
	Nitril katyonu ( $NO_2^+$ )
	Alkil peroksinitritler ( $ROONO$ )
	Nitril klorür ( $NO_2Cl$ )

**Tablo 1-1:** Oksidatif strese neden olan reaktif türler (121)

### 1.2.5.2. Antioksidan Sistemler

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut antioksidanlar olarak bilinen birçok savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidanlar oksijen radikallerinin yıkıcı reaksiyonlarını engelleyerek veya bu radikalleri toplayarak zararlı etkilerini inhibe ederler.

Antioksidanlar endojen veya eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılır. Ayrıca enzimatik ve enzimatik olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Enzimatik antioksidanlar arasında en önemli olanları süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar arasında ise tokoferol, beta karoten, askorbik asit, ürat, sistein, seruloplasmin, transferin ve albumin sayılabilir (135).

Antioksidanlar etki mekanizmalarını serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek, serbest radikal ile etkileşip aktivitelerini azaltarak, serbest radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak ya da onarım yaparak gösterirler (135).

Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit anyonu antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz aracılığı ile daha az zararlı olan hidrojen peroksit dönüşmektedir. Hidrojen peroksit ise dokularda bulunan katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır (133, 134).

Antioksidanlar şu 4 farklı mekanizma ile oksidanların zararlarını önlerler:

1. Temizleme: Enzimler tarafından oksidan molekülleri zayıf hale getirilip oksijen ile reaksiyona girerek oksijen konsantrasyonunu azaltırlar.

2. Baskılama: Vitaminler ve flavonoidler tarafından oksidanlara bir hidrojen atomu verilerek hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları ile bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyip peroksidasyonun başlamasını önlerler.

3. Onarma: Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları onararak etkilerini gösterirler.

4. Zincir koparma: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyebilirler (126, 127).

Oksidatif stres kaynaklı hastalarda endojen kaynaklı antioksidanlar etkili olmadığı için, oksidatif hasarı azaltabilecek diyet sadece dışarıdan alınacak antioksidanlarla mümkündür ve spermin kalitesini yapılan antioksidan tedavi ile artmaktadır. Bu tedaviyle lipid peroksidasyon potansiyelinin azaltılması fertilizasyon oranlarının ise artması gözlenir (156, 157).

#### **1.2.5.2.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar**

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanlar ise hücre dışında daha etkilidir. Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px), Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD), Glutatyon Redüktaz (GR), Paraoksonaz (PON) ve Glutatyon S-Transferaz (GST) enzim yapısındaki antioksidanlardır ( 137, 144, 159).

Kanser, diyabet, katarakt, ateroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli enzimleri katalaz ve glutatyon peroksidazdır (154).

#### ***Süperoksit Dismutaz (SOD)***

Hücrede serbest oksijen radikalleri oluşurken ilk basamakta  $O_2^-$  olduğu ve SOD enzimi bu radikalın dismutasyonunu sağladığından, hücre içindeki ilk savunma sistemini bu enzim yaptığı için en önemli antioksidan enzimlerden biridir. Aerobik tüm hücreler bulunur ve endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında çok fazla sayıdadır. Normalde damar duvarında süperoksit radikallerini detoksifiye ederler. Bu şekilde lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişimini inhibe ederler (151, 160).

Dokularda oksijen basıncının (pO<sub>2</sub>) yükselmesi ile SOD aktivitesi artar. İçeriğindeki metal iyonuna göre sitozolik dimerik Cu,Zn-SOD ve mitokondriyal tetramerik Mn-SOD olarak adlandırılır (160).

### ***Katalaz (KAT)***

Katalaz enzimi esas olarak peroksizomlarda lokalize olmakla birlikte endoplazmik retikulum ve sitozolde de yoğundur. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda bulunmaktadır. Aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in moleküler oksijen ve suya çevrilmesini katalizler. Katalaz metil hidroperoksit ve etil hidroperoksit gibi küçük moleküllerin indirgenmesini de sağlar, ancak büyük molekül ağırlıklı lipit hidroperoksitlere karşı etki göstermez (152, 160).

Katalazın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır. Katalazın temel fonksiyonu olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in enzimatik parçalanması katalitik aktivite iken; düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilme özelliği de peroksidatik aktivite olarak bilinmektedir. Ancak katalaz, lipit peroksitleri gibi büyük moleküllere karşı etki gösteremez (153).

### **1.2.5.2.2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar**

C vitamini, E vitamini, A vitamini, flavinoidler, ürik asit, melatonin, albümin, haptoglobulin, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, ferritin, oksipurinol, ubiquinon (koenzim Q10), bilirubin, mannitol, lipoik asit ve hemopeksin enzim yapısında olmayan antioksidanlardır (121, 155).

### **1.2.5.3. Serbest Radikal Tayininde Kullanılan Yöntemler**

Serbest Radikal Tayininde N,N-Dimetil-*p*-fenilendiamin (DMPD) Yöntemi, Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler (TBARS) Yöntemi, Hidroksil Radikali Süpürme Yöntemi, Süperoksit Radikali Süpürme Yöntemi gibi çeşitli uygulamalar mevcuttur. Bunlardan TBARS testi biyolojik sistemlerde ve gıdalarda lipit

peroksidasyonunu değerlendirmek için en sık kullanılan ve bilinen en eski testlerden biridir. Son zamanlarda da basit, karmaşık enstrümantasyon gerektirmeyen, yüksek duyarlılıkta bir yöntem olması nedeniyle kompleks biyolojik metaryallerde uygulanması artmıştır (123).

Serbest radikaller çok reaktif ve kısa ömürlü oldukları için ölçümleri kolay olmaz. Bunun yerine serbest radikallerin lipitler, proteinler ve DNA ile reaksiyonları sonucu oluşan ürünlerin ölçümü aracılığıyla dolaylı olarak serbest radikallerin etkinliği belirlenir. Lipitler serbest radikal hasarına karşı daha hassastırlar. TBARS testi de lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) ölçümüne dayanır (131, 132).

### **1.2.6. DİYABETTE OKSİDATİF STRES**

Yapılan çalışmalarda hiperglisemiden dolayı serbest oksijen radikallerinin arttığı görülmüştür. Uzun süreli hiperglisemi sebebiyle hücre dışındaki proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretimi artmaktadır. Serbest radikallerin aşırı artışı da oksidatif stresi indüklemektedir. Diyabette oksidatif stres pek çok mekanizmaya bağlı olarak artabilmektedir, ancak bu mekanizmaların kesin katkısı tam olarak kanıtlanmış değildir. Çok sayıdaki deneysel bulgular artan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunun ve zayıflayan antioksidan savunmanın mekanizmaların temelini oluşturduğu ifade edilmektedir (140, 143, 145).

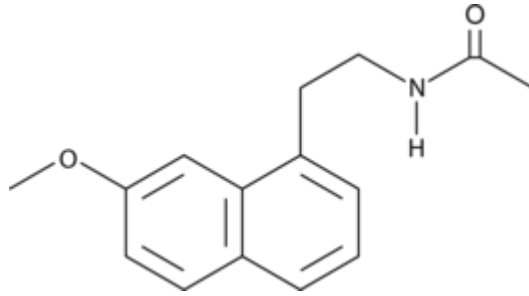
Deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir rolü olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Ayrıca uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceğini araştırmacılar vurgulanmaktadır (137, 141, 142, 146, 161, 162, 163).

Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin prooksidan ve oksidan maddeler yönünde kayması diyabette oksidatif stresin gelişmesine yol açar. Oksidanlar, organizmada başlıca glikozun oksidasyonu

sırasında olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırasında ve sonrasında sürekli bir oluşum ve antioksidan moleküller tarafından da sürekli etkisizleştirme süreci içindedirler. Çünkü canlı organizma iç ve dış etkilerin uyarılması ile her an zorlanmakta ve bu esnada zaman zaman oksidan moleküller belirli düzeylerin üstüne çıkmaktadır (147, 148, 149).

### 1.2.7. AGOMELATİN

Agomelatin pineal bezde sentezlenip salgılanan ve organizmanın sirkadiyen ritmi düzenleyen Melatonin hormonunun analogudur. 2000'li yılların ortalarında, Fransa'da Servier araştırma enstitüsünde daha etkili ve daha güvenli yeni antidepresan ilaçlar geliştirmeye yönelik çalışmalar sırasında sentezlenmiştir. Kimyasal yapısında indol grubu yerine bir naftalen bioestere grubu ve NH grubu olan yerde HC=CH grubu içermesi ile melatoninden ayrılır. Moleküler formülü  $C_{15}H_{17}NO_2$ , Kimyasal formülü ise (S 20098; N(2-(7-metoksi-1-naftil)etil)asetamid etil) şeklindedir. (şekil 1-4) (173, 179).



**Şekil 1-4:** Agomelatin kimyasal yapısı (181).

Melatoninin farmakodinamik etkilerinden çok güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir (176).

Agomelatin higroskopik olmayan beyaz veya beyaza yakın toz şeklindedir. Suda çözünmez. Etanol, DMSO ve dimetil formamid gibi organik çözücülerde çözünür. Bu çözücülerdeki çözünürlüğü 30 mg/ml şeklindedir. Toz şeklindeki etken madde içeren formu oda sıcaklığında saklanabilir (174, 175, 178).

Avrupa Birliği 2009 ÷lkemizde ise 2011 yılında agomelatin 25 mg'lık film kaplı tablet formunda depresyon tedavisinde kullanımına izin vermiştir. Dozun günde 1 kez kullanımı tavsiye edilirken gerek duyulduğu takdirde 2 doza kadar artırılabilir (177, 180).

### 1.2.8. GALLİK ASİT

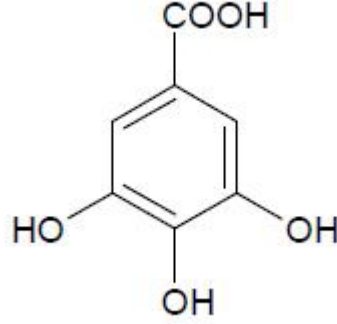
Fenaolik maddeler bir hidroksil grubunu içeren aromatik halkaya sahiptir ve doğal antioksidanların en önemli gruplarından biridir. Bitkilerde fenolik maddeler ya vakuollerde birikirler ya da bitki hücre duvarlarında lignin ile polimerize halde bulunurlar ve bitkilerin ikincil metabolitleridir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir (65, 66, 70, 167, 168, 169).

Özellikle meyve sebzelerin rengi, lezzeti ve dayanıklılığı üzerine etkili olan fenolik maddeler, antioksidan özelliklerine bağlı olarak antikanserojen, antimutajen, antiinflammatuar özellik gösterir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir. Gıda sanayi yanında farmokolojide de kullanım alanı oldukça genistir. İlaç sanayisinde fenolik maddelerin özellikle antimikrobial özelliklerinden yararlanılmaktadır. Ödem giderici ve antialerjik etki de gösterirler (70, 166, 170).

Fenolik asitler çeşitli yollarla “indirgeyici ajan olarak, hidrojen verici olarak” antioksidan gibi davranır. Bunların içinde belki de en önemlisi serbest radikalleri etkileyerek serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırmasıdır. Bunu da lipid radikallere, hızla H<sup>+</sup> vermesi şeklinde yapar. Görevi lipid peroksi (ROO<sup>.</sup>) ve alkoksil (RO<sup>.</sup>) radikalini parçalamak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır (71, 72, 169).

Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit; C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>), doğal bir fenolik antioksidan olup hidroksibenzoik asitler sınıfındandır ve taninlerin asidik veya bazik

hidrolizi ile elde edilebilir. (Şekil 1-5) Gallik asit özellikle yeşil çay olmak üzere bitkilerden ekstrakte edilir.



Şekil 1-5: Gallik asidin kimyasal yapısı (63).

Gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetikte lipid peroksidasyonu ve çürümenin neden olduğu bozulmaları engellemek için kullanılmaktadır. En önemli uygulama alanlarından biri farmasotik sanayinde sülfonamidlerle beraber kullanılan antibakteriyel bir ajan olan trimetoprim üretiminde kullanılmaktadır. Bunun yanında antioksidan bir ajan olarak kullanılan propil gallat gibi gallik asit esterlerinin üretiminde, deri, kozmetik ve fotoğraf boyalarında kullanılan pirogallol bileşiklerinin oluşturulmasında kullanılmaktadır (64, 171, 172).

Yapılan çalışmalarda gallik asidin antibakteriyel, antifungal ve güçlü bir antikanser etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir (67, 68, 69).

### 1.2.9. Apoptozis

Yunancada apo (= ayrı) ve ptozis (= düşen) sözcüklerinin birleştirilmesi ile oluşmuştur. Olmuş olup bu terim ilk kez Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Organizmanın normal işleyişi esansında görülen ve düzenli olarak sürmesi gereken bir tür hücre ölümü şekli olarak tanımlanmaktadır (184, 190, 191, 192).

Her hücre, doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis). Bütün bu olaylar doğal bir denge halinde sürer. Normal gelişimin ve

hastalıklarla bağlantılı patolojik durumların bir ögesi olarak ortaya çıkabilen programlanmış hücre ölümleri çok hücreli pek çok canlıda bulunmuştur (185, 186).

Programlı hücre ölümünün, çok hücreli organizmalarda, homeostazın sürdürülmesinde önemi büyüktür. Çok hücreli organizmalarda hücre ölümü iki farklı düzenek ile gerçekleşir. Bunlardan ilki klasik hücre ölümüdür ve nekroz olarak adlandırılır ve inflamatuvar yanıt gelişirken, ikincisi ise çoğunlukla hücreleri tek tek etkileyen programlı hücre ölümüdür, apoptozis olarak adlandırılır ve inflamatuvar yanıt görülmez. Apoptozis birçok fizyolojik ve patolojik durumda ortaya çıkar ve genellikle yangı oluşumu görülmez (183, 184).

Apoptozis, embriyogenezis, immünolojik tepkimeler, iç ortam dengesinin düzenlenmesi ve farklılaşmış hücrelerin yaşam sürelerinin sonlanması gibi birçok normal fizyolojik süreçte izlenebilirken ayrıca iyonize radyasyon, inflamatuvar ve bağışıklık sistemini düzenleyici sitokinler, oksidatif stres, redoks potansiyelinde değişiklikler, büyüme faktörleri, DNA hasarı ve mekanik stres gibi çevresel uyaranlarca düzenlenir (191, 192, 193).

Apoptozis, nükleusun yoğunlaşması ve ardından parçalara ayrılması şeklinde gözlenir. Apoptozisin erken evresinde hücreler birleşme bölgelerinden ayrılır, özelleşmiş yüzey organellerini kaybederler. Bir kaç dakikada hacimlerinin 1/3'ünü kaybıyla belirgin şekilde büzülür. Hücresel büzüşmenin nedeni Na, K, Cl taşıyıcı sistemin durması nedeniyle hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin olmamasıdır. Sonraki aşamada plazma membranında tomurcuklanmalar oluşur ve hücre, sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır. Apoptotik hücreler komşu hücreler ile makrofajlar tarafından tanınır ve fagosite edilir. Apoptotik hücrelerin tanınması, plazma membranındaki değişikliklerle olur. Normalde hücre membranının iç tabakasında olan fosfatidilserin, aminofosfolipid transferaz enzimiyle membranın dış yaprağına göç eder (187, 188, 189).

***VEGF (Vascular Endotelial Growth Factor)***

VEGF, 34-45 kilo Dalton ağırlığında bir glikoprotein olup, anjiogenezi tümör büyümesi ve metastaz oluşumunda çok önemli faktörlerden biridir. Damarlanmada artış, birçok tümörde, metatazin yüksek insidansı ve kötü prognozla koreledir. VEGF, endotelial hücreler için spesifik mitojendir. Endotelden salınan çeşitli büyüme faktörleri yoluyla tümör büyümesi indüklenir. Endotel hücrelerinden interlökin-6 (IL-6) salımını arttırarak, myelom hücrelerinin proliferasyonunun yanı sıra otokrin ve parakrin mekanizmalar yolu ile göçünü tetiklemektedir (218, 219, 220, 221).

VEGF ailesi, VEGF-A (Human-VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F (sv-VEGF) ve Plasenta büyüme faktörü (Plasenta Büyüme Faktörü; PlGF) adı verilen yedi üyeden oluşmaktadır. VEGF homodimerik, heparin-binding glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGF A, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre 121, 165, 189, 206 ve 145 gibi isoformları bulunmaktadır (222, 223, 225).

VEGF endotel hücresinde etkisini gösterebilmesi için temel olarak üç reseptöre bağlanmaktadır. Bu reseptörler VEGF-R1 (flt-1), VEGF-R2 (flk-1/KDR) ve VEGF-R3 (flt-4) olarak sıralanabilir ve tirozin kinaz yapısındadırlar. Bunlardan VEGF-R1 ve R2 endotel hücreleri üzerinde iken VEGF-R3 lenf damarları üzerinde bulunmakta olup, lenfanjiyogenezden sorumludur. VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; MAPK-kinaz bağımlı fosfolipaz A2, fosfoinositol-3 kinaz ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile eder. Sonuçta, endotel hücrelerinin çoğalma, göç ve diferansiyasyonunu sağlar (222, 223, 224).

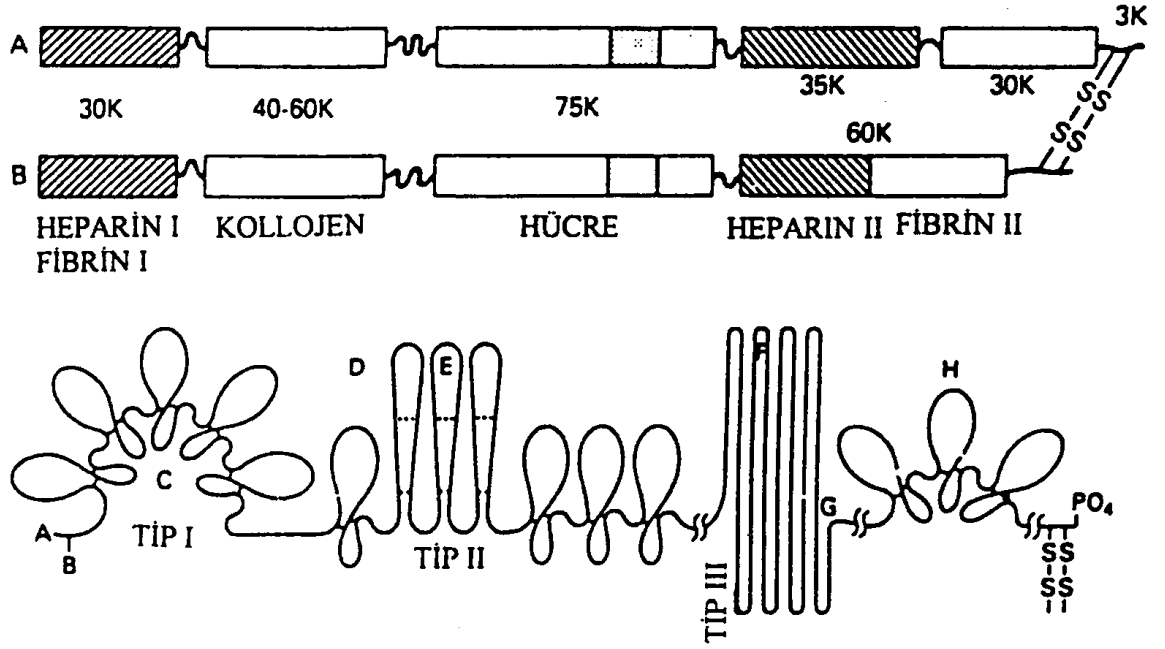
VEGF, anjiyogenezin VEGF-bağımlı bir mediyatörü olan nitrik oksid (NO) salınımını arttırmakta olup, sonuç olarak NO endotel hücre göçünde rol alır. Başta RAS, SRC ve HER-2 onkogenleri olmak üzere VEGF düzeyi; p53 gen mutasyonu, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, FGF, PDGF, IGF-1, TNF- $\alpha$  ve NO gibi birçok endojen ajan ile düzenlenmekte ve tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonu artmaktadır. Düşük glikoz seviyesi, oksidatif stres ve özellikle hipoksik ortamda düzeyi hızla artan hypoxia-inducible transcription factor-1 (HIF-1) de VEGF salınımında önemli bir etkidir. Ayrıca, VEGF muhtemel temel anjiyogenik faktör olma özelliği yanında; VEGF' e

maruz kalan damarlarda, endotel hücreleri arasında vasküler permeabilityi artırır(222, 223, 224, 226).

### ***FN (Fibronektin)***

Ekstrasellüler matriks, hücrelerce salınan glikoproteinler, glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar gibi yapısal makromoleküllerin bir ağından oluşmuştur. ECM proteinleri (fibronektin ve fibrinojen gibi) hücre farklılaşmasında, hücre gelişiminde, apoptozda, doku oluşumu ve devamlılığının sağlanmasında, tümör oluşumu ve metastaz gibi birçok normal ve patolojik olaylarda önemli etkiye sahiptirler (195, 197, 198, 199).

ECM'nin glikoprotein ailesine ait olan fibronektin (FN), çok önemli fonksiyonlara sahip % 5 karbonhidrat içeren yüksek moleküler kütleli bir proteindir. Yapısında 12 adet tip I modül (FN1) ve 2 adet tip II modül (FN2) yer almaktadır. Tip III modülün (FN3) sayısı ise 15 ile 18 arasında değişebilir. Herhangi iki modülün aminoasit dizileri benzer olmamasına rağmen üç boyutlu yapıları oldukça benzerdir. Molekül ağırlığı 220 ila 270 kDa arasında değişen ve iki zincirden ibarettir olan FN, hepatositler, makrofajlar, trombositler, fibroblastlar, amniyotik hücreler, endotel hücreleri, melanositler, mast hücreleri, schwann hücreleri sinoviyal hücreler ve kondrositler gibi birçok farklı hücre tipi tarafından sentezlenip salgılanmakla beraber, dolaşımdaki büyük bir kısmı ise hepatositler tarafından oluşturulur (194, 196, 200, 201).



**Şekil 1-6:** Fibronektinin primer yapısının özellikleri ve fonksiyonel domainleri (193).

Fibronektinin, plazma fibronektini ve hücreyel fibronektin olmak üzere iki formu vardır. Plazma fibronektini kanda, tükürükte ve diğer vücut sıvılarında bulunmakta olup, yara iyileşmesi ve kan pıhtılaşması gibi olaylarda önemli role sahiptir. Hücreyel fibronektin, fibroblastlar, epitel hücreler ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler tarafından sentezlenir ve hücre yüzeyine yerleşir. Hücreyel fibronektin embriyogenez, hücre yapışması ve hücre göçü gibi olaylarda yer alır (203, 204, 206, 207, 208, 209, 213, 215, 217).

Fibronektin, hücre yüzeyindeki integrin reseptörüne bağlanabilen bir domeyn içerir bu sayede fibronektinin hücre yapışmasında rol almasına aracılık eder. Hücre, fibronektine PHSRN (Pro-His-Ser-Arg-Asn) aminoasit dizisinin yanı sıra, RGD (Arg-Gly-Asp) aminoasit dizisinden de bağlanır. Fibronektinin yapısındaki diğer bir bağlayıcı domeyn ise heparin bağlayıcı domeyndir. Bu sayede de fibronektin hücre çoğalmasında rol oynar (205, 211, 216).

Fibronektin, lökosit fonksiyonlarını etkileyerek inflamasyon oluşumunda yer alır ve bir akut faz proteini gibi fonksiyon görür. Son yıllarda fibronektinin lökosit

fonksiyonlarında düzenleyici bir rolü olduğu ve lökositlerden salınan fibronektinin makrofajları aktive ettiği gösterilmiştir (202, 210, 212, 214).

### ***NO (Nitrik Oksit)***

Çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikal olan Nitrik oksit (NO), ilk kez endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDFR) olarak tanımlanmıştır. Yarılanma ömrü 3- 5 saniye olan NO, hücre zarından kolayca geçer, etkisini kısa sürede gösterir ve sonra hızla metabolize olarak nitrit ve/veya nitrate dönüşür, bu nedenle etkisini bölgesel olarak gösterir. NO, damar düz kaslarında gevşemeye neden olur ve bağışıklık, inflamatuvar ve kardiyovasküler sistemleri de dahil olmak üzere birçok sistemde normal fizyolojik süreçlere aracılık eder. (227, 228, 230, 232).

NO gibi serbest radikallerin üreme sistemi üzerindeki rolü karmaşıktır, hücresel süreçleri çeşitli mekanizmalar aracılığıyla olumlu ya da olumsuz olarak etki gösterebilir. Serbest radikaller, planlanmayan doku yıkımını önlemek açısından yakından kontrol edilmesi gerekirken folikül gibi entegre bir sistemde bunun nasıl gerçekleşebileceği hakkında çok az bilgi vardır (233). Ayrıca cinsel davranış, steriodogenezis, folliküler sağkalım, ovulasyon, fertilizasyon ve hatta embriyo implantasyonu dahil üreme potansiyelini güçlü şekilde etkiler (234). NO, foliküle kan akışını etkileyen bir vazodilatör etki ile veya diğer reaktif oksijen türleri gibi, lokal hücresel etkileşimler üzerinde doğrudan etki oluşturarak, folikül büyüme ve gelişmesini etkileyebilir (235).

NO ve diğer bir son ürün olan sitrüllin, argininden Nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS, moleküler oksijen ve L-argininden üretilir. NOS'un genetik olarak farklı 3 izoformu tespit edilmiştir: İki yapısal izoform, endotelial (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS) ve bir indüklenbilir izoform (iNOS) (229, 236).

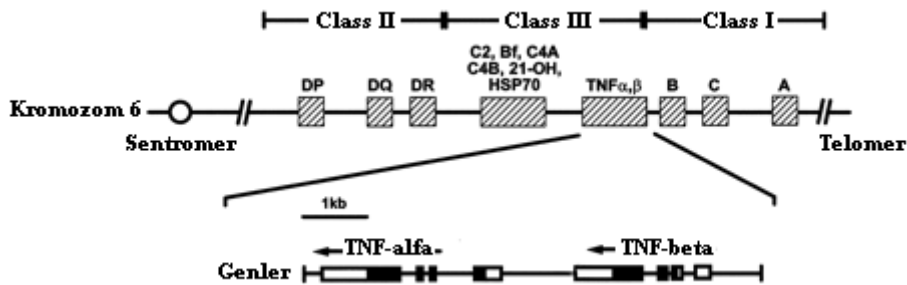
Yapısal izoformlar kalsiyum ve kalmoduline bağımlıdır ve az miktarda NO üretirler. Buna karşılık iNOS pek çok hücre tipinden sekrete edilir ve NO'nun devamlı sentezlenmesini indükler. Vücutta NO seviyeleri düzenli olarak düşük seviyelerdedir ve bu eNOS ve nNOS tarafından kontrol edilir. Bu iki enzimin sentezi

posttranskripsiyonel seviyede kontrol edilirken, iNOS uygun uyarı veya NFKB gibi transkripsiyonel faktörlere cevap olarak sentezlenir (231, 236).

### ***TNF (Tümör Nekrozis Faktör)***

Tümör Nekrozis Faktör'ü (TNF) 1975 yılında Lloyd Old ve arkadaşları fare ve tavşanlarda “Basil Calmette - Guerin” (BCG) ile retiküloendotelial sistemin uyarılması ve takiben lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu sonucu dolaşıma bir proteinin salındığını bulmasıyla adlandırmışlardır. Daha sonra yapılan deneylerle TNF'in TNF- $\alpha$  (Kaşektin) ve TNF- $\beta$  (Lenfotoksin) olmak üzere 2 formu olduğu saptanmıştır (237, 240, 243, 245, 246).

Tnf- $\alpha$ , 233 aminoasidden oluşan prohormon halinde bulunur. Molekülde bulunan iki sistin birbirine bir disülfid köprüsü ile bağlanır. İnsanda 6. Kromozomun kısa kolundaki genlerde kodlanır (243, 245, 246, 247).



**Şekil 1-7:** TNF genlerinin yapısı (248).

Doku zedelenmesi ile akut ve kronik yangısal reaksiyonda rol oynayan Tnf- $\alpha$  fagositik ve nonfagositik hücrelerde, monosit, lenfosit yanısıra natürel killer hücrelerinde, beyinde astrosit ve mikroglialarda, karaciğerde kupfer hücrelerinde sentezlenir (244, 245).

TNF- $\alpha$ , gram (-) bakterilere ve diğer infeksiyöz ajanlara karşı gelişen akut inflamatuvar yanıtın ana mediyatörüdür. Sentezleyen ana hücreler mononükleer fagositler olup, infeksiyon

bölgesine nötrofil ve monositlerin çekilmesinde önemli rol oynar. Düşük dozlarda lökositler ve endotelde akut inflamasyonu indükler. Normal dozlarda inflamasyonun sistemik etkilerini düzenler. Yüksek dozlarda septik şokun patolojik anormalliklerine neden olur (241, 242).

TNF- $\alpha$  güçlü bir proinflamatuvar sitokindir. Apoptozis, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının kontrolü yanında inflamasyon ve immunitede de önemli rol oynamaktadır. Moleküler seviyede TNF- $\alpha$ 'nın hücrel etkilerine TNFR1 ve TNFR2 olarak adlandırılan iki farklı reseptör aracılık etmektedir. Bu reseptörlerin hemen hemen bütün hücre tiplerinde var olduğu gösterilmiştir TNF- $\alpha$ 'nın reseptörlerine bağlanması birçok immun sistem hücresinin gelişimini ve aktivasyonunu sağlarken, duyarlı tümör hücrelerinin ve virusla enfekte hücrelerin apoptozis yoluyla ölümüne yol açmaktadır. Sistemik olarak pirojen etkisi gösteren ve yüksek ateşe neden olan bu sitokinin aşırı uyarımı şiddetli doku yıkımına neden olabilmektedir (238, 239).

### **1.2.10. İMMÜNOHİSTOKİMYA TEKNİKLERİ**

İmmünohistokimya ilk kez 1941 yılında H. Coons ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır. Bu araştırmacılar bir antikoru flüoresan bir boya ile işaretleyerek doku kesitlerinde antijenleri göstermek için kullandılar. Bu ilk çalışmaları takiben, daha çok sayıda antijene karşı ve daha iyi kalitede antikor üretimiyle teknik de aşırı derecede genişleyip gelişti. Antijen antikor reaksiyonu doku antijenlerinin şüphe götürmez bir şekilde tanınmasını mümkün kıldı. 1966'da Nakane ilk kez peroksidaz enzimini kullandı.

İmmünohistokimya işaretlenmiş antikorlar kullanılarak hücre ve doku antijenlerinin buldukları yerde gösterilmesini sağlayan bir yöntemdir. İmmünohistokimyasal boyalar yaygın olarak patojenik dokuların tespitinde kullanılır. Ayrıca yaygın olarak temel araştırmalarda biyomarkırların dağılımını ve yerleşimini ve farklı doku parçalarında farklı proteinlerin ifadelerini anlamada kullanılır.

Antijenin antikor tarafından tanınmasını sağlayan özgün diziye antijenik belirleyici bölge veya epitop denir. Antikorların özgün oluşu dokulardaki belli epitopları ortaya çıkarmak için analitik bir araç olarak kullanılmalarını mümkün kılar. Böylece histolojik kesitlerde antikorların belli antijenik epitopları spesifik olarak saptayan ajanlar olarak kullanılması immünohistokimyanın sahasına girer.

İmmünohistokimyada kullanılan immunoglobulin genellikle IgG' dir. Bir Fc bölümü ve iki Fab bölümü vardır. Fab bölgesi antijen bağlayıcı bölgedir ve immün cevabın özgünlüğünü sağlar. İmmünohistokimyada 2 tip antikor kullanılır: Poliklonal ve monoklonal antikorlar.

İmmünohistokimya yöntemi, gerek ışık, gerekse elektron mikroskopide; tek aşamalı (direkt) veya iki aşamalı (indirekt) olmak üzere iki şekilde uygulanabilir.

Direkt yöntem: Gösterilmek istenen antijene özgü antikor floresan boya, enzim v.b işaretler ile işaretlenir ve işaretli antikorun dokudaki antijenle reaksiyona girmesi sağlanır. Bu yöntemde primer antikor işaretlendiği için antikorun reaksiyon gücünde bir azalma olur ve dolayısıyla hassasiyeti düşük bir yöntemdir. Yerini indirekt yöntemle bırakmıştır.

İndirekt yöntem: Primer antikor işaretlenmez, primer antikorun elde edildiği türün gama globulüne karşı oluşturulmuş sekonder bir antikor işaretlenir. Böylece; 1. aşamada, işaretsiz primer antikor antijene bağlanır, 2. aşamada ise işaretli sekonder antikor primer antikorun Fc bölgesi ile reaksiyona girer ve antijen iki aşamada indirekt olarak işaretlenmiş olur Direkt yöntemle göre çok daha hassastır ve daha güçlü bir işaretleme elde edilir.

İmmünohistokimya için gerekli koşullar şöyledir:

1- Antijenin iyi korunması: Başarılı bir immünohistokimya, doku antijenlerinin çözünmez hale getirilmesi ve bu sırada antijenik bölgelerin tersiyer yapılarında önemli bir değişiklik oluşturmadan, antikorun kendilerini tanıması için uygun durumda korunmasını gerektirir.

2- Özgün boyanma: Pozitif görünen bir sonuç gerçekten pozitif boyanma olabilir ancak özgün olmayan reaksiyon riski de mevcuttur. Bu risk sonuçlar doğru olarak kabul edilmeden önce mutlaka yok edilmelidir.

3- İyi nitelikli antikor

4- Kolay görülebilen bir işaretleyici: Bu amaçla flüoresan boyalar, enzimler, altın tanecikleri ve biyotin kullanılır (164).

## **2. BÖLÜM**

### **2. 1. GEREÇ VE YÖNTEM:**

#### **2. 1. 1. Deneysel Araçlar:**

- Sıçan (Tür: Rattus albinus 28 adet erkek)
- Deney Kafesi
- Hassas Terazî (Precia XB-220A)
- Anestezik madde (Ketamin, Ksilazin-Rompun)
- 3,3',5-Triiodo-L-thyronine (Sigma,T2877-100mg)
- Polyлизin kaplı lam (Citoglass), Lamel (Surgipath)
- Formaldehit (Merck)
- Etil Alkol (Merck)
- Ksilol (Merck)
- Mini pap pen (Invitrogen)
- Entellan (Merck)
- Histostain-Plus Kit (HRP- 1000) (Invitrogen)
- Liquid DAB-Plus Substrate Kit (Invitrogen)
- c-kit antikor (Santa cruz)
- NOS-2 antikor (Santa-cruz)
- Okludin antikor (abcam)
- Mayer's Hematoksilen Boya Solüsyonu (Sigma)
- PAS (Periodic Acid Schiff) (Hotchkiss Mc Manus, Bio-Optica)
- Glisial asetik asit (Merck)

- Picric Asit (Sigma)
- Mikrotom (Leica RM 2145)

## **2. 1. 2. Deneysel Yöntem:**

Deneysel çalışma, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hayvan Etik Kurulu'nun 26 Mart 2014 tarih, 2014-026 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir. Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden, ağırlıkları 190-220 gr arasında değişen, seksüel olgunluğa ulaşmış *Rattus albinus* erkek sıçanları temin edilerek Ege Üniversitesi, Argefar, Faz Öncesi Araştırma Biriminde 25°C oda ısısında, 12 saat aydınlık ve karanlık dönemlerle, serbest su ve gıda sağlanarak araştırmaya alındılar. Yem ve su günlük olarak değiştirildi. Çalışma süresince hayvanlar, kenarları sert plastik ve üstünde çelik ızgara bulunan deney grubuna göre işaretlenmiş kafeslerde tutuldu.

### **2. 1. 2. 1. Deney Grupları**

Deneyde 28 erkek sıçan ile şu 4 grup oluşturulmuştur.

Grup 1: Kontrol grubu, 7 erkek sıçan

Grup 2: Diyabet grubu, 7 erkek sıçan

Grup 3: Diyabet + 16mg/kg Agomelatin grubu, 7 erkek sıçan

Grup 4: Diyabet + 20 mg/kg Gallik Asit grubu, 7 erkek sıçan

190- 250 gr ağırlığında 21 adet erkek sıçana intraperitoneal olarak 50 mg/kg olacak şekilde 0.1mol/L sodyum sitrat tamponu (pH: 4.7) ile hazırlanmış Streptozotosin (STZ) enjekte edilmiştir (21,63). Klinik ve biyokimyasal gözlemler yapılarak 48 saat sonra kuyruk veninden kan ölçümü yapılarak 250 mg/dl üzeri kan-glukoz düzeyine sahip olan denekler diyabet kabul edilmiştir ve hayvanlar diyabet olduktan 1 hafta sonra ise sıçanlara 2 hafta boyunca gavaj yoluyla Agomelatin ve Gallik Asit verilmiştir. Tüm gruplar için deneysel süreç dışında (21 gün) denekler genel anestezi altında yüksek doz anestezi ile sakrifiye edilip epididimis çıkarılmıştır. Alınan dokular uygun fiksatifler içine alınmış ve rutin ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal analizine geçilmiştir.



**Şekil 2-1:** Hayvanların Gruplandırılması



**Şekil 2-2:** Gavaj Uygulaması

### **2.1.3. Diyabet İndüksiyonu**

Çalışmanın bu kısmında kullanılacak 21 adet erkek sıçanları diyabet oluşturmak için 26 gauge'lık insülin enjektörüyle 50 mg/kg dozunda STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı. 48 saat sonra, 12 saat aç bırakılan sıçanlar sabah saat 9-10 arasında kuyruk venlerinden kan örneği alınarak, glukometre

cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukozu düzeyi  $>250$  mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.



**Şekil 2-3:** STZ'nin i.p. olarak verilmesi

#### **2.1.4. Doku Örneklerinin Alınması**

Tüm gruptaki sıçanlar deney sonunda tartıldıktan sonra, ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edilerek çalışma sonlandırıldı. Dekapitasyonun ardından sıçanların epididimis dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan epididimis dokuları histolojik çalışma için uygun fiksatif solüsyonunda tespit edildi. Epididimisler yağ dokularından arındırıldıktan sonra tartıldı.



**Şekil 2-4:** Sıçanlarda ağırlık tartma



**Şekil 2-5:** Epididimislerin alınması

## **2. 1. 5. Mikroskopik Analiz Gereç ve Yöntem**

### **2. 1. 5. 1. Tespit solüsyonları**

#### ***%4'lük Paraformaldehit Tespit Solüsyonu***

Distile Su	1000 cc
Paraformaldehit	40 gr

Toz Paraformaldehit 1000 cc distile suda eritilir ve ısıtılır. Sıcaklığın 60°C'yi geçmemesine dikkat edilmelidir. pH 7.2-7.4 olmalıdır.

#### ***Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS)***

NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> +2H <sub>2</sub> O	0,813 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +7H <sub>2</sub> O	4,040gr
NaCl	8,78gr
Distile su	1000cc

pH 7,2-7,4 olmalıdır.

## 2. 1. 5. 2. Işık Mikroskopik Yöntem

### 2. 1. 5. 2. 1. Doku Takibi ve Gömme

- Parçalar %4 lük paraformaldehitte 24 saat süreyle bekletilerek fikse edildi.
- 24 saat PBS tamponunda bekletilerek yıkandı.
- 2 saat % 80 Etanol,
- 3 saat % 95 Etanol I,
- 15 saat % 95 Etanol II,
- 2 saat % 100 Etanol I,
- 2 saat % 100 Etanol II,
- 2 saat % 100 Etanol III'de bekletilerek dehidretasyon işlemi gerçekleştirildi.

Alkolden çıkarılan parçalar oda ısısında kurutuldu. Ksilol ile şeffaflandırma aşamasına geçildi. Şeffaflandırma aşamasını sonrası 58°C etüvde erimiş parafin içerisine alınan parçalar 1 gece bekletilerek, ertesi gün etüvden çıkarılıp erimiş mavi parafine gömülerek bloklandı.

### 2. 1. 5. 2. 2. Kesit Alma

Işık mikroskopik incelemeler için mikrotomda (Leica RM 2145) 3µ'luk kesitler alınarak 37°C su banyosunda kesitlerin açılması sağlanarak rodajlı ve polilizinli lamlar üzerine alındı. Tüm kesitler 1 gece 37°C'lik etüvde tutularak lam üzerine

yapışmaları sağlandı. Ksilolle parafinden uzaklaştırma işlemi gerçekleştirildi. Uygun histokimyasal ve immünohistokimyasal boyamalar için preparatlar hazır hale getirildi.

## **2. 1. 6. Histokimyasal Boyamalar**

### **2. 1. 6. 1. HEMATOKSİLEN EOSİN (H.E.)**

#### **2. 1. 6. 1. 1. H.E. Boyama İçin Hazırlanan Solüsyonlar**

<b>Eozin Solüsyonu</b>	<b>Asit-Alkol Solüsyonu</b>	<b>Amonyaklı Su</b>
Eozin Y (% 3): 100 cc	% 70 Alkol: 1000 cc	Distile Su: 1000 cc
%95 Alkol: 125 cc Distile Su: 375 cc	HCl: 10 cc	Amonyak: 1- 2 cc

#### **2. 1. 6. 1. 2. H.E. Boyama Tekniği**

- Ksilol I 10 dakika
- Ksilol II 10 dakika
- Ksilol III 10 dakika
- Kuruduktan sonra alkole geçirildi.
- % 100 Alkol ve 2. % 100 Alkolde 2'şer dakika
- % 95 Alkol ve %80 alkolde 2'şer dakika
- Distile suda 5 dakika yıkandı.
- Hematoksilende 2,5 dakika tutuldu.
- Akarsu 5 dakika

- Asit alkol (Doku pembe renk alana kadar batırıp çıkarılır.)
- Akarsuda yıkandı.
- Amonyaklı su (Doku mor renk alana kadar batırıp çıkarıldı)
- Akarsu
- Distile su 5 dakika yıkandı.
- Eozin 2,5 dakika
- % 95 Alkol , %100 Alkol ve 2. %100 Alkolde 2'şer dakika bekletildi.
- Dışarıda kurutuldu.
- Ksilolle muamele edildi.
- Boyalı preparatlar entellan damlatılarak kapatıldı.
- **Sonuçlar:** Nükleus: Mavi , Sitoplazma: Pembe

#### 2.1.6.2. Periyodik Asit Shift (PAS)

##### *PAS Boyama Solüsyonları:*

A.	Peryodik asit solüsyon	30 ml
B.	Schiff ayırıcı	30 ml
C.	Potasyum methabisülfit solüsyon	30 ml
D.	Fiksatif solüsyon	30 ml
E.	Mayer's hematoksilen	30 ml

##### *PAS Boyama:*

- Ksilol
- Distile su ile yıkama
- 10 damla A solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika beklendi.
- Distile su ile yıkama
- 10 damla B solüsyonu damlatıldı ve 20 dakika beklendi.

- Distile su ile yıkama
- 10 damla C solüsyonu damlatıldı ve 2 dakika beklendi.
- Preparatlar kurutuldu.
- 10 damla D solüsyonu damlatıldı ve 2 dakika beklendi.
- 10 damla E solüsyonu damlatıldı ve 3 dakika beklendi.
- Çeşme suyunda 5 dakika yıkama
- % 80 Alkol 1 dakika
- % 95 Alkol 1 dakika
- % 100 Alkol 1 dakika
- 10 dakika ksilolde bekleme
- Entellan ile preparatlar kapatıldı.

Sonuçlar: Nükleus: Mavi. Glikojen ve diğer PAS pozitif reaksiyon veren alanlar: Kırmızıdan mora değişen renklerde saptanır.

### 2.1.6.3. İmmünohistokimyasal Boyama

- Kesitler, bir gece 60°C etüvde ve soğuduktan sonra 2x30 dakika ksilolde tutuldu.
- Sırasıyla %95, %80, %70 ve %60' lık etil alkolde 2'şer dk bekletildi.
- Kesitler distile su ile 10 dk yıkanır ve çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizildi.
- PBS (Phosphate Buffered Saline) solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı.
- Kullanılacak antikor için önerilen antijen "retrival" yöntemi uygulandı.
- PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı. Endojen peroksit blokajı yapıldı.(% 3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (5 dakika).
- PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandıktan sonra kesitler üzerine Blok solüsyonu (non-immun serum) damlatılarak 1 saat beklendi.
- Blok solüsyonu yıkamadan uzaklaştırıldı ve uygun şekilde dilüsyonu yapılmış 50 µl primer antikor damlatıldı, kapalı nemli kutuda bir gece 4°C'de bekletildi (Primer antikor dilüsyonları şu şekilde yapıldı: c-Kit: 1/50; Nanog: 1/50; Thy-1:1/100; iNOS: 1/50; Konneksin 43: 1/100; Okludin: 1/100).
- PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı.
- Primer antikor ile uyumlu biyotinlenmiş sekonder antikor monoklonal antikor damlatılır, kapalı nemli kutuda 30 dakika oda ısısında bekletildi.

- PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı. Hazırlanan streptavidinle işaretli sekonder antikor damlatılır, kapalı nemli kutuda 30 dk oda ısısında bekletildi.
- PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı. DAB (3,3-diaminobenzidine) solüsyonu damlatılır, 10 dk kapalı nemli kutuda bekletildi ve tekrar PBS solüsyonu ile 3x5 dk ve distile su ile yıkandı.
- Mayers'in hematoksileni ile Nükleus boyanması kontrol edilerek 5 dk boyama yapıldı.
- Distile su ile yıkandı.
- Sırasıyla %80, %95 ve %100'lük etil alkolde 1'er dk bekletildi.
- Kesitler kuruduktan sonra 2 kez 5'er dk ksilolde şeffaflaştırıldı.
- Kapama mediumuyla lamel ile kesitler kapatıldı.

### **2. 1. 7. TUNEL Metodu**

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptozise giden hücreler belirlendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 7). Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilin ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi.

#### ***Tunel Boyama İşlemi***

- Kesitler 1 gün önceden deparafinizasyon için Ksilole yerleştirilir.
- % 100 alkol
- % 95 alkol
- % 80 alkol
- % 1 Triton X-100'lü PBS ile yıkama (pH:7,4)
- Dokuların etrafı sınırlayıcı kalem ile çizilir
- Proteinaz K eklenir (3,9 µl proteinaz K + 35 µl distile su)
- Lamaların üzeri cover slip ile kapatılarak 15 dakika beklenir
- PBS ile yıkama 2 kez 5'er dakika

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile yıkama (63 ml PBS + 7ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 5 dakika
- PBS ile yıkama 3 kez 1 er dakika
- Equilibration tamponu 5 dakika
- Equilibration tamponu lamlardan uzaklaştırılır
- TdT enzimi eklenir (77 µl Reaksiyon tamponu + 33 µl TdT enzimi)
- Lamların üzeri kapatılarak 1 saat 37 °C etüve konulur.
- Stop/Wash tampon ile yıkama (2 ml stop/wash tamponu + 68 ml distile su) 10 dakika
- PBS ile yıkama 4 kez 2 şer dakika
- Anti-Dioksigenin peroksidaz eklenir (Lamların üzeri kapatılır, 30 dakika nemli oda sıcaklığında beklenir).
- PBS ile yıkama 4 kez 2 şer dakika
- DAB eklenir (735 µl DAB Dilution buffer + 15 µl DAB substrat)
- Distile su ile yıkama 3 dakika
- % 0,5 Metil green eklenir 10 dakika
- Distile su ile yıkama 3 dakika
- % 100 N-Butanol ile yıkama
- % 80 alkol
- % 95 alkol
- % 100 alkol
- Ksilen I
- Ksilen II
- Ksilen III
- Entalen ile preparatlar kapatılır.
- (Millipore, Apoptag, Germany)

### **2. 1. 8. Epididimis Tübül Çaplarının Ölçümü**

Hematoksilen eozin ile boyanmış epididimis preparatlarında, her deney hayvanından 10 kesit, her kesitten rastgele seçilmiş 10 tübül incelenmiştir. Image-Pro Express 4.5 programı kullanılarak ölçülmüş ve ortalama skor hesaplanmıştır.

### **2. 1. 9. Bazal Lamina Kalınlık Ölçümü**

PAS ile boyanmış epididimis preparatlarında, her deney hayvanından 10 kesit, her kesitten rastgele seçilmiş 10 tübül incelenmiştir. Image-Pro Express 4.5 programı kullanılarak ölçülmüş ve ortalama skor hesaplanmıştır.

### 3.BÖLÜM

#### 3. 1. BULGULAR

STZ ile indüklenmiş deneysel diyabet çalışmamızdaki sıçanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut-testis ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri Tablo 3-1, 3-2, 3-3 ve 3-4'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ( $p=0,000$ ) hayvanların deney başlangıç ve bitiş ağırlıkları arasında tek yönlü varyans analizlerine göre (ANOVA) anlamlı artış saptanmıştır. Diyabet ( $p=0,012$ ) grubu hayvanlarda deney başlangıç ve bitiş ağırlıkları arasında anlamlı bir azalma gözlenirken, AGO ( $p=0,475$ )ve GAL ( $p=0,256$ ) gruplarında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Diyabet grubu hayvanların testis ağırlıklarına bakıldığında kontrole göre diyabet grubunda anlamlı azalma görülmektedir ( $p=0,000$ ). Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında AGO ( $p=0,01$ ) grubundaki testis ağırlıklarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. GAL ( $p=0,26$ ) grubunda ise anlamlı artış gözlenmemiştir (\* $p<0,05$  değeri anlamlı kabul edilmektedir).

Hayvan No	Vücut Ağırlığı (gr)		Şeker Düzeyi (mg/dl)	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
1	214	250	141	180
2	199	243	135	216
3	224	302	135	248
4	235	241	127	170
5	217	256	130	188
6	236	267	144	200
7	232	269	98	201

**Tablo 0-1:** Kontrol grubu sıçanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.

Hayvan No	Vücut Ağırlığı (gr)		Şeker Düzeyi (mg/dl)	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
1	220	174	289	268
2	228	183	508	258
3	193	169	506	340
4	228	170	321	328
5	220	178	536	255
6	217	179	597	300
7	197	245	435	498

**Tablo0-2:** DM grubu sığanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.

Hayvan No	Vücut Ağırlığı (gr)		Şeker Düzeyi (mg/dl)	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
1	214	211	397	528
2	203	186	528	538
3	186	223	497	258
4	220	210	374	304
5	195	190	368	300
6	198	205	295	497
7	200	188	349	250

**Tablo0-3:** AGO grubu sığanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.

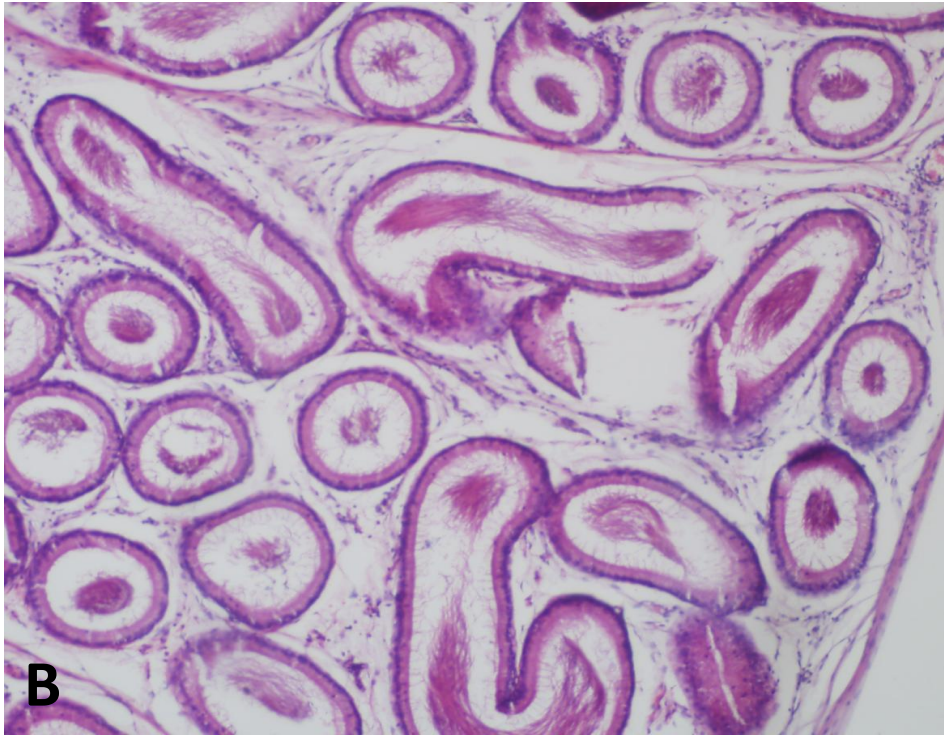
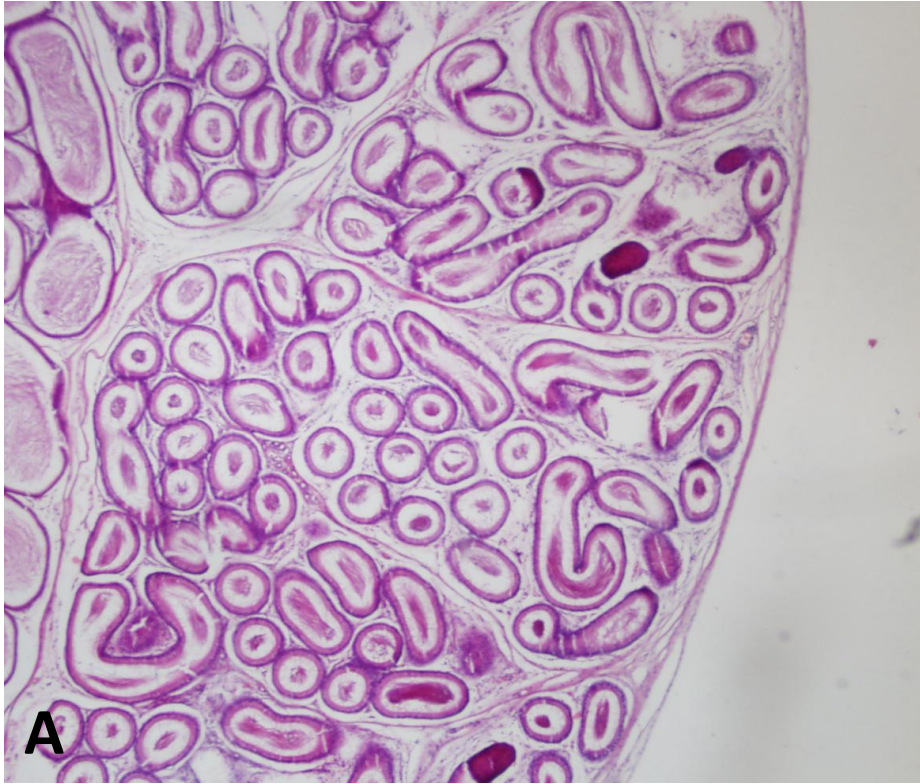
Hayvan No	Vücut Ağırlığı (gr)		Şeker Düzeyi (mg/dl)	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
1	210	200	314	278
2	228	210	372	300
3	205	223	591	258
4	210	190	480	320
5	180	205	588	480
6	194	177	575	391
7	198	180	421	555

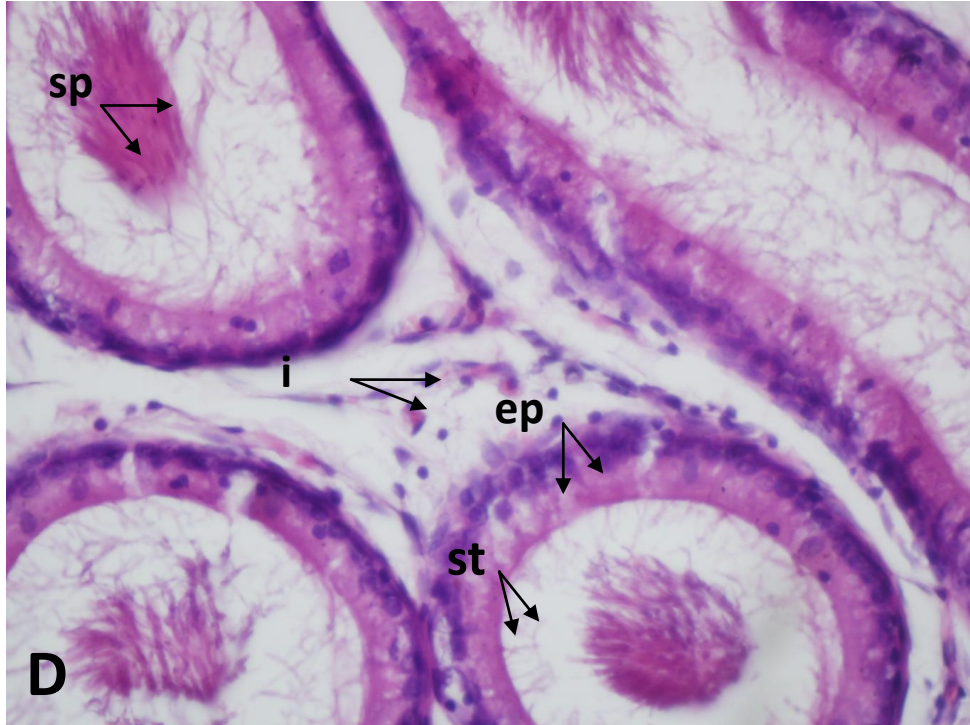
**Tablo 0-4:** GAL grubu sığanların STZ enjeksiyonu öncesi ve sonrası; vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri.

### 3.1.1. Histolojik Bulgular

#### 3.1.1.1. Hematoksilen Eozin Bulgular

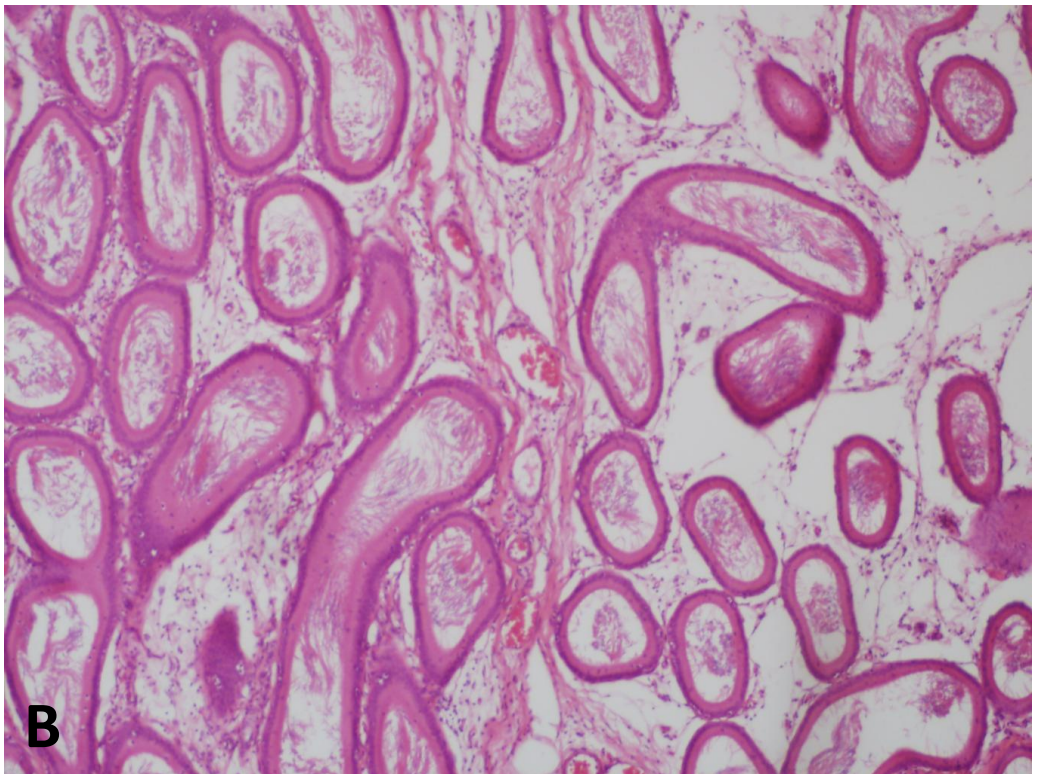
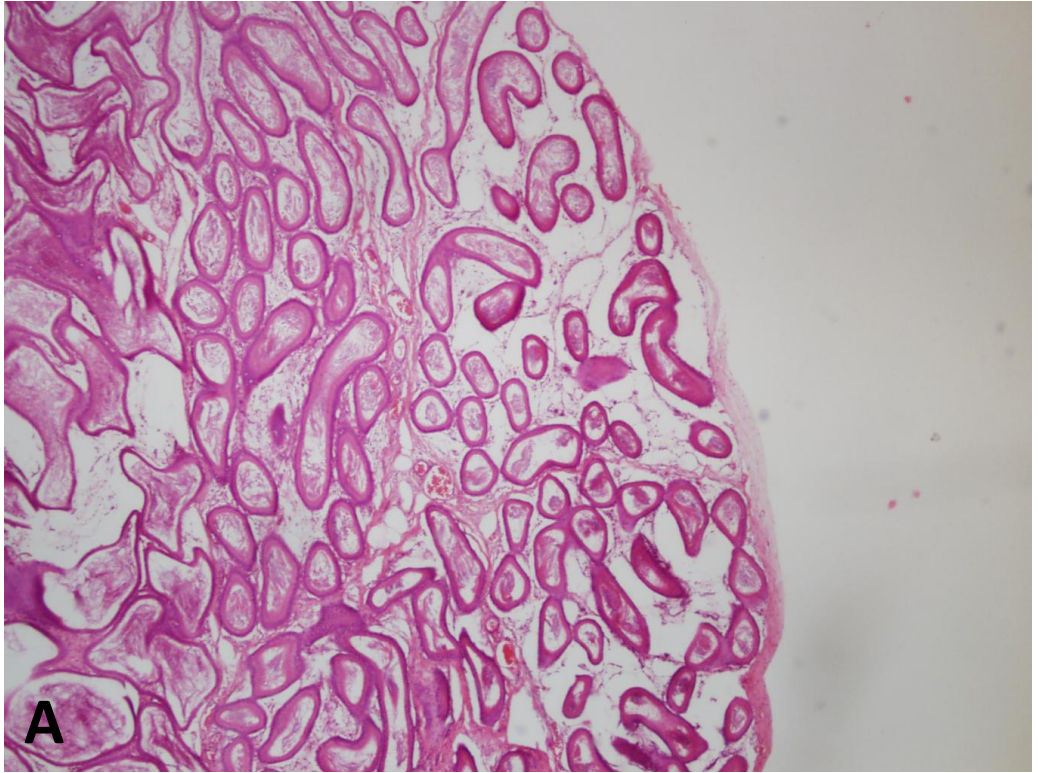
Rutin H,E. ile boyanan Grup I'e (Kontrol grubu) ait epididimis histolojik kesitlerde, küçük büyültmede intersitisyel alanda bağ dokusu normal gözlenmekteydi. Büyük büyültmede ise, duktusların duvarını döşeyen yalancı çok katlı prizmatik, stereosilyalı epitel görülmekteydi. Epiteli oluşturan bazal hücreler heterokromatik, yuvarlak çekirdekleri ile görülürken, esas hücreler soluk, düzensiz, oval çekirdekleri ile izlenmekteydi. Stereosilyalar, uzun, dallanmış, birbirleri ile bağlantılar kuran apikal yüzey farklanmaları olarak görüldü. Duktusları oluşturan epitelin dıştan bazal membran ve tanımlanabilen bir kas dokusu ile çevrelendiği saptandı. Duktusların lümeni spermatozoa içermekteydi (Şekil 3-1).

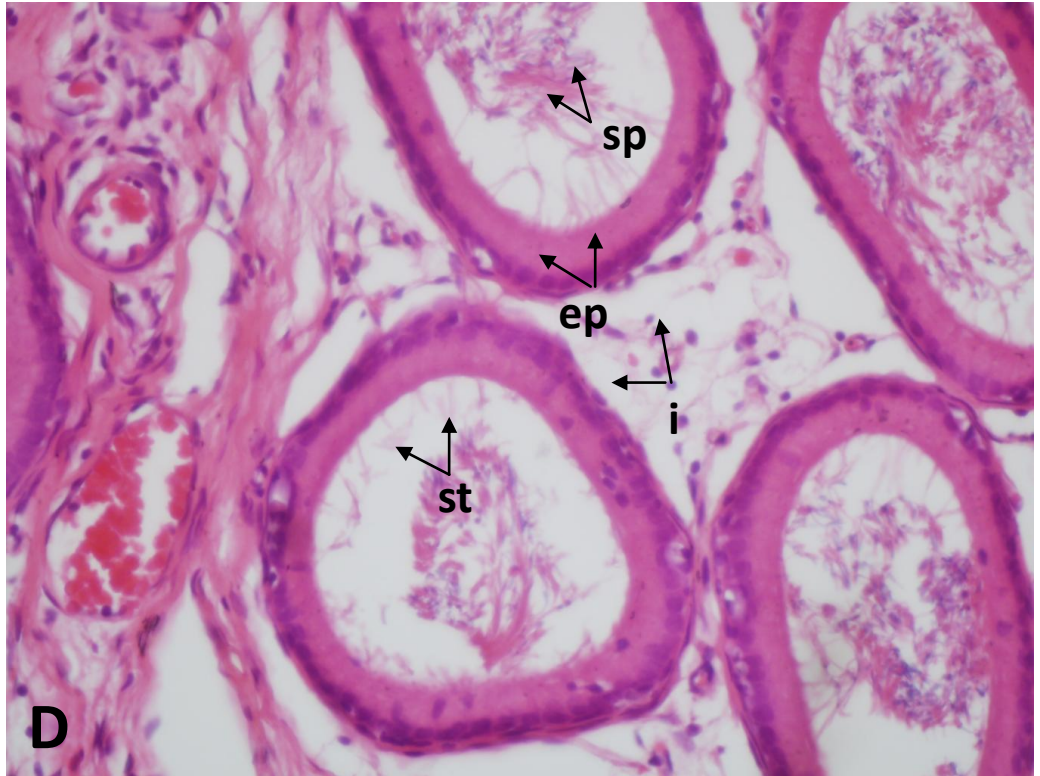
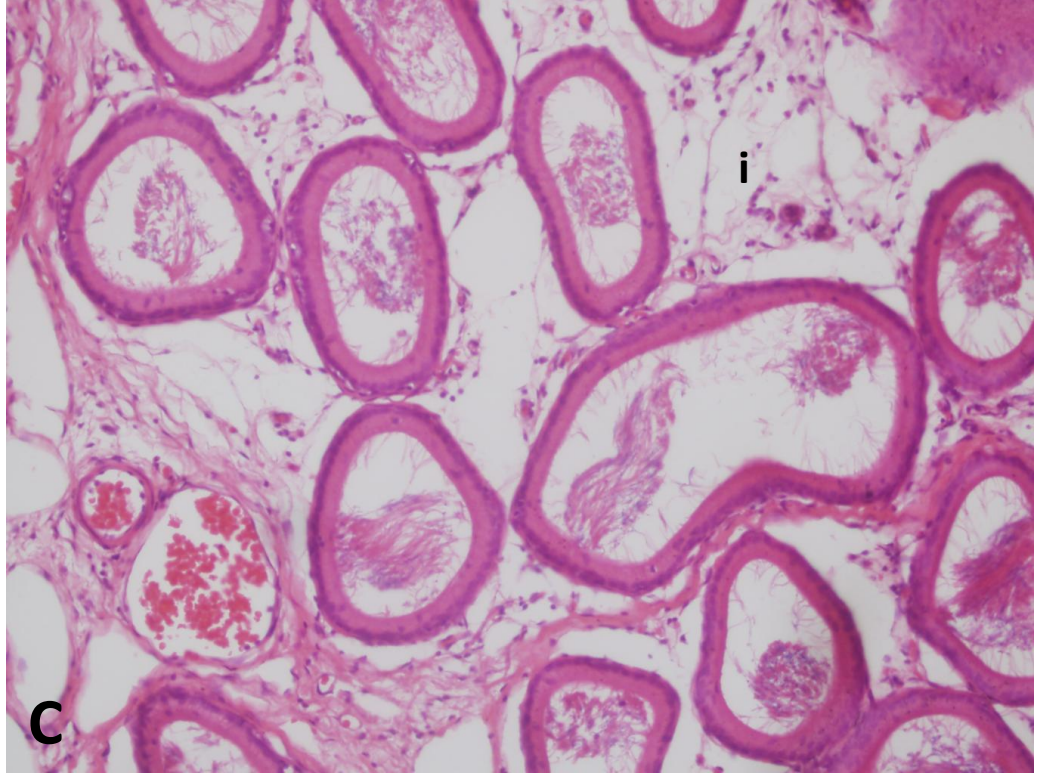




**Şekil 3-1:** Grup I'e (Kontrol Grubu) ait histolojik kesitinde (A, B, C, D) Epitel (ep), Stereosilya (st), İntersitisyum (i), Spermium (sp). Hematoksilen Eozin boyama; Büyütme Ax10, Bx20, Cx40, Dx100.

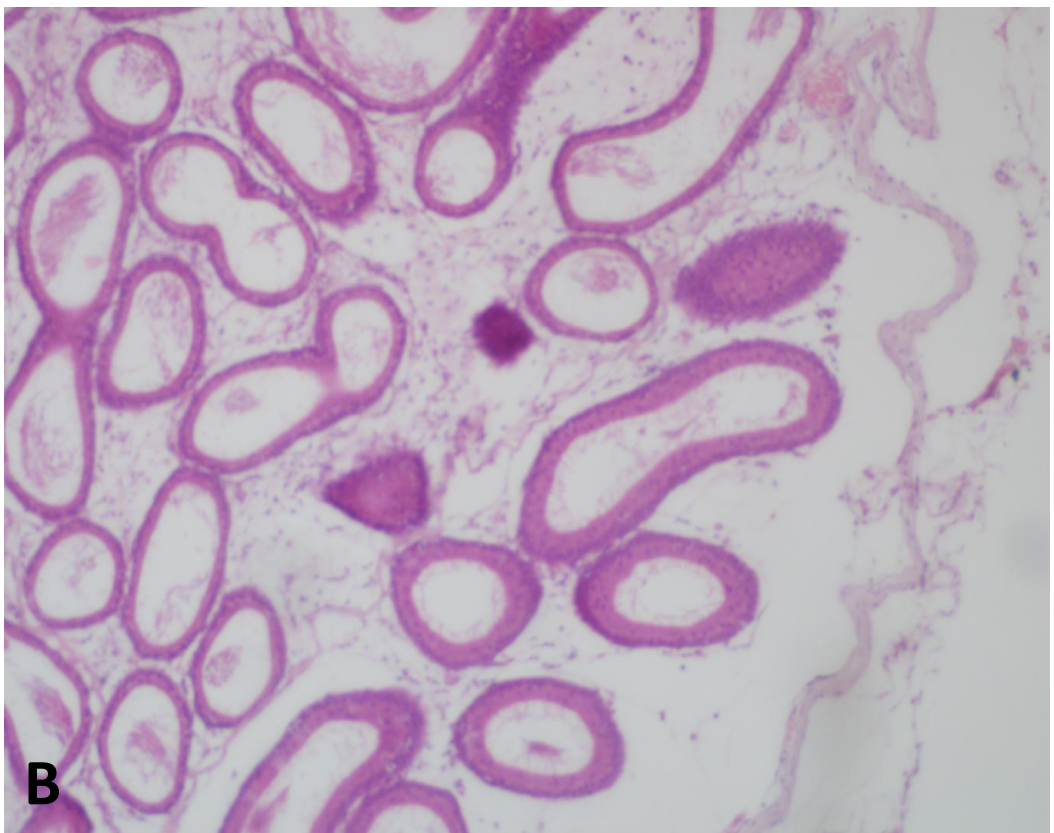
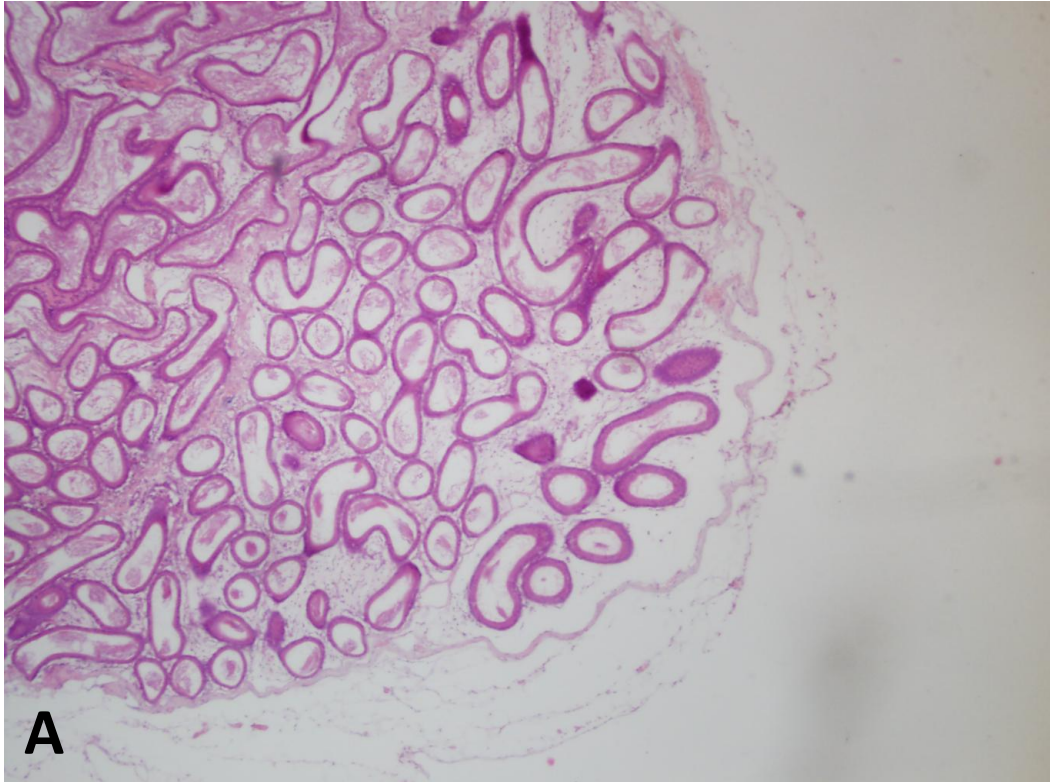
Grup II'ye (Diyabet grubu) ait epididimis histolojik kesitlerde, küçük büyültmede intrsitsiyel alanda bağ dokusu artışı gözlenmekteydi. Büyük büyültmede duktus epitelinin apikal yüzeyinde stereosilyalarda kayıp dikkat çekiciydi. Duktusların lümeni spermatozoa içermekteydi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, intersitsiyel alanda fibrozis ve hafif hiperami ve kapsülde kalınlaşma olduğu saptandı. Ayrıca dokuda inflamasyonda gözlendi (Şekil 3-2).

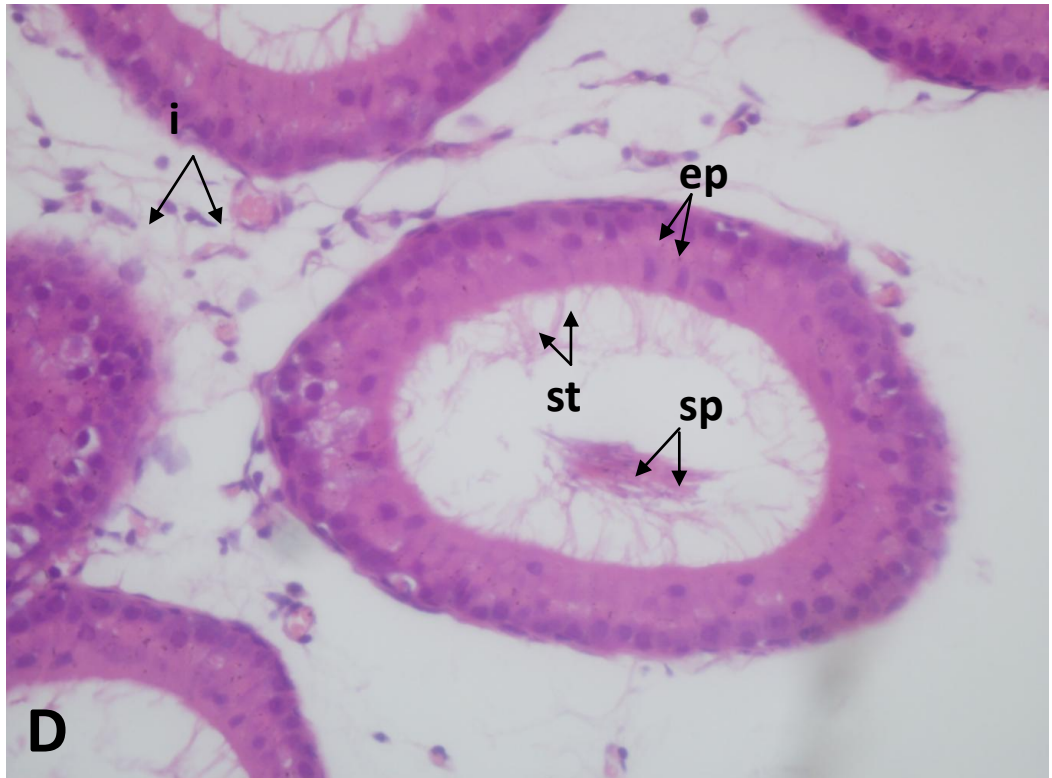
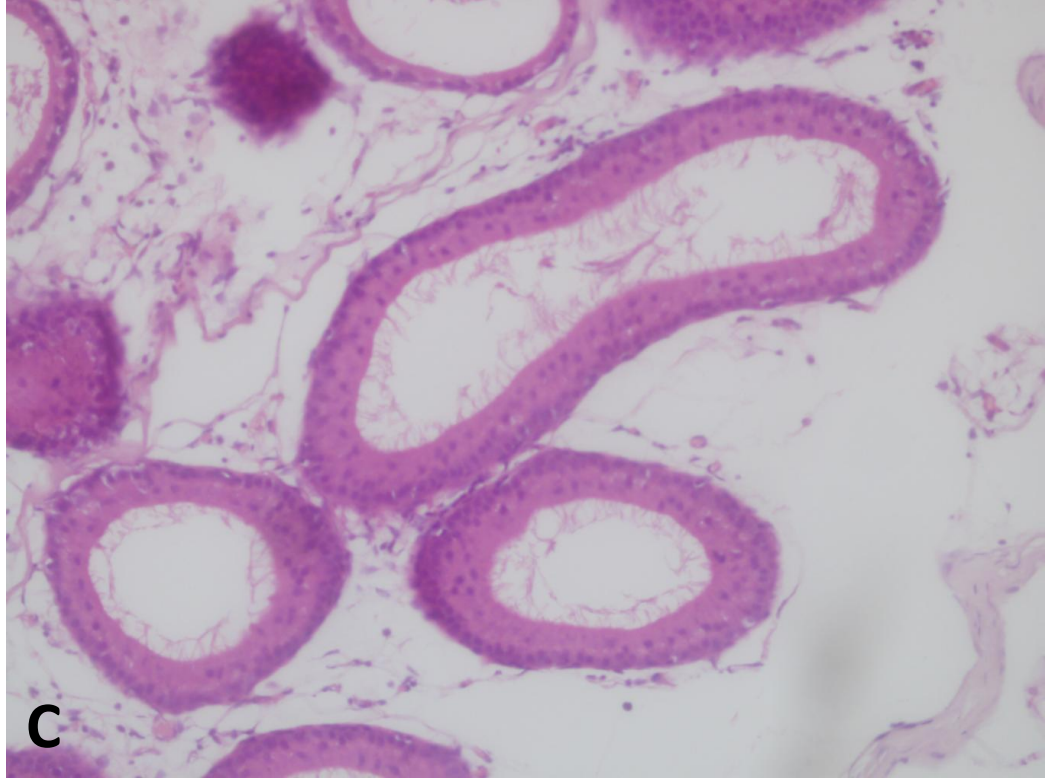




**Şekil 3-2:** Grup II'ye (Diyabet Grubu) ait histolojik kesitinde (A, B, C, D) Epitel (ep), Stereosilya (st), İntersitium (i), Spermium (s). Hematoksilen Eozin boyama; Büyütme Ax10, Bx20, Cx40, Dx100.

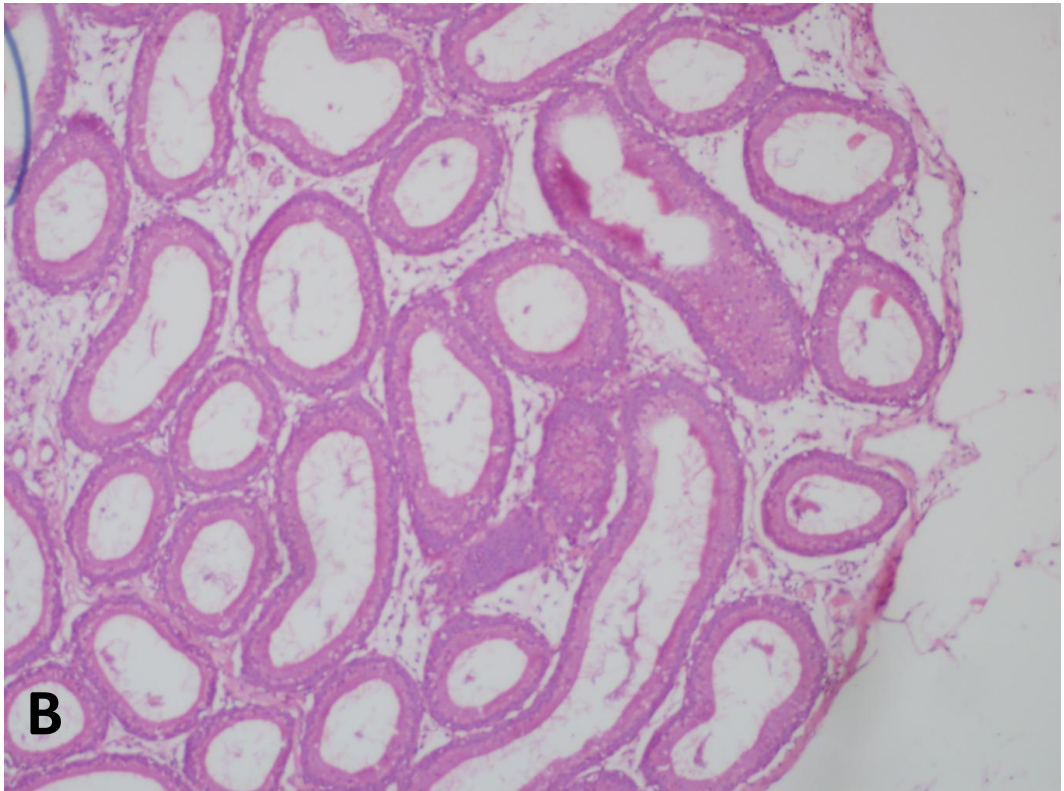
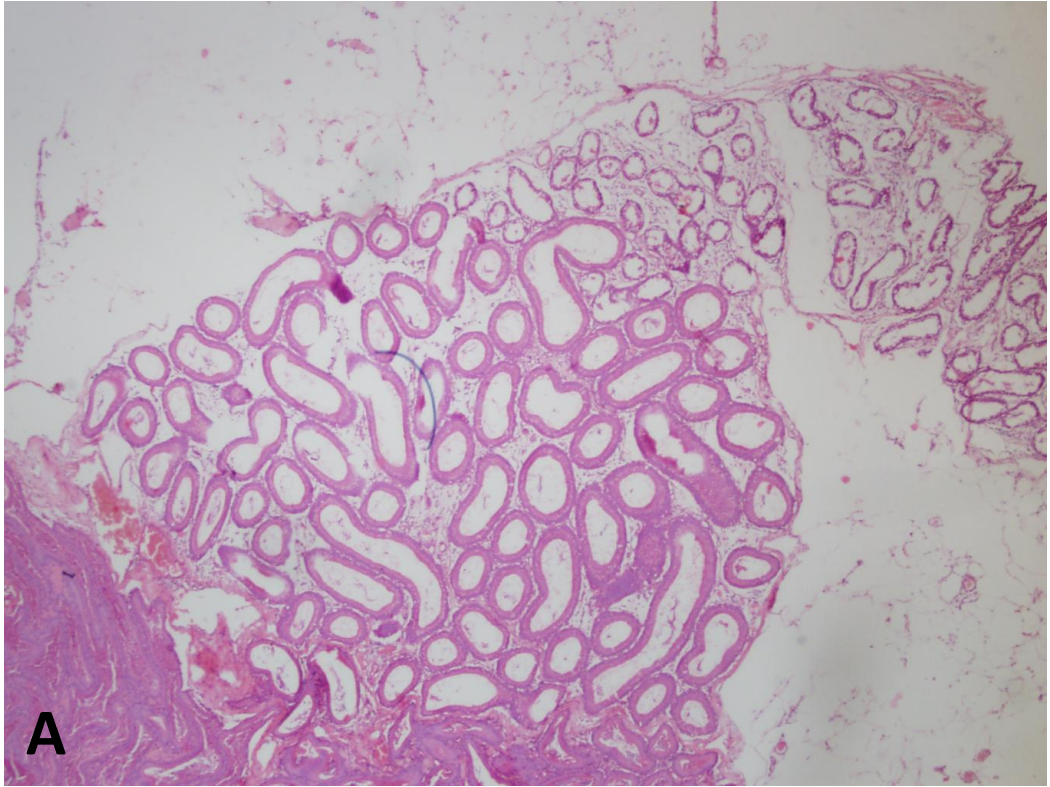
Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit Grubu) ait epididimis histolojik kesitlerde, stereosilyalarda diyabet grubuna göre daha az dökülme gözlenirken, kapsülde kalınlaşma izlenmedi. Yine diyabet grubuna göre, intersitisyel alanda fibrozis ve inflamasyonda azalma saptanırken hiperami görülmedi (Şekil 3-3).

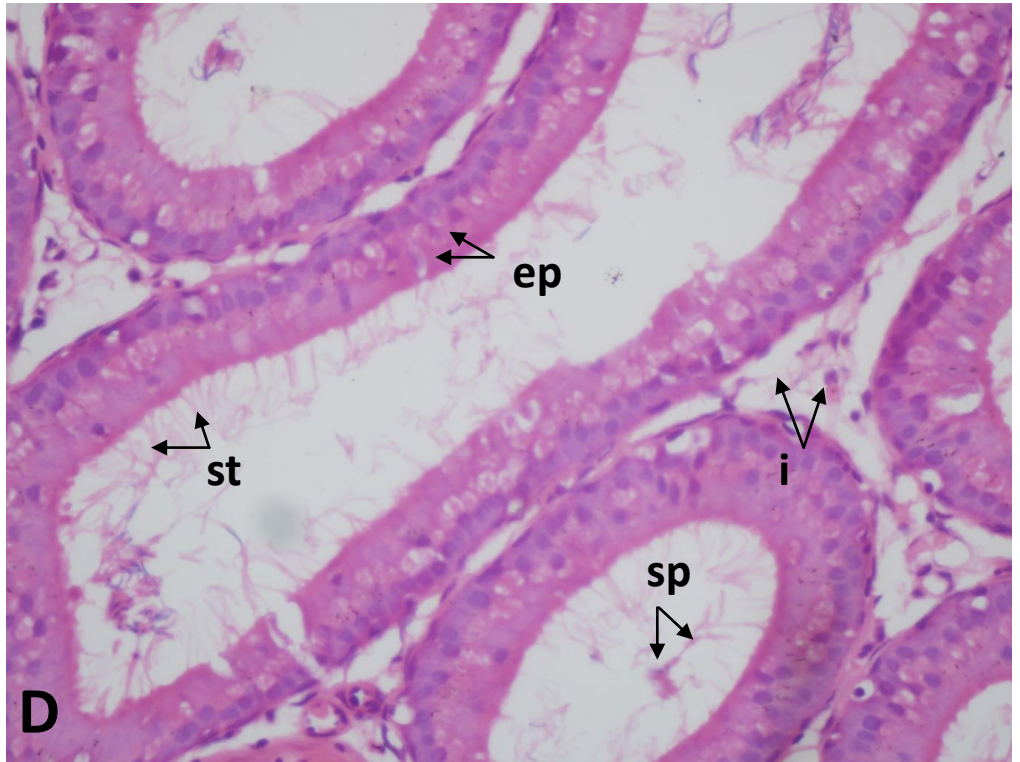
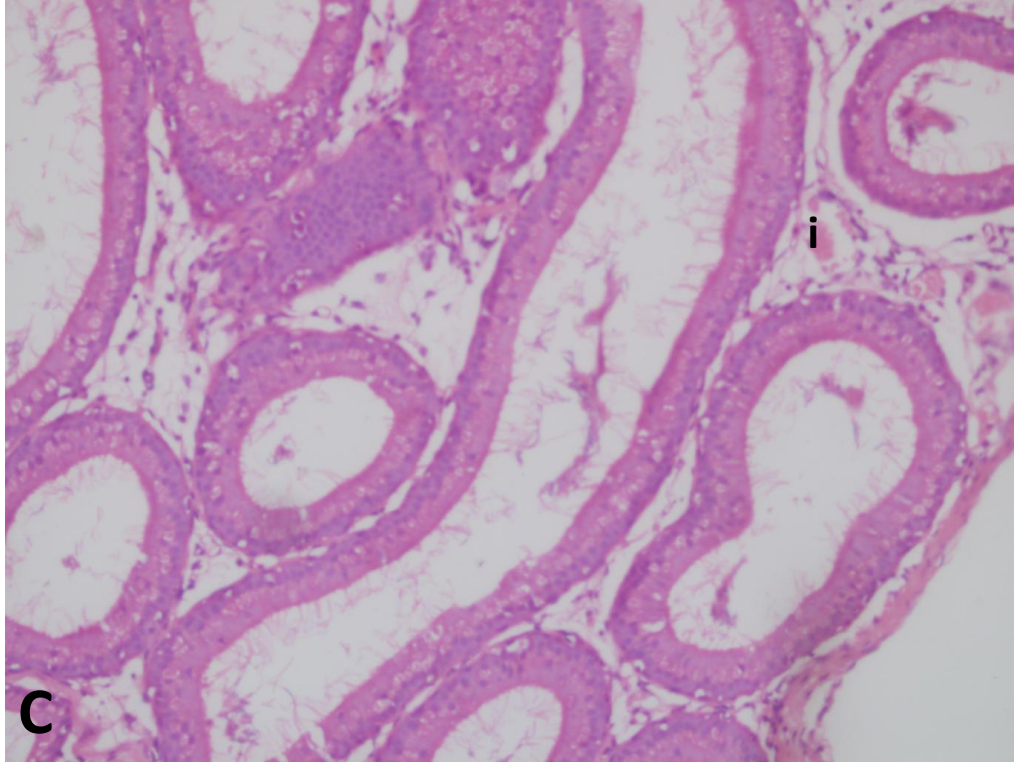




Şekil 3-3: Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ait histolojik kesitinde (A, B, C, D) Epitel (ep), Stereosilya (st), İntersitisyum (i), Spermiyum (sp). Hematoksilen Eozin boyama; Büyütme Ax10, Bx20, Cx40, Dx100.

Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin Grubu) ait epididimis histolojik kesitlerde, stereosilyalarda diyabet grubuna göre daha az dökülme gözlenirken, kapsülde kalınlaşma izlenmedi. Yine diyabet grubuna göre, intersitisyel alanda fibrozis ve inflamasyonda azalma saptanırken hiperami görülmedi (Şekil 3-4).

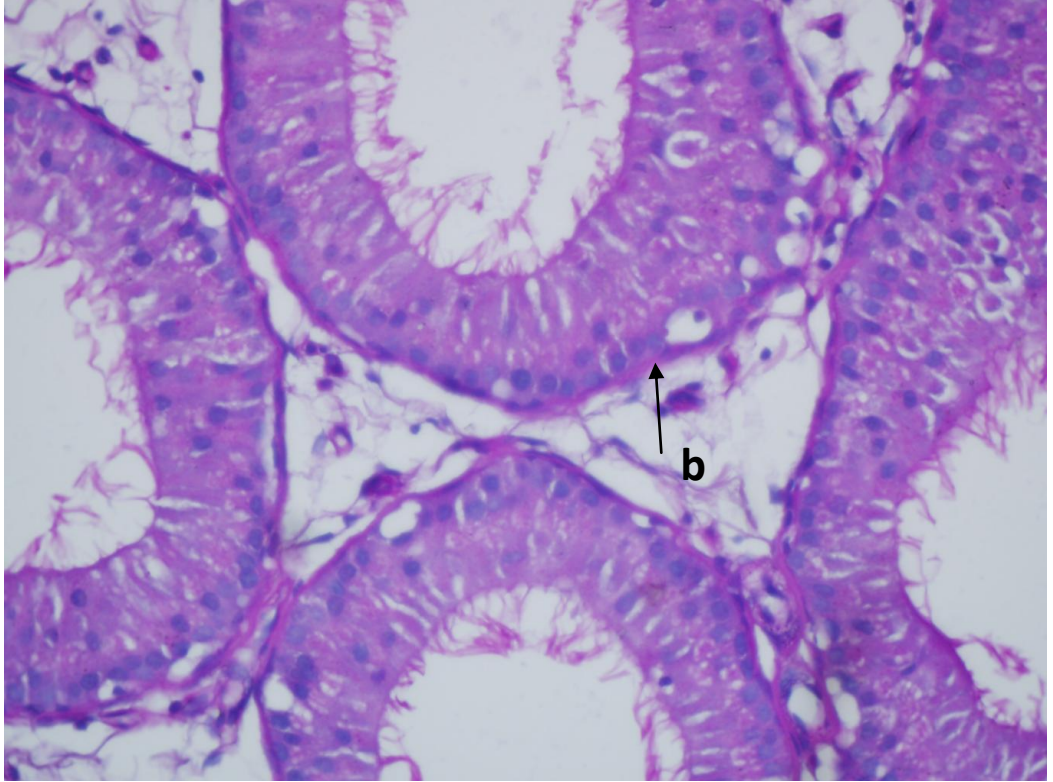




**Şekil 3-4:** Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait histolojik kesitinde (A, B, C, D) Epitel (ep), Stereosilya (st), intersitisyum (i), Spermium (sp). Hematoksilen Eozin boyama; Büyütme Ax10, Bx20, Cx40, Dx100.

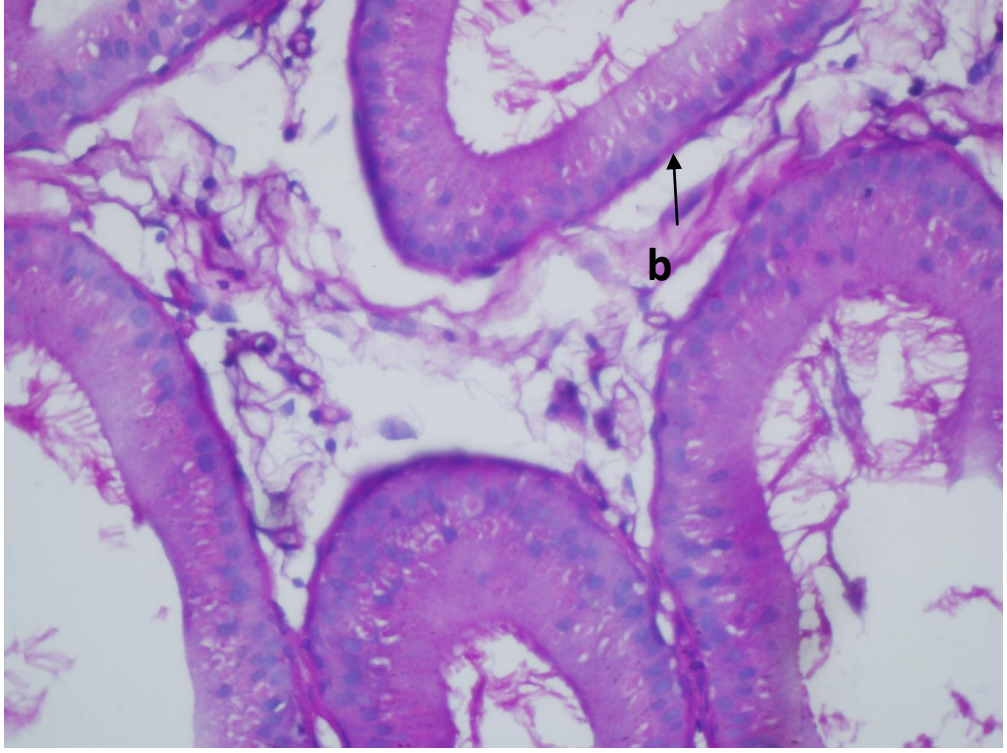
### 3.1.1.2. PAS Bulguları

PAS (Periodic Acid Schiff) boyama yapılmış olan Grup I'e (Kontrol grubu) ait testis histolojik kesitlerinde mavi boyanmış nükleusları ile epitel normal histolojik yapıda izlenmiştir. PAS (+) reaksiyon veren ve daha açık renkte boyanan interstisyum ile morumsu pembe renkte boyanan tübüllerin sınırlarının düzgün olduğu ve tübüllere ait bazal membranların bütünlüğünün korunduğu normal histolojik yapıda oldukları görülmüştür (Şekil 3-5).



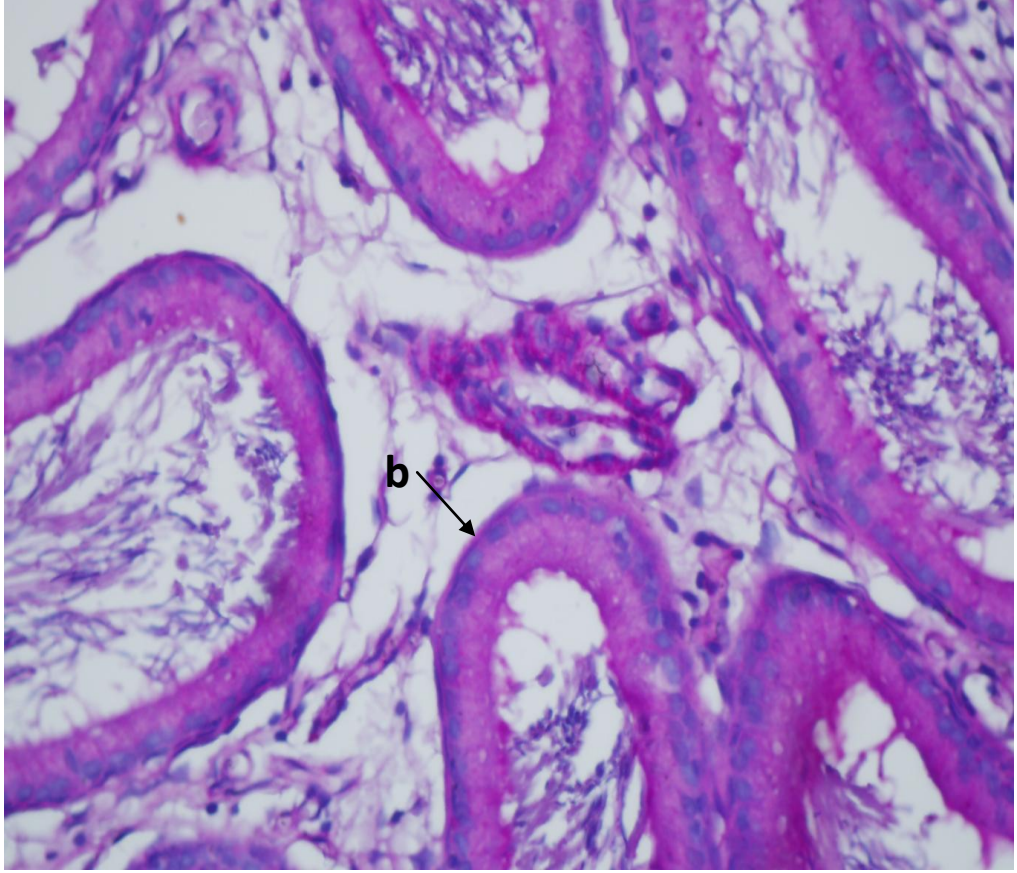
Şekil 3-5: Grup I'e (Kontrol Grubu) ait epididimis histolojik kesitinde PAS boyamasında bazal lamina (b) görülmektedir. PAS boyama; büyütme x40.

Grup II'ye (Diyabet) ait histolojik kesitler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tübül sınırlarının düzgün olduğu, bazal membran bütünlüğü ise korunmuş ancak kalınlaşmış olduğu görülmüştür (Şekil 3-6).



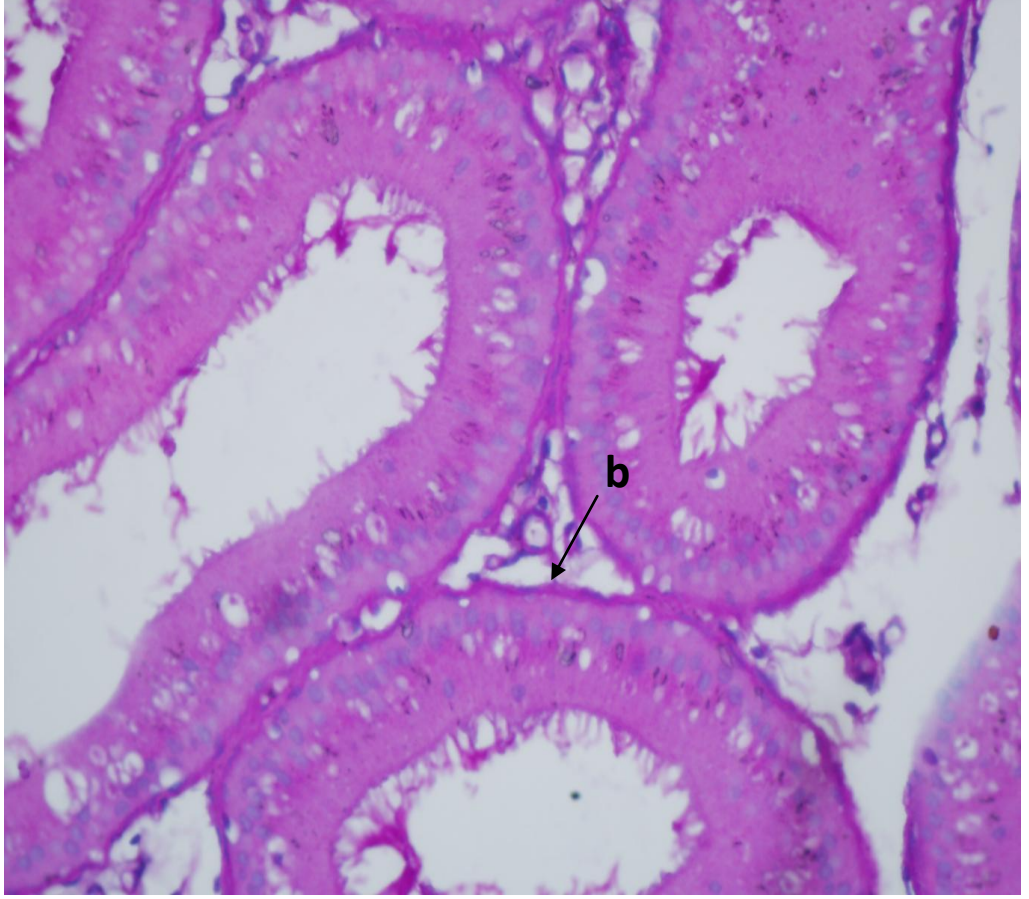
**Şekil 3-6:** Grup II'ye (Diyabet Grubu) ait epididimis histolojik kesitinde PAS boyamasında bazal lamina (b) görülmektedir. PAS boyama; büyütme x40.

Grup III (Diyabet + Gallik Asit) ait histolojik kesitlerde ise yine tübül sınırlarının düzgün olduğu izlenirken, bazal membran kalınlığının kontrole yakın olduğu görülmüştür (Şekil 3-7).



**Şekil 3-7:** Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ait epididimis histolojik kesitinde PAS boyamasında bazal lamina (b) görülmektedir. PAS boyama; büyütme x40.

Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait histolojik kesitlerde ise yine tübül sınırlarının düzgün olduğu izlenirken, bazal membran kalınlığının diyabete yakın olduğu görülmüştür

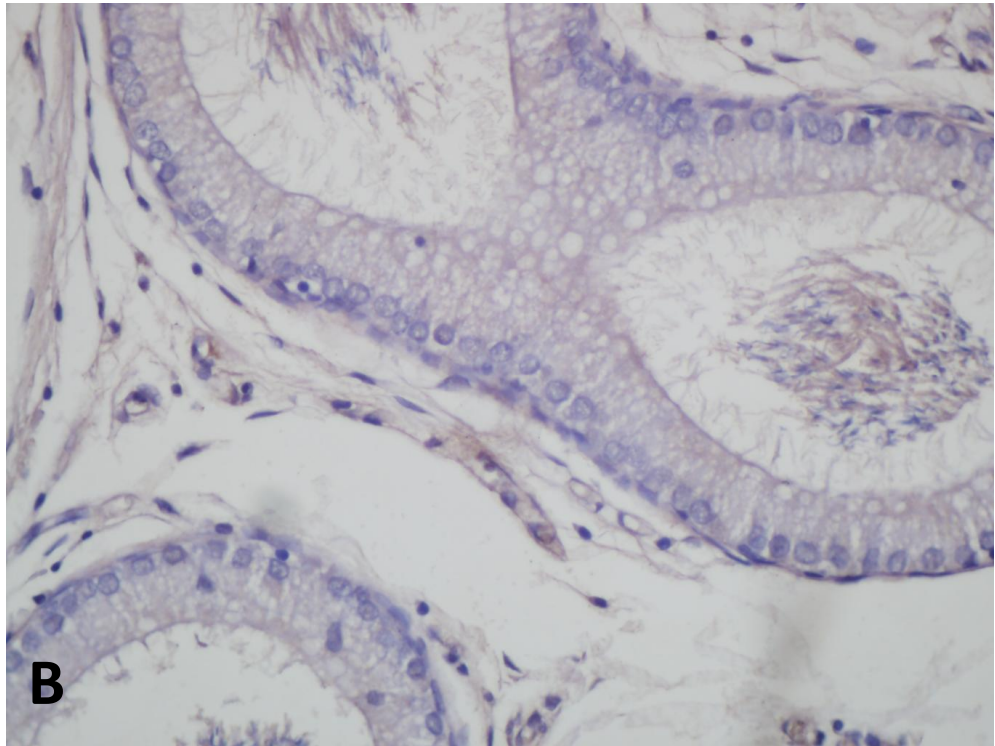
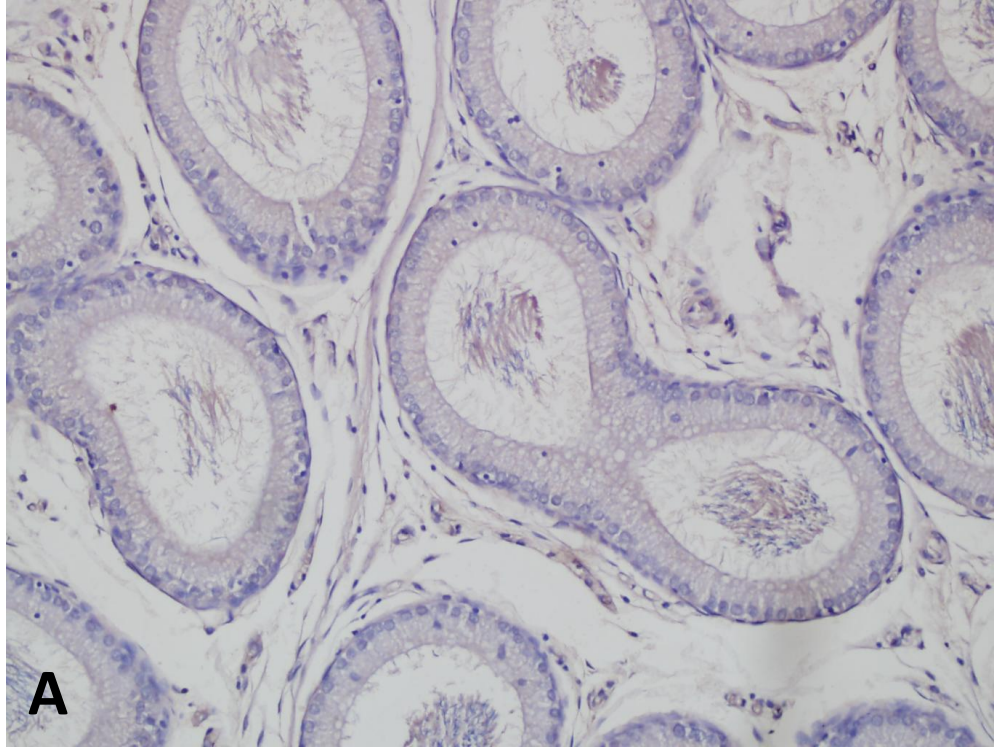


**Şekil 3-8:** Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait epididimis histolojik kesitinde PAS boyamasında bazal lamina (b) görülmektedir. PAS boyama; büyütme x40.

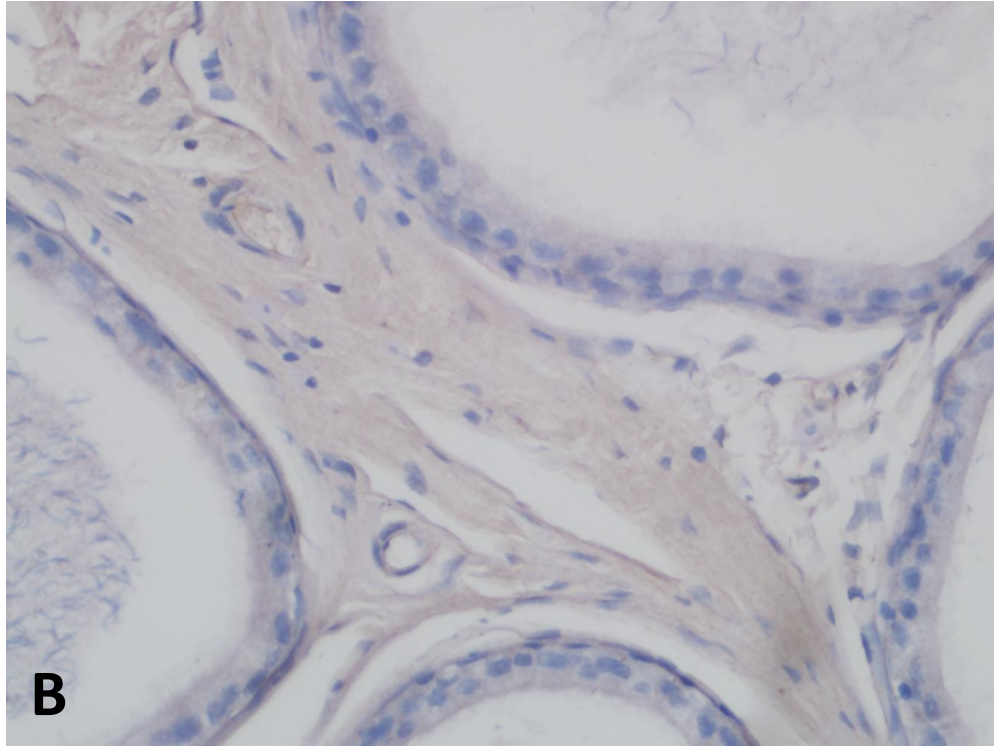
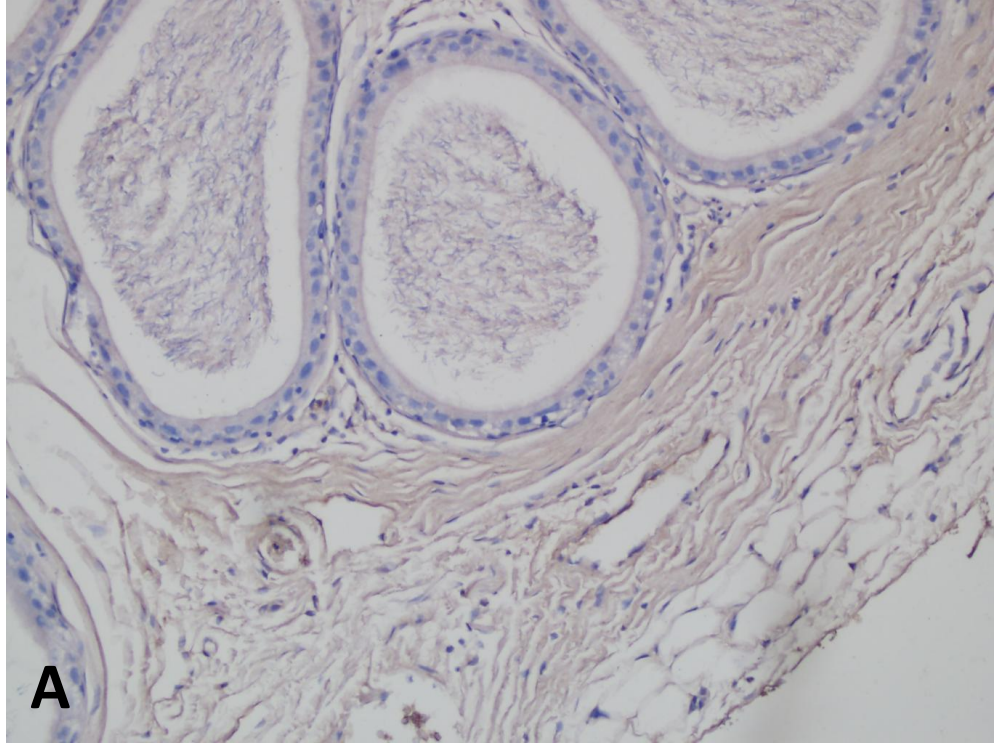
### **3.1.2. İmmünohistokimyasal Bulgular**

#### **3.1.2.1. iNOS İmmünoreaktivitesi**

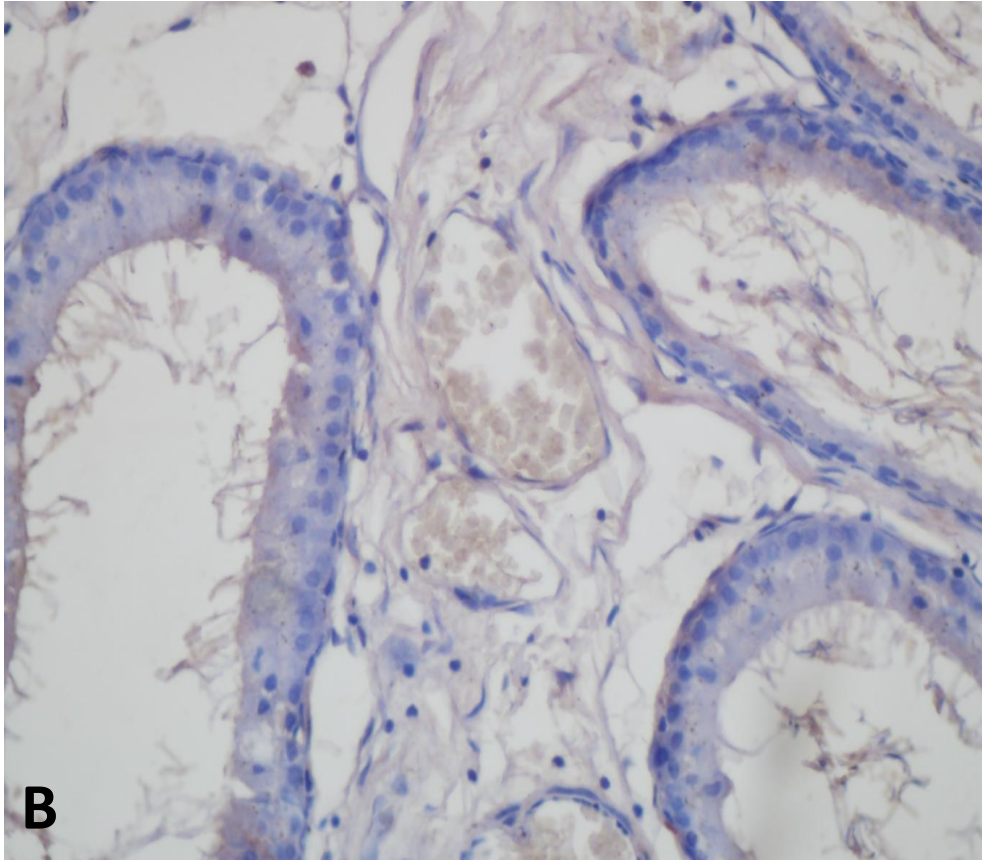
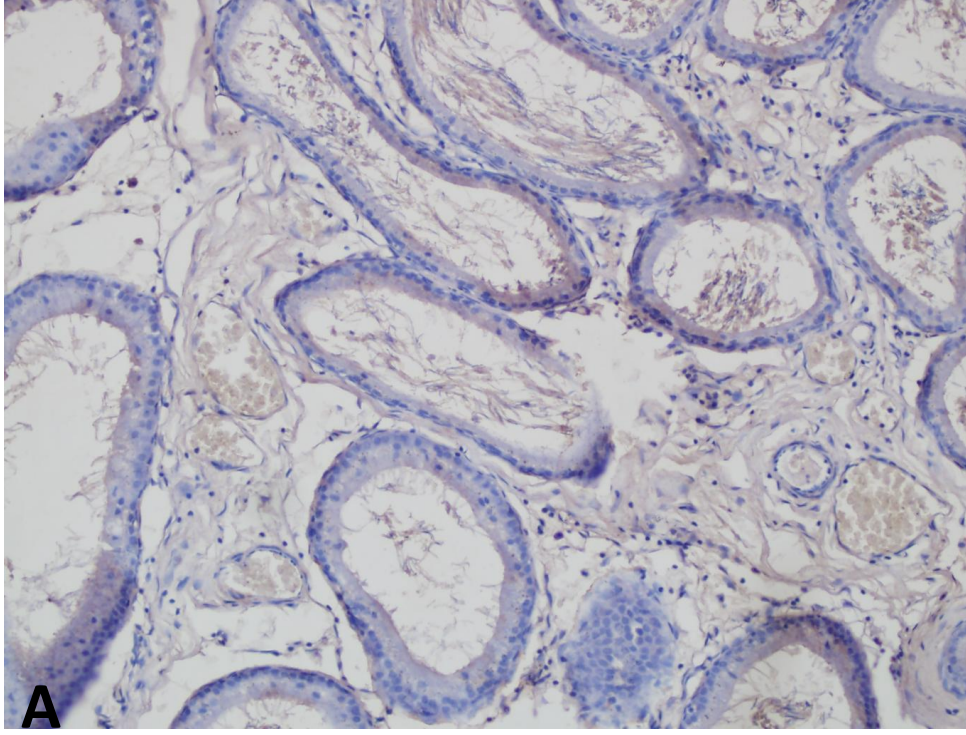
Grup I'e (Kontrol) ait epididimisler incelendiğinde epitel hücreleri, vasküler endotelyal hücreleri ve kas hücrelerinde zayıf (+) iNOS ekspresyonu saptandı. Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde epitel ve endotel hücrelerinde ayrıca kas hücrelerinde kuvvetli (+++) iNOS ekspresyon saptandı. Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ve Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait epididimislerde ise epitel ve endotel hücrelerinde orta düzeyde (++) iNOS ekspresyonu saptandı. Ayrıca Grup III ve Grup IV'e ait kesitlerde tüplerdeki miyoepitel hücrelerinde orta düzeyde (++) ekspresyon gözlemlendi.



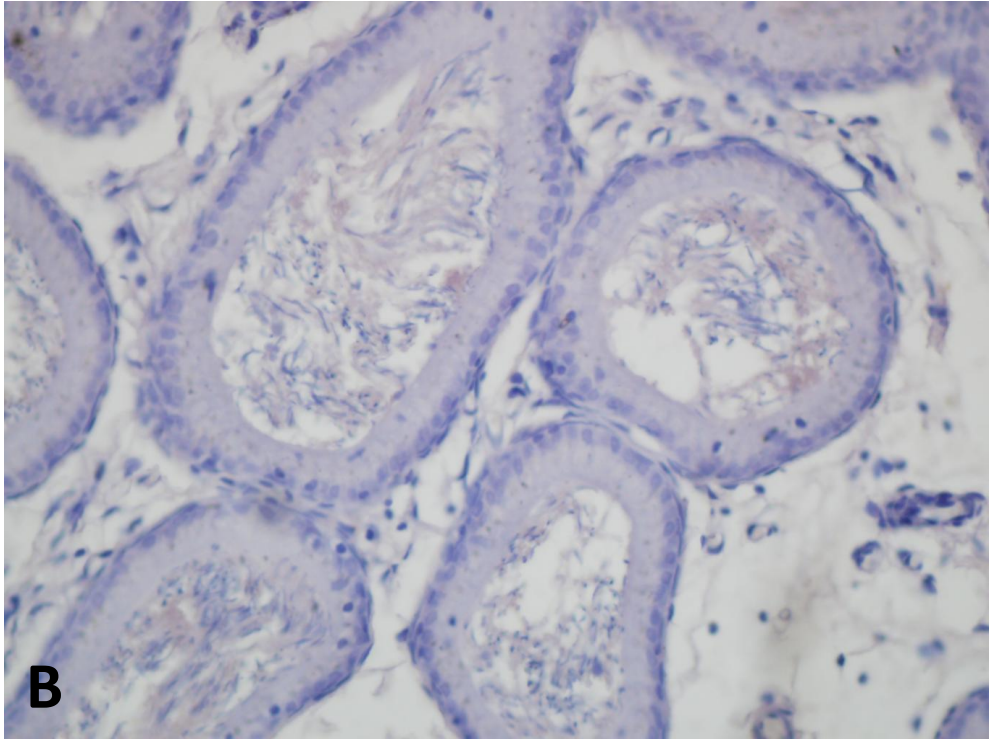
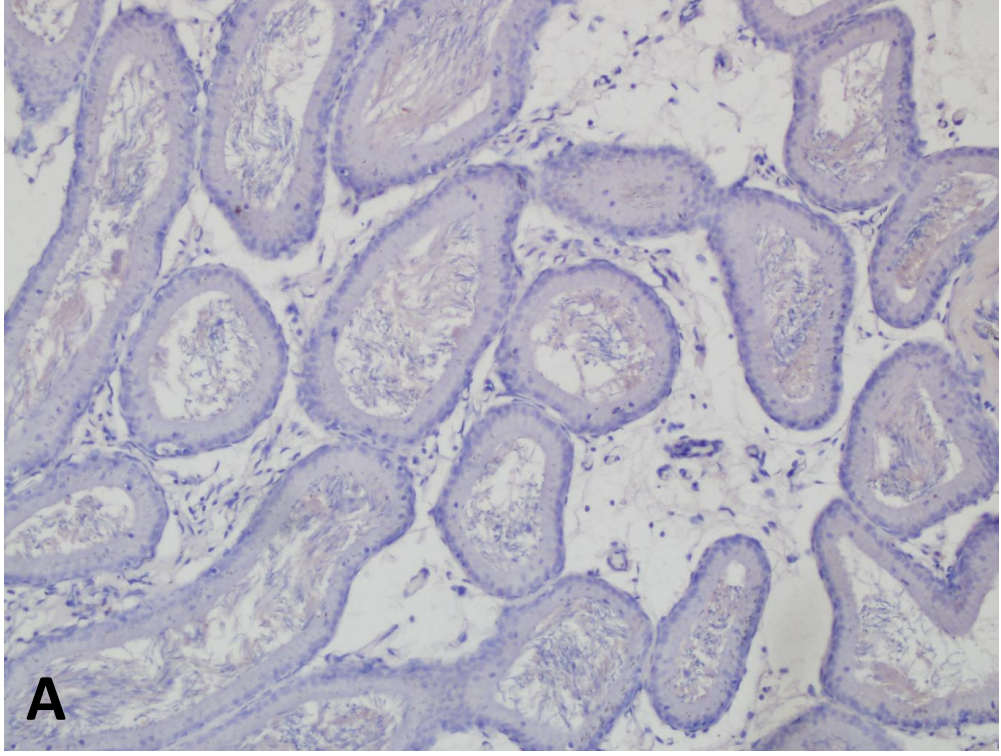
**Resim 3-9:** iNOS immunoreaktivitesi Grup I'e (Kontrol) ait epididimlerde görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40).



**Resim 3-10:** iNOS immunoreaktivitesi Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40).



**Resim 3-11:** iNOS immunoreaktivitesi Grup III'e (Diyabet + GAL) ait epididimislerde görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40).



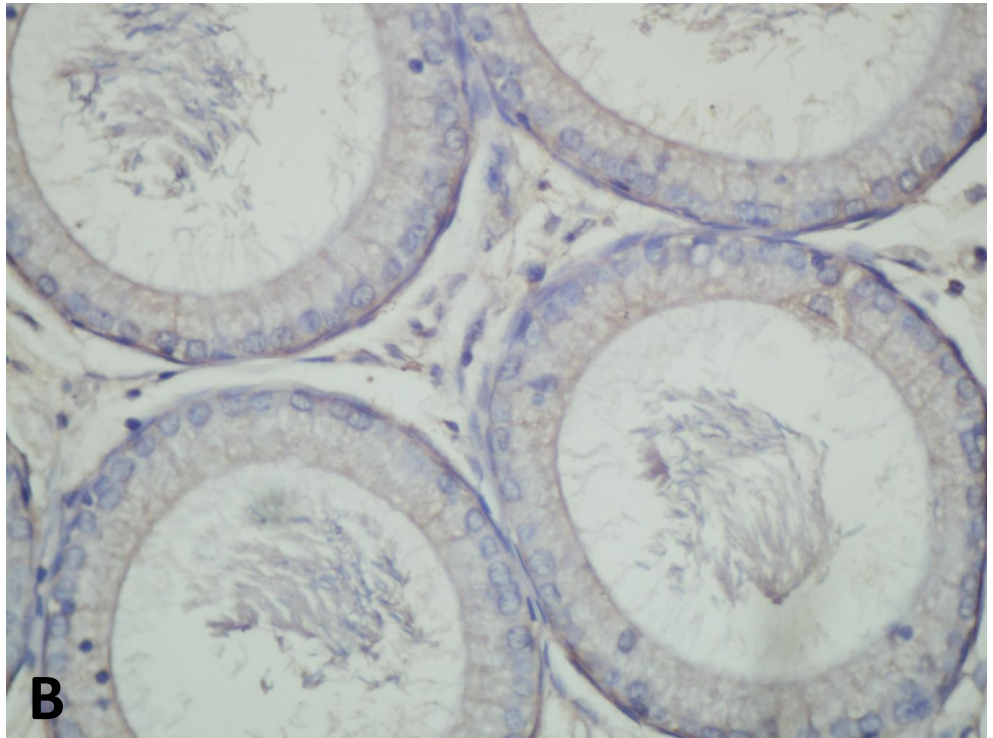
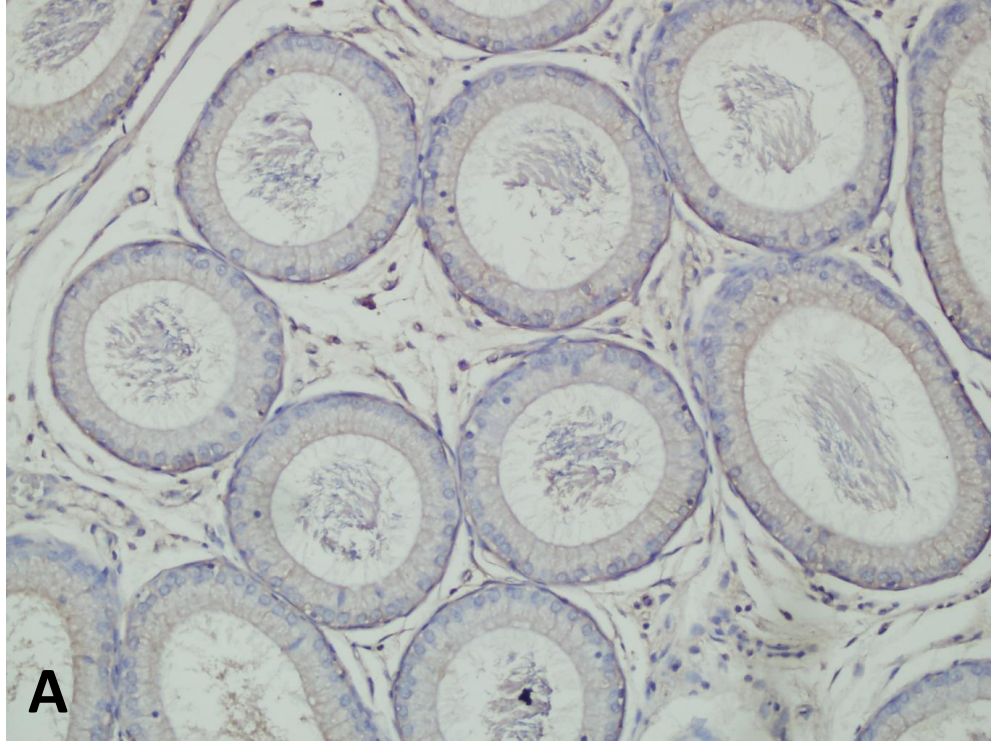
**Resim 3-12:** iNOS immunoreaktivitesi Grup IV'e (Diyabet + AGO) ait epididimislerde görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40).

İmmuno reaktivite		Yaklaşık (~) % immunoreaktif (+) hücre yüzdesi ve ifadenme şiddetleri															
		Epitel Hücreler				Spermiyum				İnterstisyel Hücreler				Damar Endotel Hücreleri			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
iNOS	Kontrol	~% 80	~% 20	-	-	~% 22	~% 30	~% 40	~% 8	~% 50	~% 28	~% 22	-	-	-	-	-
	DM	-	~% 40	~% 50	~% 10	-	~% 5	~% 10	~% 85	-	-	~% 5	~% 90	-	-	-	-
	AGO	~% 60	~% 40	-	-	~% 5	~% 50	~% 30	~% 15	~% 40	~% 38	~% 22	-	-	-	-	-
	GAL	~% 70	~% 30	-	-	~% 16	~% 25	~% 41	~% 18	~% 30	~% 45	~% 22	~% 3	-	-	-	-

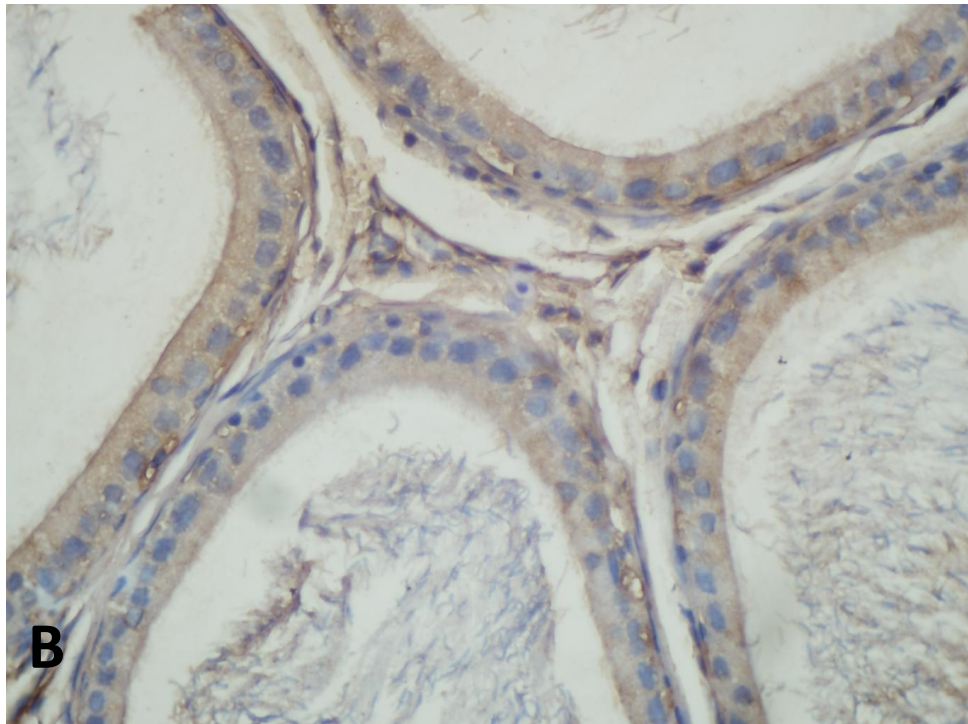
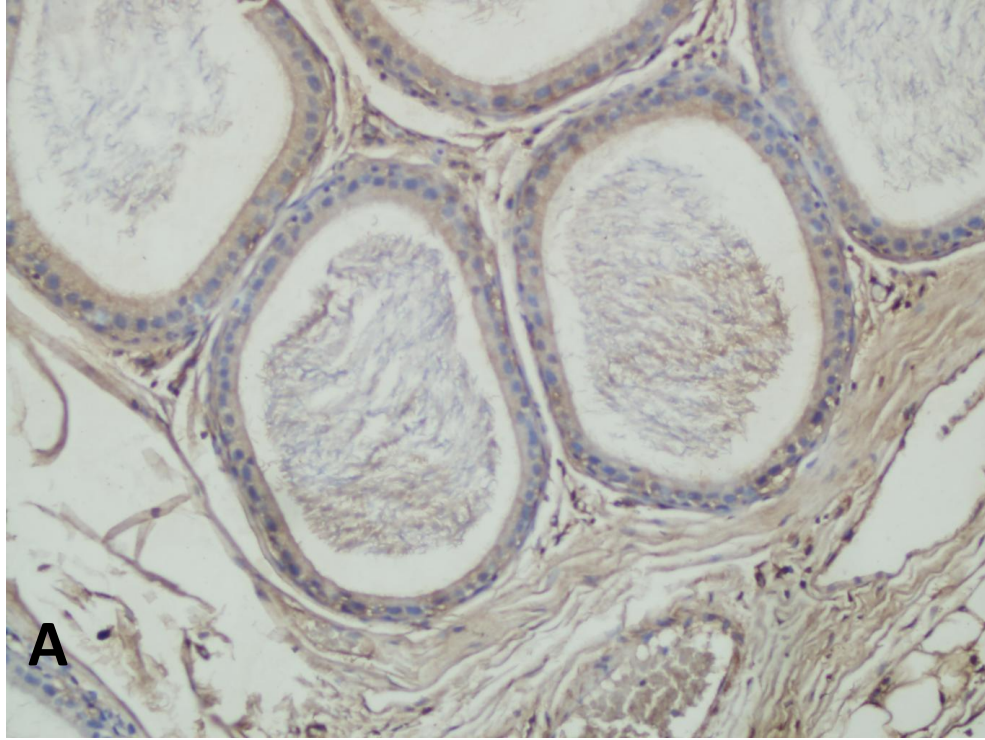
**Tablo 0-5:** Epididimise ait kesitlerde iNOS immunohistokimyasal immunoreaktivitesi (+) hücre sayısı yüzdeleri ile ifade şiddetleri (-: Boyanmamış; (+)1: Zayıf boyanmış; (+)2: Orta derecede boyanmış; (+)3: Güçlü boyanmış).

### 3.1.2.2. Vegf İmmünoreaktivitesi

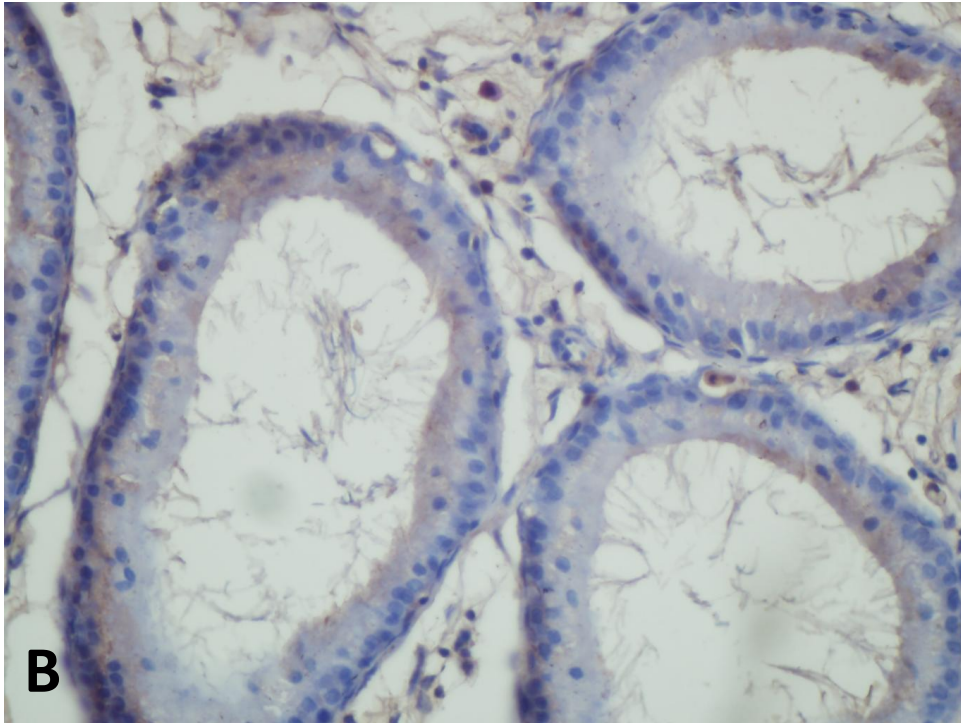
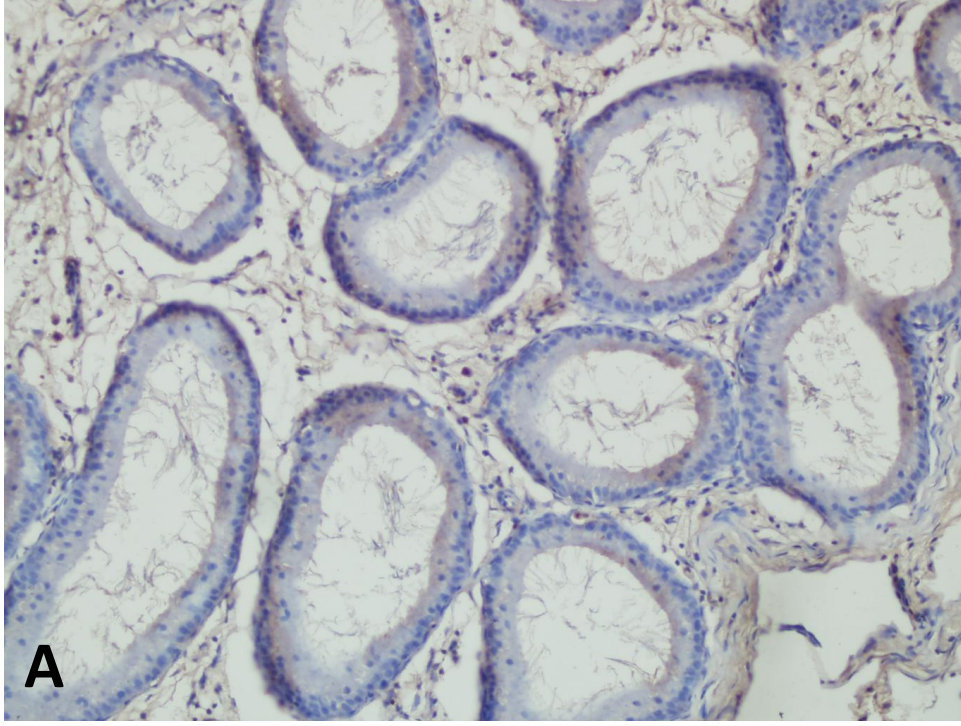
Grup I'e (Kontrol) ait epididimisler incelendiğinde damarlarda zayıf Vegf ekspresyonu saptandı. Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde damarlarda kuvvetli Vegf ekspresyonu saptandı. Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ve Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait epididimislerde damarlarda orta (++) düzeyde Vegf ekspresyonu saptandı.



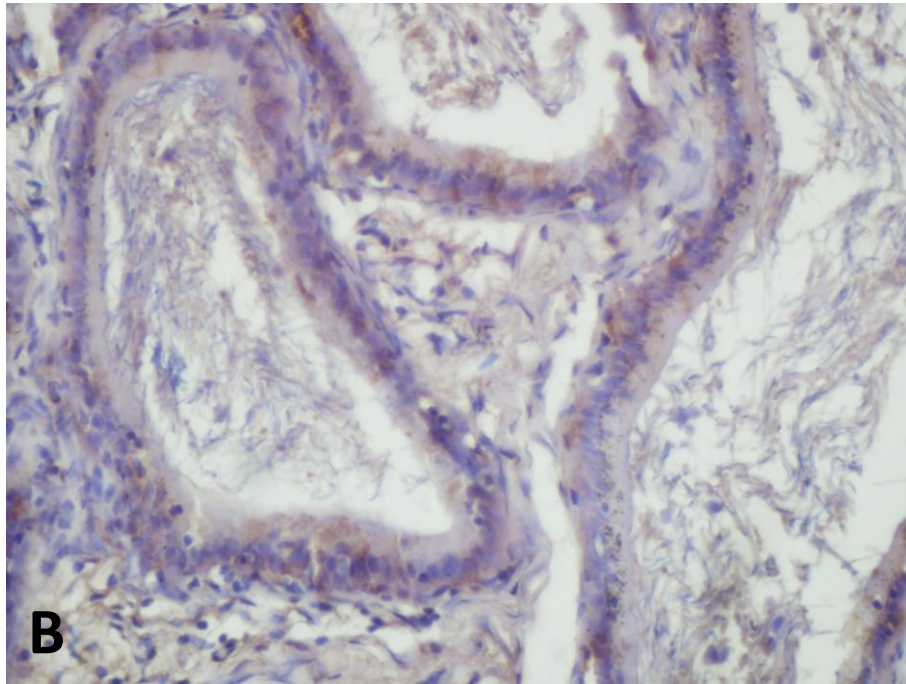
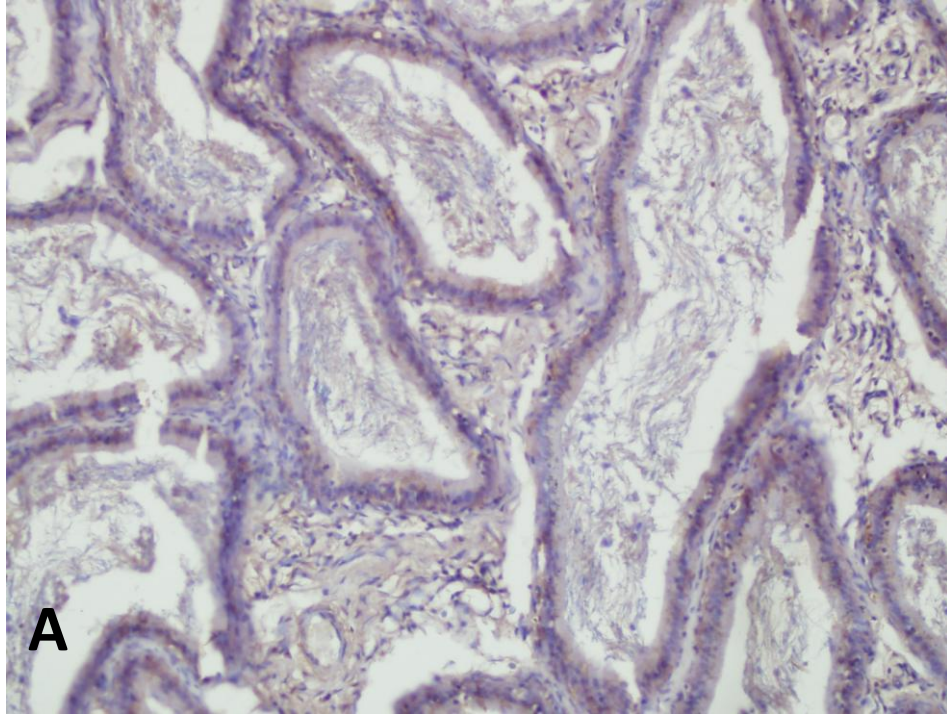
**Resim 3-13:** VEGF immunoreaktivitesi Grup I'e (Kontrol) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).



**Resim 3-14:** VEGF immunoreaktivitesi Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).



**Resim 3-15:** VEGF immunoreaktivitesi Grup III'e (Diyabet + GAL) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).



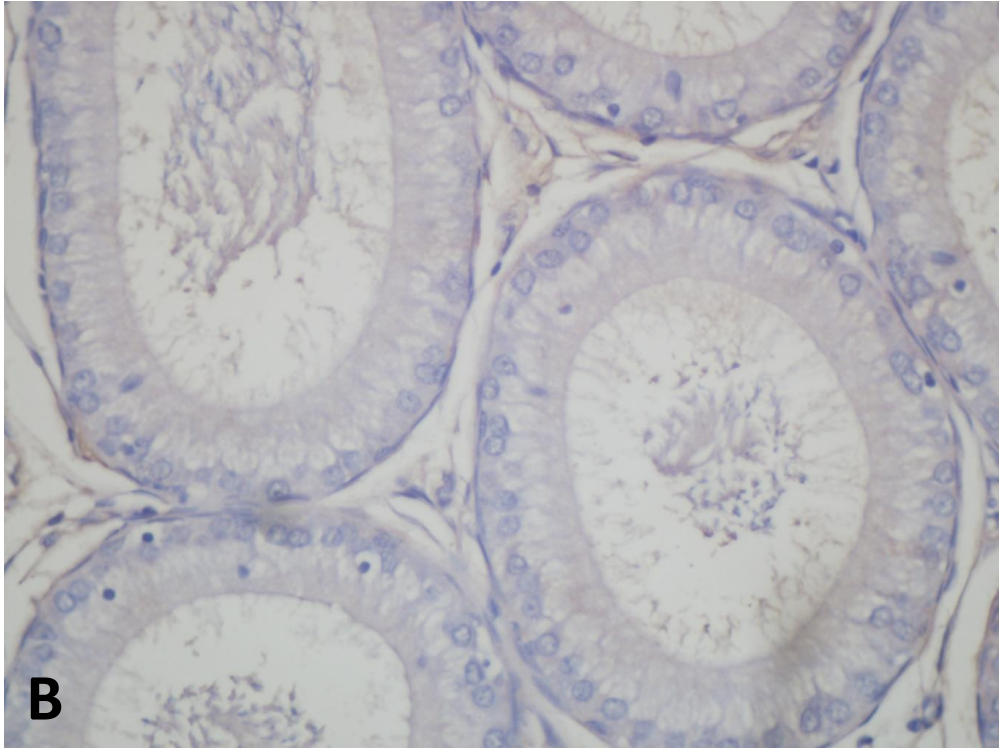
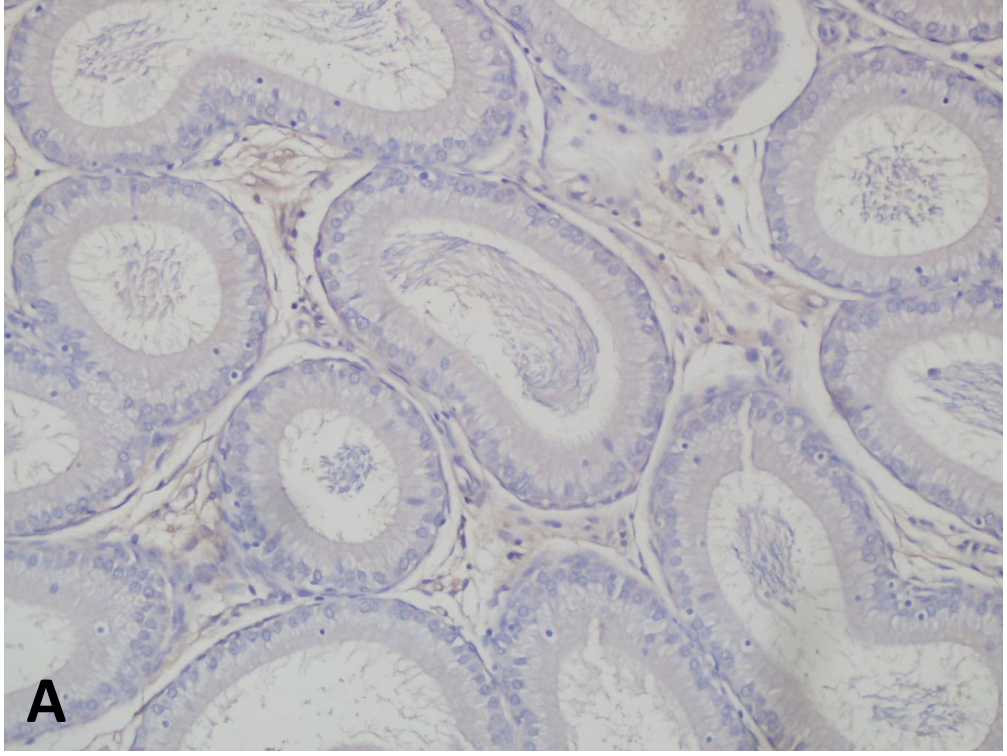
**Resim 3-16:** VEGF immunoreaktivitesi Grup IV'e (Diyabet + AGO) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).

İmmüno reaktivite	Yaklaşık (~) % immunoreaktif (+) hücre yüzdesi ve ifadenme şiddetleri																		
	Epitel Hücreler				Spermiyum				İnterstitiyel Hücreler				Damar Endotel Hücreleri						
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3			
<b>VEGF</b>	Kontrol	~% 61	~% 19	~% 20	-	-	-	-	-	-	-	~% 52	~% 18	~% 20	-	~% 80	~% 11	~% 9	-
	DM	-	~% 18	~% 52	~% 30	-	-	-	-	-	-	~% 5	~% 5	~% 90	-	~% 3	~% 6	~% 91	-
	AGO	~% 60	~% 40	-	-	-	-	-	-	-	-	~% 40	~% 38	~% 22	-	~% 40	~% 31	~% 29	-
	GAL	~% 64	~% 36	-	-	-	-	-	-	-	-	~% 37	~% 40	~% 23	-	~% 35	~% 37	~% 28	-

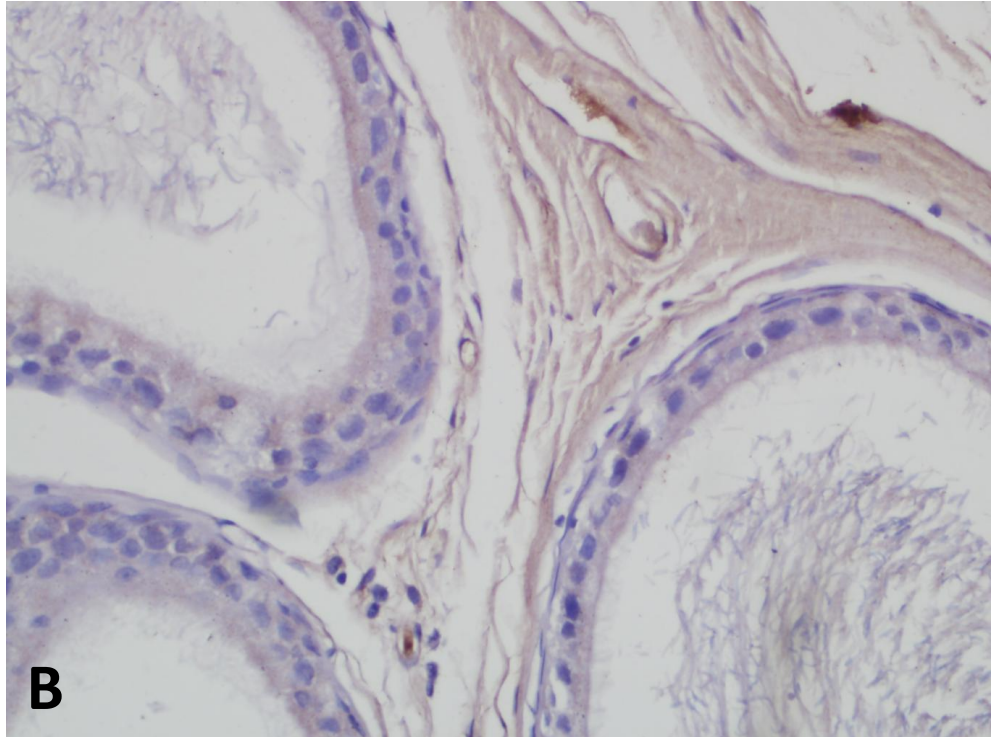
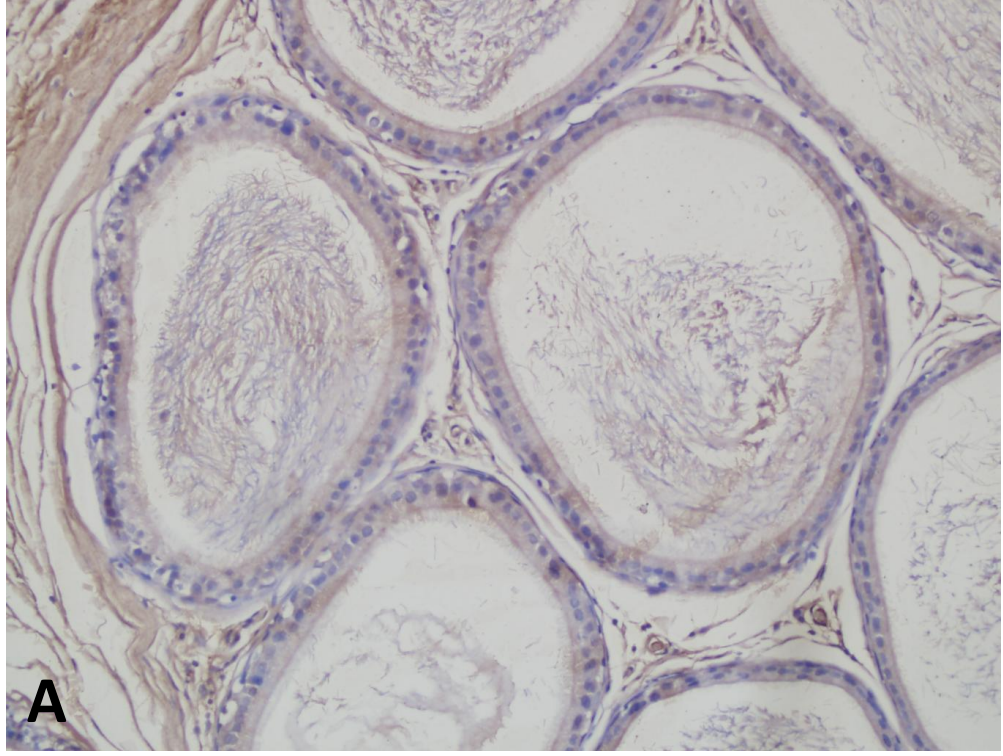
**Tablo 0-6:** Epididimise ait kesitlerde VEGF immunohistokimyasal immunoreaktivitesi (+) hücre sayısı yüzdeleri ile ifade şiddetleri (-: Boyanmamış; (+)1: Zayıf boyanmış; (+)2: Orta derecede boyanmış; (+)3: Güçlü boyanmış).

### 3.1.2.3. TNF- $\alpha$ İmmünoreaktivitesi

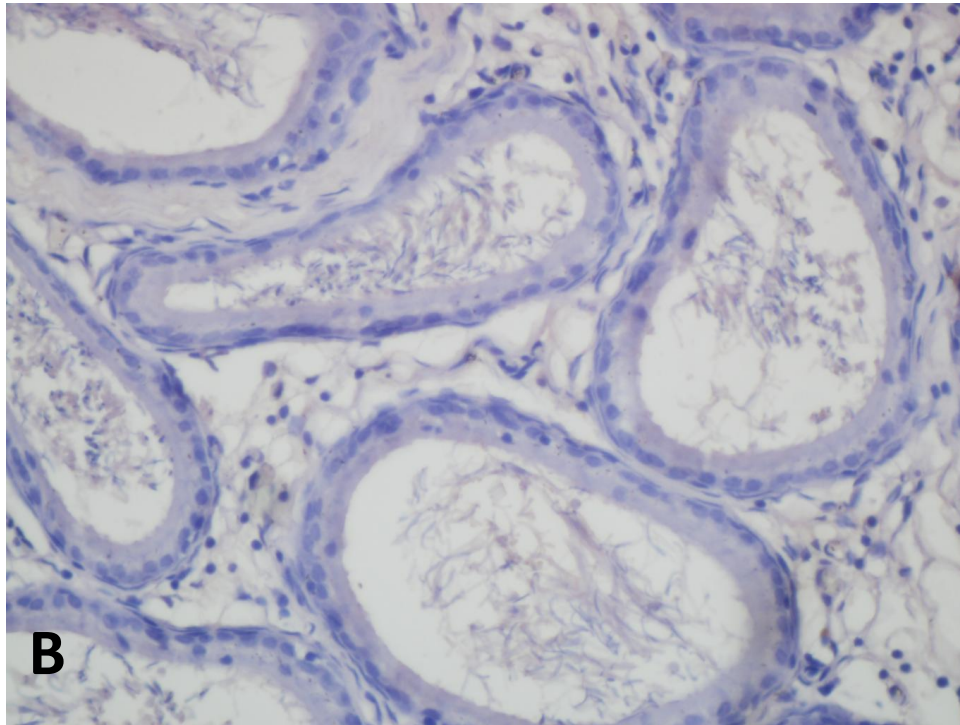
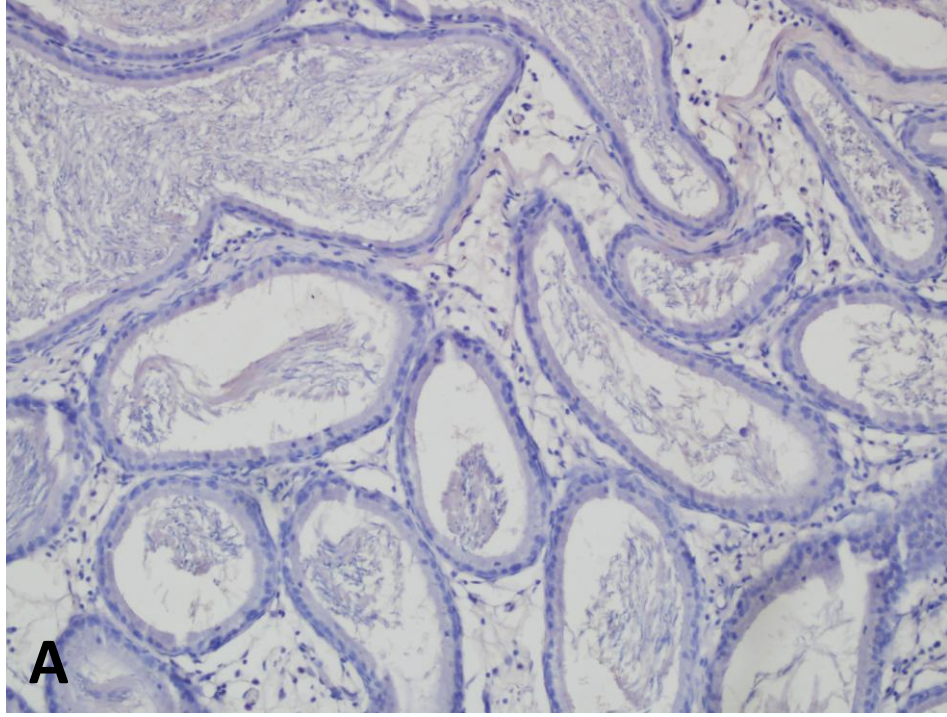
Grup I'e (Kontrol) ait epididimisler incelendiğinde epididimal kanal epiteli ve intersitisyel alanda zayıf (+) TNF- $\alpha$  ekspresyonu saptandı. Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde ise epitelde az ancak intersitisyel alanda kuvvetli (+++) TNF- $\alpha$  ekspresyonu saptandı. Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ve Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait epididimislerde damarlarda orta (++) düzeyde TNF- $\alpha$  ekspresyonu saptandı.



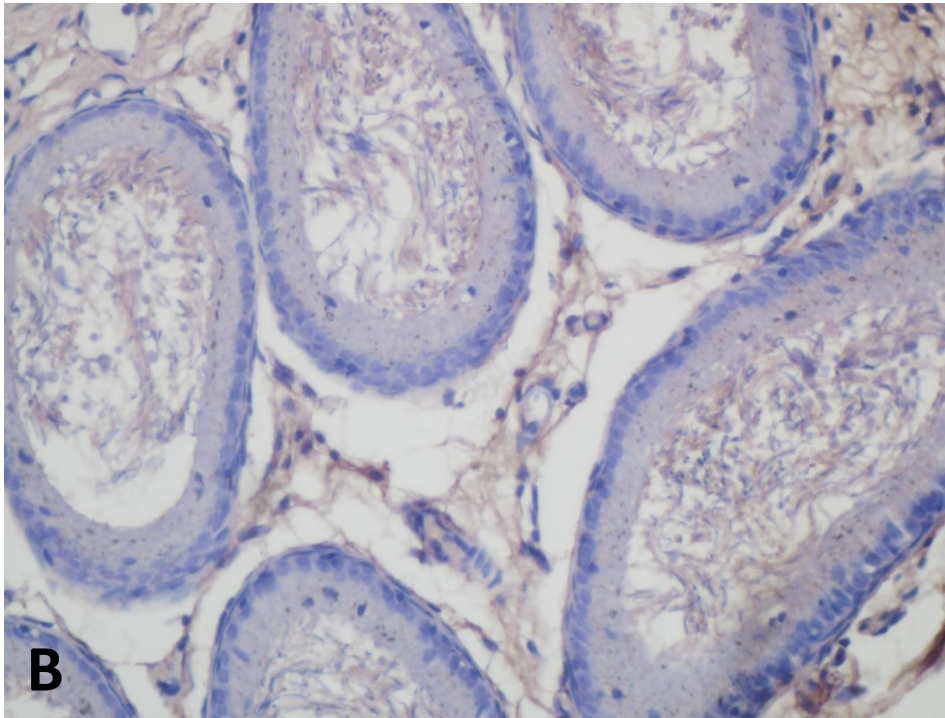
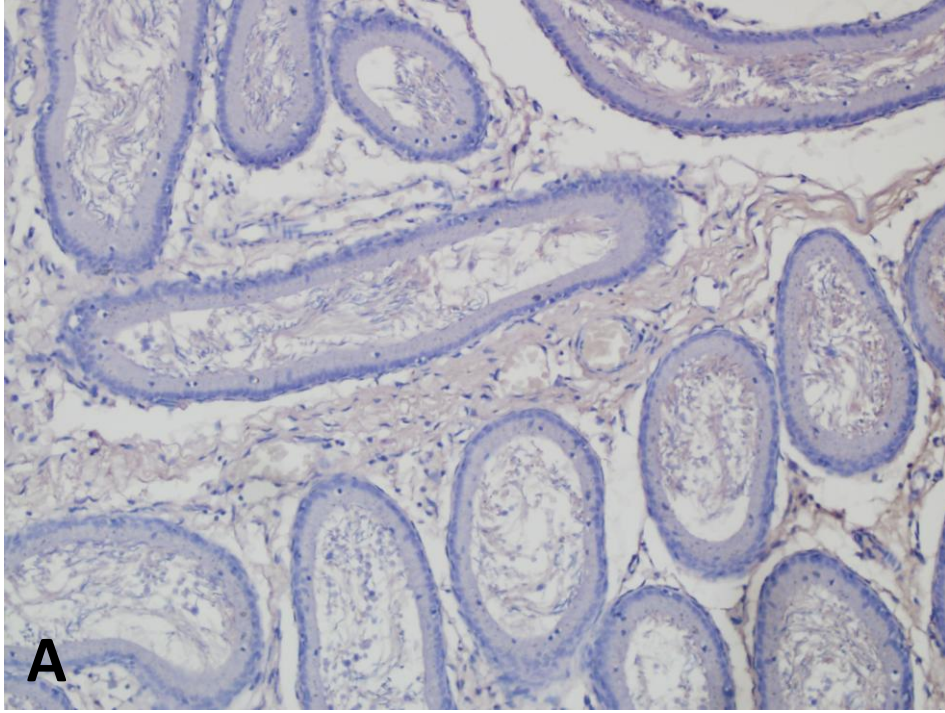
**Resim 3-17:** TNF- $\alpha$  immunoreaktivitesi Grup I'e (Kontrol) ait epididimlerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).



**Resim 3-18:** TNF- $\alpha$  immunoreaktivitesi Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20 Bx40).



**Resim 3-19:** TNF- $\alpha$  immunoreaktivitesi Grup III'e (Diyabet + GAL) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).



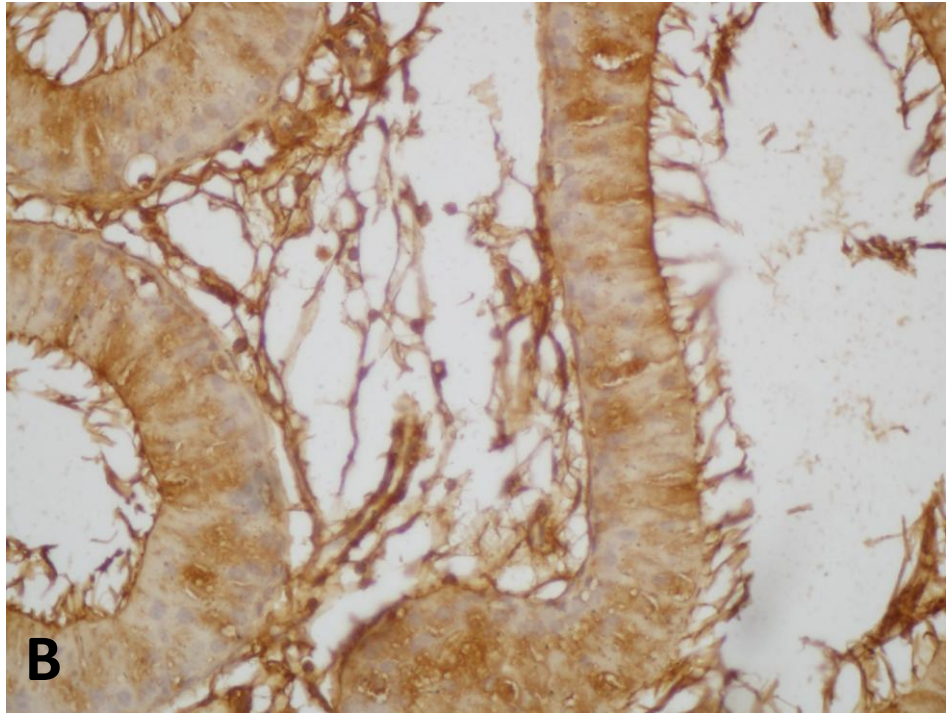
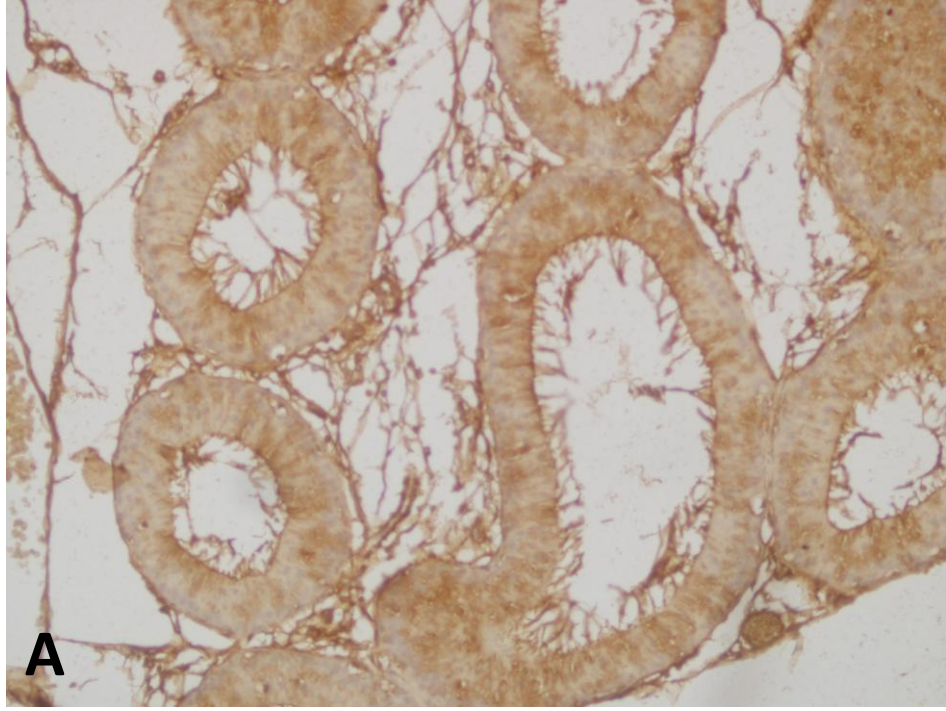
**Resim 3-20:** TNF- $\alpha$  immunoreaktivitesi Grup IV'e (Diyabet + AGO) ait epididimislerde görülmektedir, (Büyütme Ax20, Bx40).

İmmuno reaktivite	Yaklaşık (~) % immunoreaktif (+) hücre yüzdesi ve ifadenme şiddetleri																	
	Epitel Hücreler				Spermiyum				İnterstisyel Hücreler				Damar Endotel Hücreleri					
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3		
TNF- $\alpha$	Kontrol	~% 91	~% 9	-	-	-	-	-	-	-	-	~% 72	~% 26	~% 2	-	-	-	-
	DM	~% 45	~% 38	~% 5	~% 2	-	-	-	-	-	-	~% 25	~% 29	~% 46	-	-	-	-
	AGO	~% 82	~% 28	-	-	-	-	-	-	-	-	~% 28	~% 32	~% 40	-	-	-	-
	GAL	~% 89	~% 11	-	-	-	-	-	-	-	-	~% 71	~% 23	~% 6	-	-	-	-

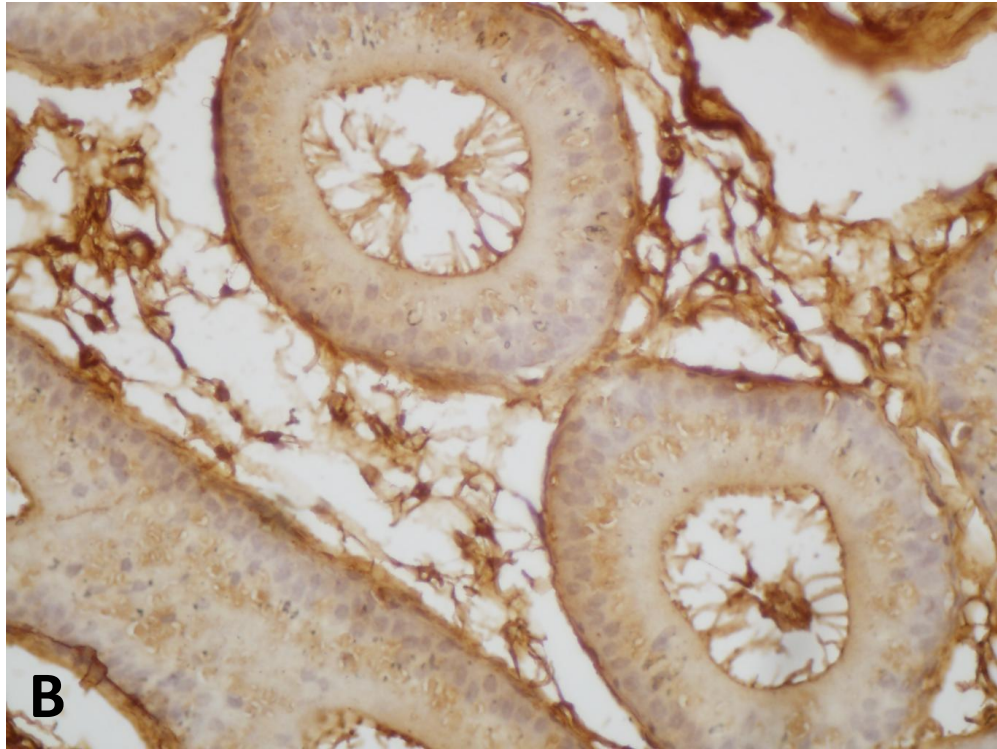
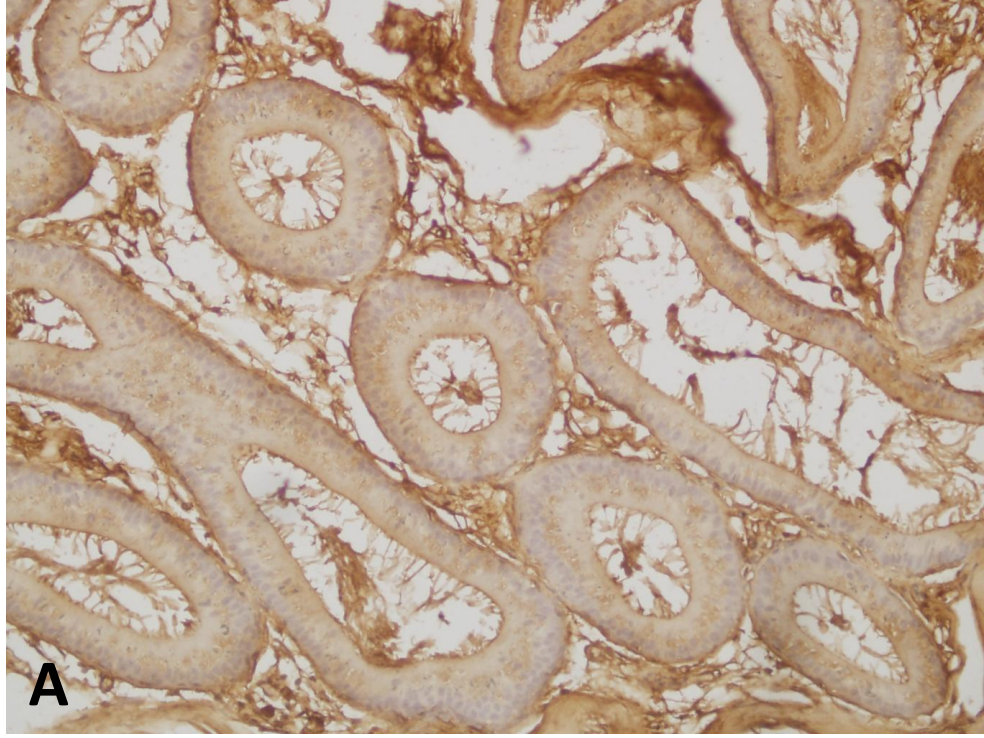
**Tablo 3-7:** Epididimise ait kesitlerde seminifer tübül ve interstisyuma ait hücrelerdeki TNF- $\alpha$  immunohistokimyasal immunoreaktivitesi (+) hücre sayısı yüzdeleri ile ifade şiddetleri (-: Boyanmamış; (+)1: Zayıf boyanmış; (+)2: Orta derecede boyanmış; (+)3: Güçlü boyanmış).

#### 3.1.2.4. Fibronektin İmmünoreaktivitesi

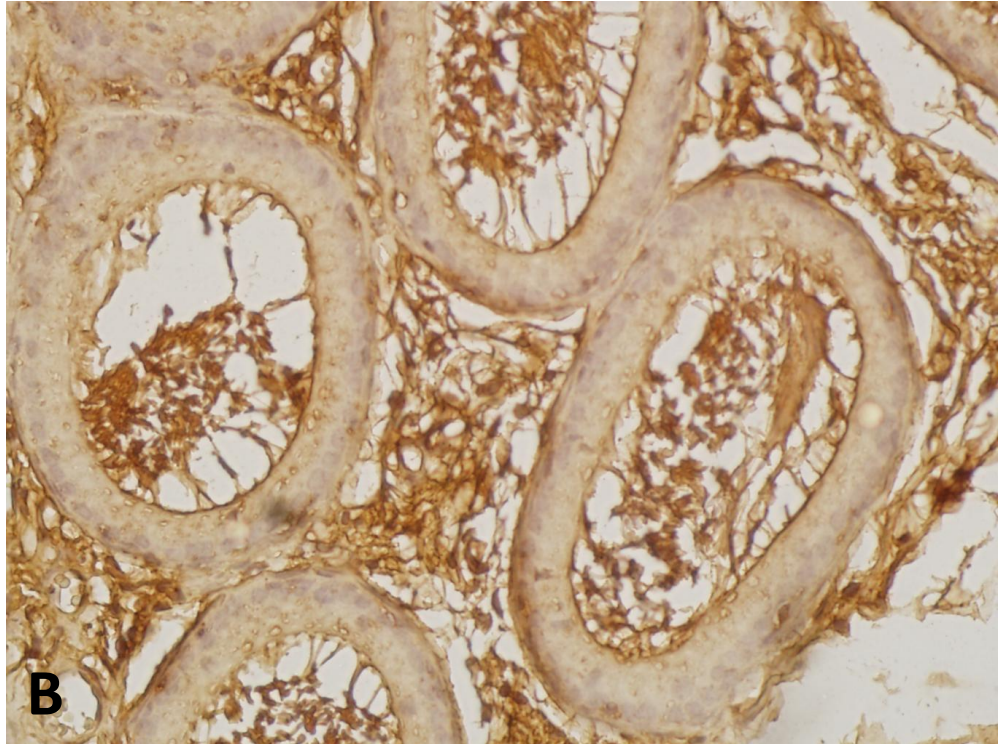
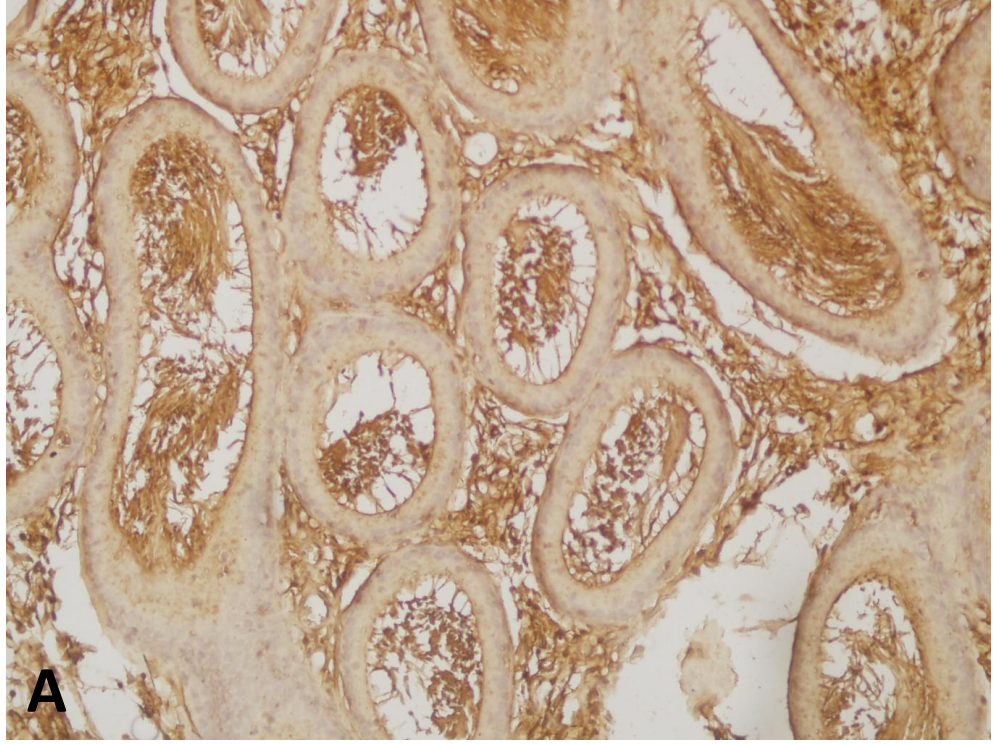
Grup I'e (Kontrol) ait epididimisler incelendiğinde bazal laminada kalınlaşma gözlenmeyip zayıf (+) Fibronektin (FN) ekspresyonu saptandı. Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerin bazal laminasında kuvvetli (+++) FN ekspresyonu saptandı. Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ait epididimis bazal laminası zayıf (+), Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait epididimislerin bazal laminasında ise FN ekspresyonu orta (++) şiddette saptandı.



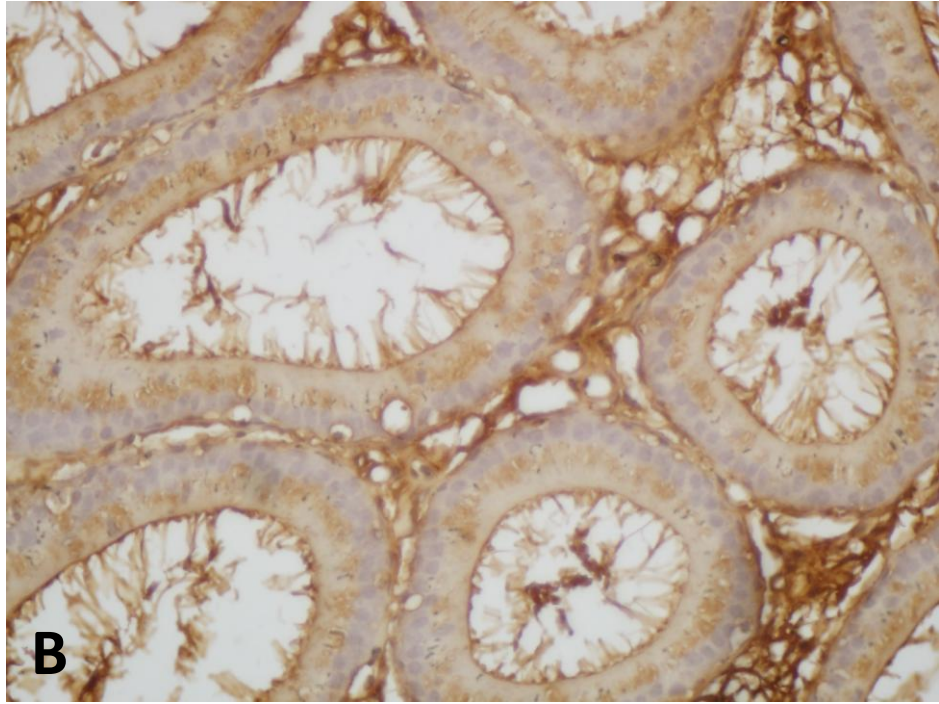
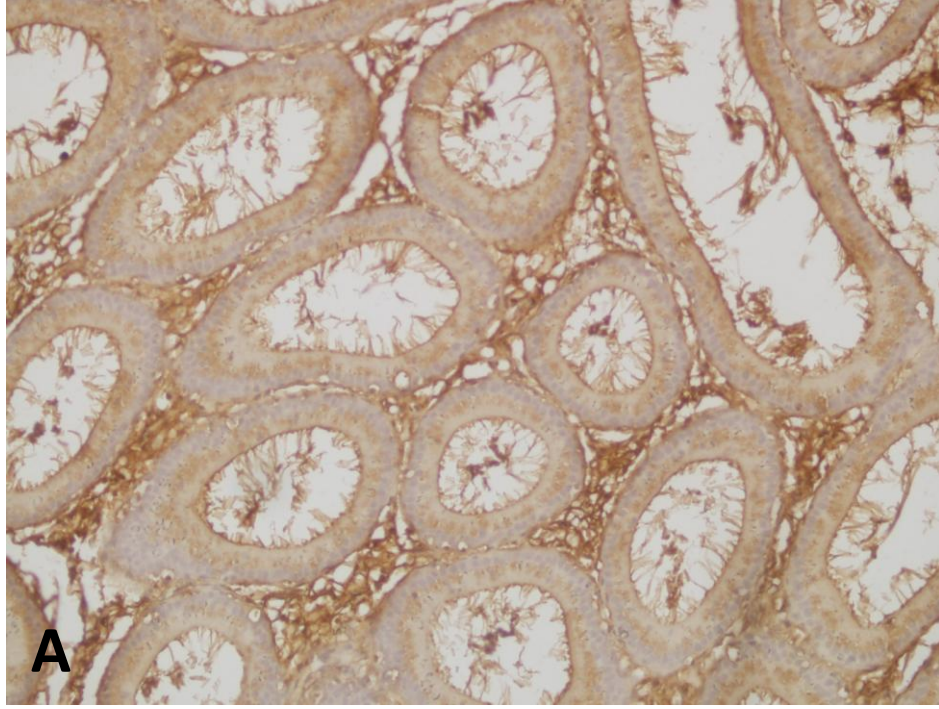
**Resim 3-21:** FN immunoreaktivitesi Grup I'e (Kontrol) ait epididimlerde bazal laminasında zayıf (+) iNOS ekspresyonu görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40)



**Resim 3-22:** FN immunoreaktivitesi Grup II'e (Diyabet) ait epididimislerde bazal laminasında kuvvetli (+++) iNOS ekspresyonu görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40)



**Resim 3-23:** FN immunoreaktivitesi Grup III'e (Diyabet + GAL) ait epididimislerde bazal laminasında zayıf (+) iNOS ekspresyonu görülmektedir. (Büyütme Ax20, B40)

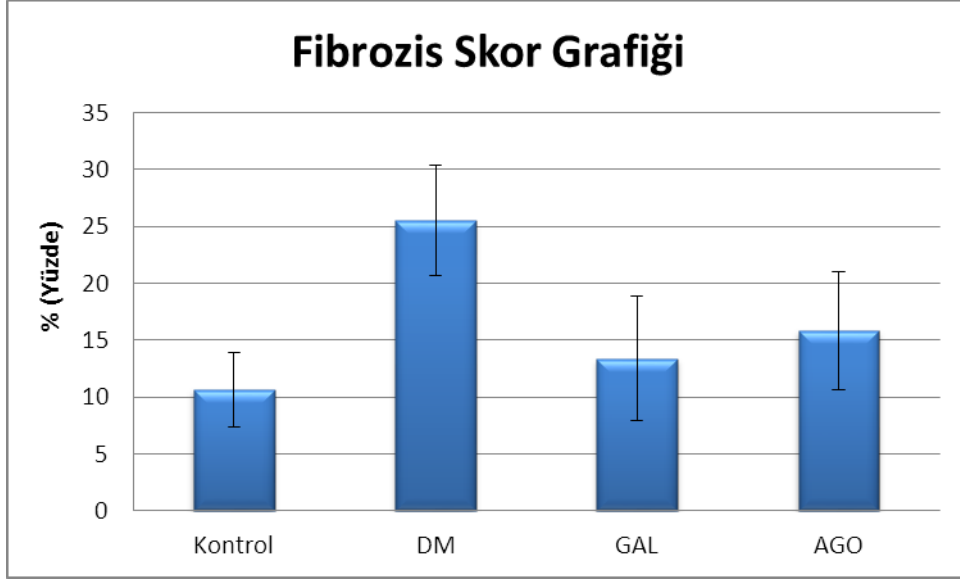


**Resim 3-24:** FN immunoreaktivitesi Grup IV'e (Kontrol) ait epididimislerde bazal laminasında orta düzeyde (++) iNOS ekspresyonu görülmektedir. (Büyütme Ax20, Bx40).

<b>Stromal Fibrozis Skor Tablosu (% Alan Sayımı)</b>				
<b>Hayvan Sayısı</b>	<b>Kontrol</b>	<b>DM</b>	<b>GAL</b>	<b>AGO</b>
<b>1</b>	12,22±1,17	31,71±0,98	17,30±1,96	12,40±1,20
<b>2</b>	15,30±1,57	25,10±1,84	10,61±2,02	22,20±1,92
<b>3</b>	13,62±0,51	20,30±1,95	19,83±2,16	15,30±1,23
<b>4</b>	6,30±1,19	21,14±1,74	19,60±2,07	9,60±1,84
<b>5</b>	7,13±1,28	33,30±1,54	9,30±2,18	11,30±1,78
<b>6</b>	9,12±1,26	23,12±1,36	11,20±2,21	21,32±1,94
<b>7</b>	11,10±1,32	24,18±1,69	6,12±2,02	19,12±1,83
<b>Ortalama</b>	<b>10,65±1,24</b>	<b>25,54±1,85</b>	<b>13,40±2,05</b>	<b>15,86±1,97</b>

<b>K-DM</b>	p=0,000*
<b>DM-GAL</b>	p=0,001*
<b>DM-AGO</b>	p=0,000*
<b>GAL-AGO</b>	p=0,201

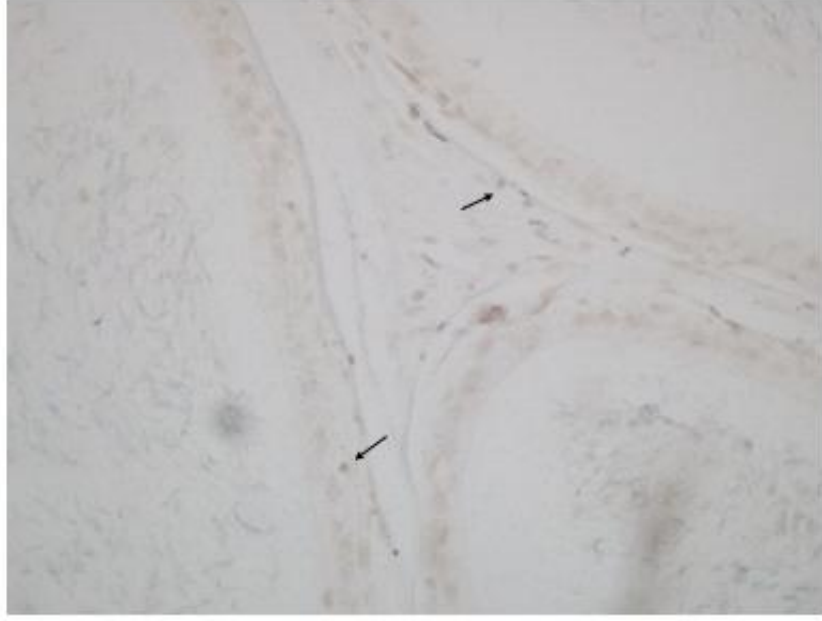
**Tablo 0-8:** Epididimise ait kesitlerde fibronektin immunohistokimyasal immunoreaktivitesi bazı stromal fibrozis skor tablosu (\* p<0.05 istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir).



Şekil 3-25: Fibrozis Skor Grafiği

#### 3.1.2.5. TUNEL Boyası

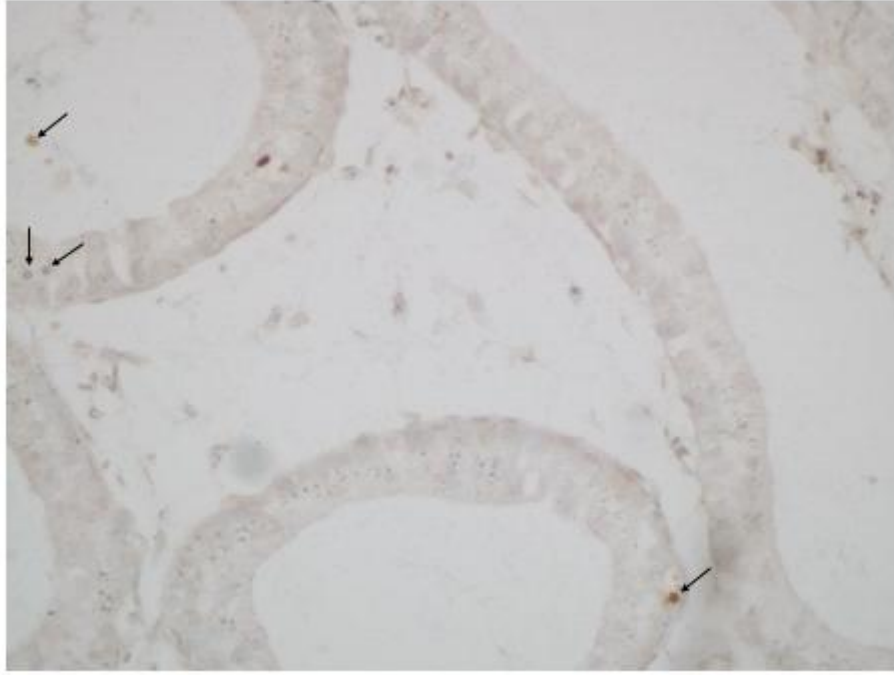
Grup I'e (Kontrol) ait epididimisler incelendiğinde apoptatik hücreler daha az gözlenirken, Grup II'ye (Diyabet) ait epididimislerde apoptatik hücrelerde artış saptandı. Grup III'e (Diyabet + Gallik Asit) ve Grup IV'e (Diyabet + Agomelatin) ait epididimislerde apoptotik hücreler Grup I (Kontrol) ve Grup II (Diyabet) arasında bir değerde gözlandı.



**Resim 3-26:** Grup I'e (Kontrol) ait epididimis dokusunda TUNEL pozitif hücreler görülmektedir. (Büyütme x40).



**Resim 3-27:** Grup II'ye (Diyabet) ait epididimis dokusunda TUNEL pozitif hücreler görülmektedir. (Büyütme x40).



**Resim 3-28:** Grup III'e (Diyabet + GAL) ait epididimis dokusunda TUNEL pozitif hücreler görülmektedir. (Büyütme x40).

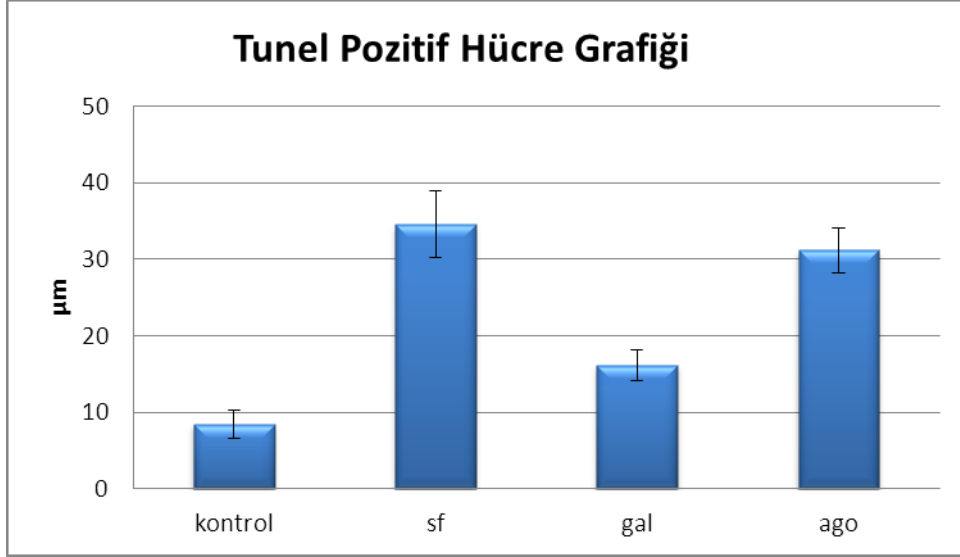


**Resim 3-29:** Grup IV'e (Diyabet + AGO) ait epididimis dokusunda TUNEL pozitif hücreler görülmektedir. (Büyütme x40).

<b>TUNEL Boyama Skor Tablosu</b>				
<b>Hayvan Sayısı</b>	<b>Kontrol</b>	<b>DM</b>	<b>GAL</b>	<b>AGO</b>
<b>1</b>	10,30±1,87	35,60±4,36	18,30±1,53	29,30±2,80
<b>2</b>	7,80±1,84	32,50±4,69	17,00±1,24	30,70±2,42
<b>3</b>	6,20±1,86	30,20±4,78	16,70±1,67	32,80±2,68
<b>4</b>	11,60±1,94	29,20±4,24	15,60±1,48	36,60±2,45
<b>5</b>	9,20±0,98	40,30±4,58	19,70±1,45	34,30±2,54
<b>6</b>	9,50±0,92	37,00±4,56	14,20±1,43	28,20±2,67
<b>7</b>	7,70±1,78	39,00±4,30	14,00±1,46	29,20±2,41
<b>Ortalama</b>	<b>8,43±1,81</b>	<b>34,58±4,35</b>	<b>16,14±1,95</b>	<b>31,14±2,96</b>

<b>Gruplar</b>	<b>P değeri</b>
<b>K-DM</b>	0,000*
<b>DM-GAL</b>	0,000*
<b>DM-AGO</b>	0,055
<b>GAL-AGO</b>	0,000*

**Tablo 0-9:** TUNEL Boyama Skor Tablosu ve p değerleri,(\*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir).



Şekil 0-30: Gruplara göre Tünel pozitif hücre dağılım grafiği.

### 3. 1. 3. Morfometrik Bulgular

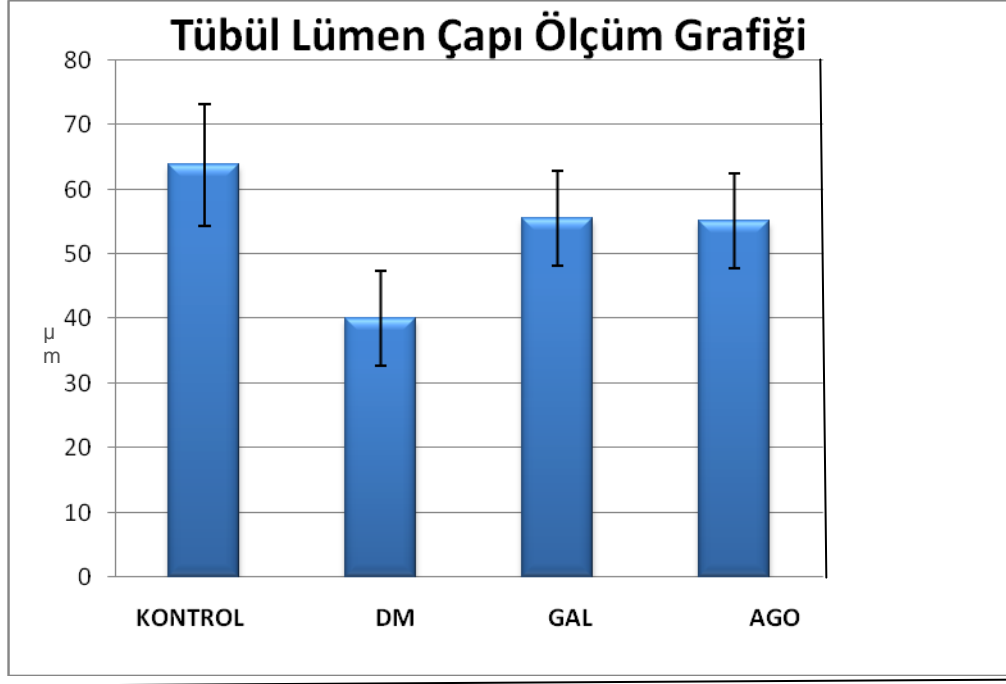
#### 3. 1. 3. 1. Tübül Çapı Ölçümü

Tübül çapı ölçümü her deney hayvanından 10 kesit, her kesitten rastgele seçilmiş 10 tübül çapı farklı düzlemlerde ölçülerek saptanmıştır. Kontrol, DM, GAL ve AGO grubu sıçan epididimis histolojik kesitleri değerlendirilerek ortalama skorları Tablo 3-6'da belirtilmiştir. Tübül çapı ölçüm grafiği ise Şekil 3-30'da gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi sonuçlarına göre DM grubu ile AGO ve GAL grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p < 0.05^*$  seviyesinde istatistiksel anlamlılık).

<b>Tübül Çapı Ölçüm Tablosu (<math>\mu\text{m}</math>)</b>				
<b>Hayvan Sayısı</b>	<b>Kontrol</b>	<b>DM</b>	<b>GAL</b>	<b>AGO</b>
<b>1</b>	75,64 $\pm$ 9,48	38,79 $\pm$ 7,98	43,43 $\pm$ 7,26	58,33 $\pm$ 7,45
<b>2</b>	77,01 $\pm$ 9,40	45,26 $\pm$ 6,15	73,05 $\pm$ 6,87	47,79 $\pm$ 6,58
<b>3</b>	66,83 $\pm$ 8,72	43,17 $\pm$ 6,65	52,61 $\pm$ 6,47	62,20 $\pm$ 8,59
<b>4</b>	72,49 $\pm$ 9,90	34,20 $\pm$ 8,10	55,23 $\pm$ 7,65	50,37 $\pm$ 7,53
<b>5</b>	58,95 $\pm$ 8,92	41,35 $\pm$ 7,58	56,51 $\pm$ 8,45	55,94 $\pm$ 7,61
<b>6</b>	60,97 $\pm$ 10,2	46,39 $\pm$ 7,26	57,45 $\pm$ 8,12	40,06 $\pm$ 7,54
<b>7</b>	63,05 $\pm$ 9,01	35,85 $\pm$ 7,64	56,72 $\pm$ 7,10	64,84 $\pm$ 8,83
<b>Ortalama</b>	<b>63,79<math>\pm</math>9,47</b>	<b>40,03<math>\pm</math>7,29</b>	<b>55,52<math>\pm</math>7,37</b>	<b>55,13<math>\pm</math>7,29</b>

<i>Gruplar</i>	<i>P değeri</i>
<b>K-DM</b>	0,000*
<b>DM-GAL</b>	0,000*
<b>DM-AGO</b>	0,000*
<b>AGO-GAL</b>	0,455

**Tablo 3-10:** Tübül çaplarının karşılaştırılması ve p değerleri (\*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir).



Şekil 0-31: Tübül çapı ölçüm grafiği.

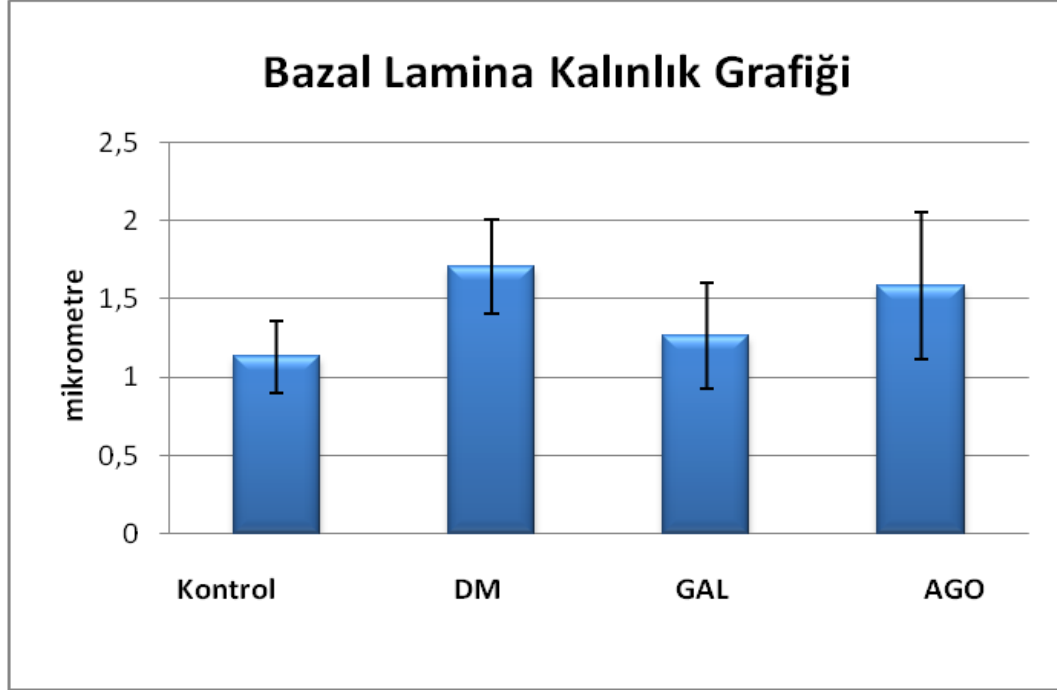
### 3. 1. 3. 2. Bazal Lamina Kalınlık Ölçümü

Bazal lamina ölçümü her deney hayvanından 10 kesit, her kesitten rastgele seçilmiş 10 tübül incelenerek yapılmıştır. Kontrol, DM, GAL ve AGO grubu sıçan epididimis histolojik kesitleri değerlendirilerek ortalama skorları Tablo 3-7’de belirtilmiştir. Bazal lamina kalınlık grafiği ise Şekil 3-31’de gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi sonuçlarına göre AGO ve GAL grubu ölçümleri DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05^*$  seviyesinde istatistiksel anlamlılık).

<b>Bazal Lamina Ölçüm Tablosu (<math>\mu\text{m}</math>)</b>				
<b>Hayvan Sayısı</b>	<b>Kontrol</b>	<b>DM</b>	<b>GAL</b>	<b>AGO</b>
<b>1</b>	1,59 $\pm$ 0,54	1,68 $\pm$ 0,75	1,60 $\pm$ 0,39	1,30 $\pm$ 0,42
<b>2</b>	1,03 $\pm$ 0,65	1,80 $\pm$ 0,98	0,90 $\pm$ 0,34	2,56 $\pm$ 0,41
<b>3</b>	1,06 $\pm$ 0,11	2,11 $\pm$ 0,68	1,03 $\pm$ 0,24	1,17 $\pm$ 0,39
<b>4</b>	1,03 $\pm$ 0,17	2,01 $\pm$ 0,26	1,76 $\pm$ 0,36	1,30 $\pm$ 0,41
<b>5</b>	1,06 $\pm$ 0,36	1,24 $\pm$ 0,15	1,41 $\pm$ 0,28	1,67 $\pm$ 0,46
<b>6</b>	1,24 $\pm$ 0,48	1,45 $\pm$ 0,48	1,27 $\pm$ 0,36	1,58 $\pm$ 0,44
<b>7</b>	0,90 $\pm$ 0,24	1,67 $\pm$ 0,35	0,90 $\pm$ 0,35	1,51 $\pm$ 0,48
<b>Ortalama</b>	<b>1,13<math>\pm</math>0,23</b>	<b>1,71<math>\pm</math>0,30</b>	<b>1,27<math>\pm</math>0,34</b>	<b>1,59<math>\pm</math>0,47</b>

<b>Gruplar</b>	<b>P değeri</b>
<b>K-DM</b>	0,000*
<b>DM-GAL</b>	0,012*
<b>DM-AGO</b>	0,282
<b>AGO-GAL</b>	0,086

**Tablo 0-11:** Bazal lamina kalınlık karşılaştırılması ve p değerleri (\*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir).



Şekil 0-32: Bazal lamina kalınlık grafiği.

## 4.BÖLÜM

### 4.1. TARTIŞMA

Vücut sürekli bir şekilde enerji üretim işlemlerinin bir parçası olarak oksijenle reaksiyona girer ve sonrasında üretilen serbest radikallerin, organizmada var olan veya diyetle alınan antioksidanlarla dengelenememesi durumunda oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stresin hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmesiyle insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Başta kanser olmak üzere, kalp-damar hastalıkları, şeker hastalığı, beyin bozuklukları (Alzheimer, Parkinson ) ve akciğer hastalıkları gibi hastalıklara yol açar (122, 124, 125, 128, 129).

Diabetes Mellitus (DM), dünyada sık rastlanan çok yönlü ve birçok organı erken dönemde ve geç dönemde etkisi altına alan bir metabolik hastalıktır. Öyle ki, son 25 yılda dünyanın en öldürücü ya da yaşam kalitesini düşürücü hastalığı olarak

bilinmektedir. DM, insülin miktarının veya etkisinin yetersizliği ile oluşan, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. Etkileri çeşitli organlarda uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu ve yetersizliği içerir. (73, 74, 80, 82, 83, 84, 102, 257).

Yapılan çalışmalarda hiperglisemiden dolayı serbest oksijen radikallerinin arttığı görülmüştür. Uzun süreli hiperglisemi sebebiyle hücre dışındaki proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretimi artmaktadır. Serbest radikallerin aşırı artışı da oksidatif stresi indüklemektedir. Diyabette oksidatif stres pek çok mekanizmaya bağlı olarak artabilmektedir, ancak bu mekanizmaların kesin katkısı tam olarak kanıtlanmış değildir. Çok sayıdaki deneysel bulgular artan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunun ve zayıflayan antioksidan savunmanın mekanizmaların temelini oluşturduğu ifade edilmektedir (140, 143, 145).

Deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogenezinde önemli bir rolü olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Ayrıca uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceğini araştırmacılar vurgulanmaktadır (137, 141, 142, 146, 161, 162, 163).

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut antioksidanlar olarak bilinen birçok savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidanlar oksijen radikallerinin yıkıcı reaksiyonlarını engelleyerek veya bu radikalleri toplayarak zararlı etkilerini inhibe ederler (135).

Oksidatif stres kaynaklı hastalarda endojen kaynaklı antioksidanlar etkili olmadığı için, oksidatif hasarı azaltabilecek diyet sadece dışarıdan alınacak antioksidanlarla mümkündür. Yapılan çalışmalar sonucunda, spermin kalitesi dışarıdan alınan antioksidan tedavi ile artmaktadır. Bu tedaviyle lipid peroksidasyon potansiyelinin azaltılması, fertilizasyon oranlarının ise artması gözlenir (156, 157).

Diabetes mellitus göz, böbrek, sinir sistemi, gastrointestinal ve kardiyovaskular sistem gibi birçok organ ve sistemi etkilemektedir ve bu hastalıkların patofizyolojisi oldukça iyi bilinmektedir. Ancak, diyabetin üreme sistemi üzerine olan etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. STZ ile diyabet oluşturulan deney hayvanlarında androjen reseptörlerinin testiste, epididimiste ve prostat bezinde azaldığı gösterilmiştir. Androjen reseptörlerinin azalması, diyabetik sıçanlarda hormon sentezinde ve seksüel fonksiyonlarda bozukluklara neden olur (249). Yapılan çalışmalarda, diyabetik bireylerde erektil bozukluklarla birlikte, sperm sayısında, hareketliliğinde ve kalitesinde, ayrıca, testis ağırlığında azalma gibi anormallikler olduğu gösterilmiştir. Bunlara ek olarak, insan ve sıçan testislerinden alınan biyopsi parçaları incelendiğinde, seminifer tübüllerin duvarlarında kalınlaşmaların, sertoli hücrelerinde vakuolizasyonun olduğu, üreme hücrelerinin sayıca azaldığı saptanmıştır (250).

Yapmış olduğumuz çalışmada, tüm bu bilgilerden yola çıkılarak sıçan epididimisinde diyabet kaynaklı olarak meydana gelen hasarın Agomelatin ve Gallik Asit uygulaması ile düzeltilebilirliği histolojik olarak araştırılmıştır. İnsanlarda görülen tip 1 diyabet ile birçok dokuda yarattığı hasar bakımından yüksek oranda benzerlik gösteren deneysel diyabetik sıçan modelleri bulunmaktadır. Sıçanlarda deneysel yoldan tip 1 diyabet oluşturmada en çok tercih edilen yöntem tek seferlik STZ enjeksiyonudur (251).

Literatürlerde diyabetli deney hayvan türlerinde kan/glukoz seviyelerinde artış gösterilmiştir. Savion ve ark.larının fareler üzerinde, diyabetin uterus ve lenfoid organlardaki makrofaj ve T hücrelerinin etkisine bakmayı amaçladıkları çalışmada diyabetik farelerin kontrol gruplarına göre kan/glukoz seviyelerinde artış olduğunu göstermişlerdir (252). Biz de çalışmamızda, yapılan çalışmalarla uyumlu olarak diyabet grubunu, kontrol grubu ile karşılaştırdığımız da kan/glukoz seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu gözlemledik.

Yapılan çalışmalarda, diyabetli hayvanlarda kilo kaybı olduğu gözlemlenmiştir. Favaro ve ark.larının diyabetin gebeliğin erken dönemlerinde miyometriyum yapısı ve hücre proliferasyonu üzerine yaptıkları çalışmada diyabetik grupta kontrol grubuna göre vücut ağırlığında azalma olduğunu saptamışlardır (253).

Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak diyabetik gruplarda vücut ağırlığında azalma olduğu gözlemlendi.

Araştırmamızda diyabetik, kontrol ve tedavi gruplarındaki sıçanlarda epididimisin histolojik yapısını değerlendirmek için hematoksilen eozin boyaması yapıldı. Diyabetli grup epididimis histolojik incelemelerinde; intersitisyel alanda bağ dokusu artışı gözlenmekte olup duktus epitelinin apikal yüzeyinde stereosilyalarda kayıp dikkat çekmiştir. Duktusların lümeni spermatozoa içermekteydi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, intersitisyel alanda fibrozis ve hafif hiperami ve kapsülde kalınlaşma olduğu saptanmıştır. Ayrıca dokuda inflamasyonda gözlenmiştir. Gallik Asit verilen tedavi grubunda; stereosilyalarda diyabet grubuna göre daha az dökülme gözlenirken, kapsülde kalınlaşma izlenmemiştir. Yine diyabet grubuna göre, intersitisyel alanda fibrozis ve inflamasyonda azalma saptanırken hiperami görülmemiştir. Diğer bir tedavi grubu olan Agomelatin incelendiğinde; Gallik Asit grubuna benze şekilde stereosilyalarda daha az dökülme gözlenirken, kapsülde kalınlaşma izlenmemiştir. Fakat intersitisyel bağ dokudaki stromal fibrozis ve ödemin diyabet grubuna göre azalsa da varlığını koruduğu tespit edilmiştir.

Literatürler incelendiğinde; epididimis dokusu ile biyokimyasal analizlerin yapıldığı ancak, histokimyasal çalışmaların oldukça sınırlı kaldığı görülmüştür. Çalışmalarda genellikle epididimis dokusundan alınan sperm parametreleri ölçülmüştür.

İntersitisyel ödemin yaygın bir diyabet komplikasyonu olduğunu gösteren birçok araştırma bulunmaktadır. Khaneshi ve arkadaşlarının testis dokusunda yaptıkları deneyde STZ (65mg/kg) enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan grupta intersitisyel alanda ödem gözlenmiştir (254). Maggie ve ark.nın yaptıkları çalışmada da STZ ile indüklenmiş diyabetik grup testis dokusunda intersitisyel alanda ödem saptanmıştır (255). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde intersitisyel ödem gözlenmiştir.

Diyabette bağ dokusu artışını gösteren çalışmalarda mevcuttur. Jianli ark.nın diyabetli insanlarda kalp dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, diyabetli grupta miyokardiyumda ve benzer olarak 87

perivasküler alanda kollajen miktarının arttığını gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda normal bir bağ dokusu gözlerken, diyabet grubunda kollajen miktarında artış olduğunu gözledik (256).

Lee ve ark.nın yaptığı bir çalışmada üreme bozukluğuna neden olan Epiklorodinin epididimis dokusunda apoptotik hücre sayısını artırdığını ve apoptoza giden hücrelerin mitokondriyal yolaktansa MAPK yolak ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (258). Bizim çalışmamızda da gruplar arasında TUNEL boyama sonuçlarına bakıldığında diyabet grubunda görülen apoptotik hücrelerin varlığının Gallik Asit grubunda kontrole yakın olarak anlamlı azaldığı gösterilmiştir. Agomelatin grubunda ise azalma görülmemekte olup diyabet grubuna yakındır.

Çalışmamızda PAS boyama sonuçlarına bakıldığında diyabet grubunda bazal lamina kalınlaşması görülmüştür. Gallik Asit grubunda bazal lamina kalınlığında kontrole yakın sonuçlar elde edilmiştir. Agomelatin grubunda ise bazal lamina kalınlığında diyabet grubuna yakın değerler görülmüştür.

Literatürlerde dokular üzerine antioksidan terapi diyabet modellerinde çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Güneli ve ark. STZ ile indüklenmiş diyabetli sıçanlarda testis hasarına Melatoninin koruyucu etkisini göstermişlerdir (259). Yapılan bir çalışmada STZ ile indüklenmiş diyabetli sıçanlarda oral yolla verilen likopenin etkisi biyokimyasal parametrelerle (serum glucose, insulin, total kolesterol, triglyceride, alanine aminotransferase, and aspartate aminotransferase) araştırılmış ve çalışma sonunda diyabeti tedavi etmede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (260). Benzer şekilde Hida ve ark.nın yaptığı çalışmada diyabetli sıçan diyaframına antioksidan madde olarak N-Asetilsistein 1 hafta boyunca verilmiş ve deney sonunda olumlu sonuçlar alınmıştır (261). Bizim çalışmamızda da diyabetin neden olduğu oksidatif strese antioksidan maddelerin olumlu etkileri histolojik olarak gösterilmiştir.

Karaiskos ve ark. tip 2 diyabetli hastaların depresyon tedavisinde agomelatin ve sertalini kullanmışlardır ve başarılı sonuçlar almışlardır (262). Literatürde Agomelatinin diyabete olan etkisinin araştırılmasında yalnızca bu çalışma yapılmıştır.

Gallik Asidin diyabette etkisi literatürlerde biyokimyasal ağırlıklı çalışmıştır. Yapılan bir çalışmada oral yolla verilen gallik asidin plazma insülin seviyesini anlamlı olarak arttırdığı gözlenmiştir (263).

İmmünohistokimyasal incelemelerde FN, bazal lamina kalınlaşması ve interstisyel alanda fibrozisi göstermektedir. Zeybek ve ark.nın çalışmasında STZ ile indüklenen diyabetik over ve endometrium çalışmasında stromada yoğun fibrosis izlenmiştir (264). Epididimis dokusunda fibronektin çalışması literatürde yalnızca Francavilla ve ark.nın yaptığı çalışmada görülmektedir. Sıçan epididimisindeki immünohistokimyasal çalışmasında FN ifadesini özellikle kaudada kontraktıl hücrelerde gözlemlemiştir (265). Bizim çalışmamızda diyabet grubu epididimislerde yoğun gözlenen fibrozis AGO uygulamasında azalmıştır. GAL grubunda ise fibrotik alanlarda azalma görülmemiştir.

NOS izoformları aracılığıyla üretilen NO'in erkek üreme sisteminde çok yönlü etkileri belirlenmiştir. NO'in, akrozomal reaksiyonun düzenlenmesinde, sperm olgunlaşması ve kapasitasyonunda, sperm hareketliliğinde, Sertoli hücreleri arasında yer alan sıkı bağlantıların fizyolojik olarak düzenlenmesinde, spermatogenezde ve androjen üretiminde fonksiyonel olduğunu gösteren bulgular mevcuttur. NOS proteini ve aktivitesinin insan ve sıçanda testis, epididimis, prostat ve seminal bezlerde (266, 268, 269) gösterilmesi de, NO'in üreme fonksiyonlarında etkili olabileceğine işaret etmektedir. Aynı zamanda, NO'in spermin hareketliliğini arttırdığı, akrozomal reaksiyonun ve fertilizasyonun da bu şekilde düzenlediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (267, 268).

NOS2 immün cevabın oluşmasında görevlidir ve NO üretimi ile inflamasyonu tetikler. Diyabette doku hasarının büyük bölümünün inflamasyon kaynaklı olduğu bilinmektedir. Bryan ve ark.nın yaptığı çalışmada sıçan testislerinde NOS2'nin inflamasyon kaynaklı testiküler disfonksiyona neden olduğu saptanmıştır (270). Ayrıca literatürlerde yüksek glukoz seviyesinin oksidatif stresin NOS2 seviyelerini de etkilediği görülmektedir. Park ve ark.nın hiperglisemiya ile indüklenmiş oksidatif stres nedeniyle insan umbilikal ven endotelial hücrelerindeki fonksiyon bozukluğuna 6,6'-bieckol (BEK)'un

koruyucu etkilerini araştırmışlar ve yüksek glukoz seviyesindeki endotel hücrelerinde NOS2'nin yüksek ekspresyonunu gözlemlerken, tedavi grubunda ise ekspresyonun kontrol grubuna yakın düzeyde olduğunu tespit etmişlerdir (271). Bizim alışmamızda da bulgular literatürleri desteklemektedir ve diyabet grubu epididimisinde görülen NOS2 artışı, tedavi gruplarında azalmıştır.

Sitokinler bir immün stimulasiona cevap amacıyla her defasında yeniden üretilmek zorundadır ve etkilerini hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak gösterirler (272). Dokuda inflamasyon durumlarında belirgin olarak artan TNF- $\alpha$  inflamatuvar sitokinler olarak anılmaktadırlar. NOS2'ye benzer şekilde TNF $\alpha$  artışında dokularda disfonksiyon görülmektedir (273). Yapılan alışmalar hiperlipidemiye bağlı olarak da serum TNF- $\alpha$  düzeylerinde artıştan söz etmektedir (274, 275). Yi ve ark. yüksek oranda yağ içeren diyetle beslenen tavşanlarda serum total kolesterol ve trigliserid düzeylerinde belirlenen artışlarla birlikte serum TNF- $\alpha$  düzeyinde de önemli artışlar meydana geldiğini bildirmektedirler (276). Hotamışlıgil ve ark.nın çalışmasında da TNF $\alpha$  nötralizasyonunun kas ve yağ dokusunda insülin duyarlılığını insülin reseptör tirozin kinaz üzerinden arttırdığını göstermiştir (277). Bizim alışmamızda da diyabet grubunda artan TNF $\alpha$  seviyeleri tedavi gruplarında azalmıştır.

Vaskulogenez ve anjiyogenezin artışı birçok hcrenden salgılanan VEGF tarafından sağlanmaktadır (278). Boyer ve ark. diyabetin en yaygın mikrovasküler komplikasyonlarından retinopati için anti-VEGF terapilerini önermektedir (279). Zhang ve ark. yaptıkları çalışmada VEGF'nin epididimisteki sperm maturasyonu ile ilgili olabileceğini vurgulamışlardır ve VEGF ifadesini epididimal epitelyumda görmüşlerdir (280). Bizim alışmamızda da VEGF ifadesi literatürlerle uyumlu şekilde epididimal epitelyumda yoğun olarak görülmüştür. Diyabet grubunda görülen VEGF artışının, GAL grubunda azaldığı, AGO grubunda ise azalmanın daha düşük oranlarda olduğu izlenmiştir.

Birçok dokuda zararını oksidatif stres oluşturmak suretiyle gösteren diyabet hastalığının hasarını önlemede antioksidan uygulaması günümüzde oldukça sık tercih edilen bir yöntemdir. Sonuç olarak, yapmış olduğumuz çalışmada kuvvetli bir antioksidan olduğu birçok araştırma neticesinde ortaya konmuş GAL ve AGO'nun

epididimis dokusu üzerinde diyabete bağı olarak meydana gelen hasarı önlemede etkili olduğu histolojik olarak gösterilmiştir.

## 5. BÖLÜM

### 5.1. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diabetes mellitus, çok uzun yıllar öncesinden beri bilinen ve toplumda görülme sıklığı giderek artan kandaki glukoz konsantrasyonunun kontrol edilemediği metabolik bir hastalıktır. Başta kalp ve sinir olmak üzere birçok dokuda bu hastalığa bağı olarak çeşitli patolojiler meydana gelmektedir.

Oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu, deneysel olarak DM yapılan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda saptanmıştır ve bu yüzden DM tedavisinde antioksidan maddelerin kullanımı tavsiye edilmektedir. Son araştırmalar vitamin E, vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit gibi antioksidanların oksidatif stresin oluşturduğu hasarı azalttığını göstermiştir. Fakat antioksidanların sağlıklı dokularda özellikle de doz aşımı durumlarında hasara neden olduğu bilinmektedir.

Buna dayanarak, yapmış olduğumuz çalışmada tek seferlik STZ enjeksiyonu ile deneysel tip 1 diyabet oluşturulan sıçanlara literatürde antioksidan madde olarak bilinen AGO ve GAL uygulamasının, testis dokularında meydana getirebileceği potansiyel olumlu etkileri histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak araştırılmıştır. Yapılacak sonraki çalışmalarda GAL ve AGO'nun dozunun artırılması ile ortaya çıkacak sonuçların tartışılması önerilmektedir.

Araştırmamızda diyabetik, kontrol ve tedavi gruplarındaki sıçanlarda epididimisin histolojik yapısını değerlendirmek için hematoksilen eozin uygulaması sonucu diyabetli grupta, intrsitisyel alanda bağ dokusu artışı gözlenmekte olup duktus epitelinin apikal yüzeyinde stereosilyalarda kayıp dikkat çekmiştir. Ayrıca, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, intersitisyel alanda fibrozis ve hafif hiperami, kapsülde kalınlaşma ve dokuda inflamasyon olduğu saptanmıştır. Gallik Asit verilen tedavi grubunda; stereosilyalarda diyabet grubuna göre daha az dökülme gözlenirken, kapsülde kalınlaşma izlenmemiştir. Yine diyabet grubuna göre,

intersitisyel alanda fibrozis ve inflamasyonda azalma saptanırken hiperami görülmemiştir. Diğer bir tedavi grubu olan Agomelatin incelendiğinde; Gallik Asit grubuna benze şekilde stereosilyalarda daha az dökülme gözlenirken, kapsülde kalınlaşma izlenmemiştir. Fakat intersitisyel bağ dokudaki stromal fibrozis ve ödemin diyabet grubuna göre azalsa da varlığını koruduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda PAS boyama sonuçlarına bakıldığında diyabet grubunda bazal lamina kalınlaşması görülmüştür. Gallik Asit grubunda bazal lamina kalınlığında kontrole yakın sonuçlar elde edilmiştir. Agomelatin grubunda ise bazal lamina kalınlığında diyabet grubuna yakın değerler görülmüştür.

Fibronektin, NOS2, TNF $\alpha$  ve VEGF immun boyamalarında diyabet grubunda aşırı ekspresyonlarını gözlerken, tedavi gruplarında kontrole yakın zayıflıkta ekspresyonu saptanmıştır. Elde edilen immunohistokimyasal sonuçlar aynı belirteçlerin mRNA ekspresyonları PCR ile kantitatif olarak araştırılarak desteklenmelidir.

Bizim çalışmamızda da gruplar arasında Tunel boyama sonuçlarına bakıldığında diyabet grubunda görülen apoptatik hücrelerin varlığının Gallik Asit grubunda kontrole yakın olarak anlamlı azaldığı gösterilmiştir. Agomelatin grubunda ise azalma görülmemekte olup diyabet grubuna yakındır.

Bu sonuçlara dayanarak diyebiliriz ki; diyabet birçok dokuda olduğu gibi epididimis dokusunda da oksidatif stres oluşturmak sureti ile hasarlar meydana getirmektedir. Bu hasarları önlemek amacıyla antioksidan olarak bilinen AGO ve GAL ile epididimis dokuları üzerinde meydana gelen diyabet kaynaklı hasarı önlemede etkili olduğu histolojik yönden mikroskobik incelemelerle gösterilmiştir. Yapılacak çalışmalarda infertilitenin saptanması için sperm parametreleri ve testesteron seviyelerinin incelenmesi ayrıca, biyokimyasal analizlerle elde edilen sonuçların karşılaştırılması önerilmektedir.

Literatürde diyabetin epididimis dokusu üzerine olan etkilerine tedavi amaçlı antioksidan madde verilmesi bunun histokimyasal ve immünohistokimyasal yönünden inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bilgiler ışığında çalışmamızın

diyabetin epididimis dokusu üzerine etkisinin anlaşılması konusunda yol gösterici olacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. Joseph A, Yao H, Hinton BT. Development and morphogenesis of the Wolffian/Epididymal Duct. More Twists and Turns. Dev Biol. 2009;325(1):6–14.
2. Sancak B, Cumhuri M. Fonksiyonel Anatomi. 2. Baskı. Ankara: 2002; 291-292.
3. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Cilt 1-2. Ankara: Güneş Matbaacılık; 1999.
4. Jacob M, Barteczko K. Contribution to the origin and development of the appendices of the testis and epididymis in humans. Anatomy and Embryology 2005;209(4):287-302.
5. Wollin M, Marshall FF, Fink MP, Malhotra R. Aberrant epididymal tissue: a significant clinical entity. J Urol. 1987;138 (5):1247-50.
6. Dere F. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı. Adana: Nobel Tıp Kitabevleri; 1999.
7. Yıldırım M, editor. Klinik Anatomi. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1998.
8. Burukoğlu, D. Kadmiyumun sıçan testisinde oluşturduğu toksisitede çinkonun koruyucu etkilerinin ışık ve elektron mikroskop ile incelenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi; 2007;40
9. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 3. Baskı. Philadelphia: Saunders Company; 2007;489-501.
10. Karataş S. Sıçanlarda Kadmiyum Klorürün (CdCl<sub>2</sub>) Testis Dokusuna Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi; 1998.
11. Odar İV. Anatomi. Hacettepe Kitapçılık Ltd. Şti. 1986.
12. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3.Baskı. Ankara: Tıp Ve Teknik Yayıncılık Ltd. Şti. 1998.
13. Dalkılıç H, Yıldırım M, editorler. İnsan embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009.
14. Şahinoğlu K. Kliniğe yönelik anatomi. 4. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
15. Hatiboğlu MT. Anatomi sözlüğü. 6. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2005;112-113.
16. Ergün S, Bruns T, Tauber R. Vascular organization of the pampiniformis plexus in the man and its significance for antegrade sclerosing of testicular varicocele. Urologe A. 1996;35 (6): 463-7.

17. Banks WJ. Applied veterinary histology. Williams & Wilkins; 1986.
18. Thibault C, Levasseur M, editors. Structure and functions of the testis. Reproduction in mammals and man. Paris: RHF Hunter Elipses; 1993.
19. Ewing L, Chang T. The testis, epididymis, and ductus deferens. Campbell's Urology; 1986;1:200-223.
20. Campbell Üroloji. 8. Baskı. Güneş Kitabevi; 2005: 76-78.
21. Hatipoğlu MT, Hatipoğlu HG. Yüksekokullar Anatomi Ders Kitabı. 1. Baskı. Ankara: Selvi Yayınevi; 2006.
22. Demir R, editor. Histoloji ve hücre biyolojisi. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006.
23. Elhan A. Temel klinik anatomi. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2006.
24. Moore KL. The developing human clinically oriented embryology, the beginning of human development: first week. 7. Edition. 2003;15-41 p.175
25. Cheng CY, Dolores DM. Quantitative (stereological) study of normal spermatogenesis in the adult monkeys (*Macaca fascicularis*). Journal of Andrology 1997;18, 681-687 p.46
26. Başaklar AC, editor. Langman Medikal Embriyoloji. 11. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2011.
27. Carlson BM. Patten's Foundations of Embriyoloji. 6. Edition. McGraw-Hill, Inc., 1996.
28. Hassa H. İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Basımevi; 2003.
29. Buggia I, Zecca M, Alessandrino EP, Locatelli F, Rosti G, Bosi A et. al. Itraconazole can increase systemic exposure to busulfan in patients given bone marrow transplantation, GITMO (Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo). Anticancer Res. 1996; 16 (4A): 2083-8 p. 35
30. Gürsoy E, Koptagel E. Embriyoloji atlası. Sivas: Esnaf Ofset Matbaacılık, 1997;222.93.
31. Buratti S, Benedetti S, Cosio MS. Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. Talanta; 2007;71: 1387-1392 p. 38.
32. Grochow LB, Krivit W, Whitley CB, Blazar B. Busulfan disposition in children. Blood; 1990;15; 75 (8): 1723-7 p. 90.

33. Marchand DH, Rimmel RP, bdel-Monem MM. Biliary excretion of a glutathione conjugate of busulfan and 1,4-diiodobutane in the rat. *Drug Metab Dispos*; 1988;16 (1): 85-92 p. 162.
34. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*; 1995;25: 83-99 p. 165
35. Henrikson RC, Kaye GL, Mazurkiewicz JE. *NMS Histology*. 1. Baskı. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997.
36. Gökmen GF. *Sistematik Anatomi*. İzmir: Güven Kitabevi; 2003.
37. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. *Genel Histoloji*. 3. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2008.
38. Ahmed MH, Sabry SM, Zaki SM, El-Sadik AO. Histological, Immunohistochemical and Ultrastructural Study of the Epididymis in the Adult Albino Rat. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2009; 3 (3): 2278-89.
39. Liu J, Li JY, Wang HY, Zhang CL, Li N, Lin YQ et. al. Cloning, expression and location of RNase9 in human epididymis. *BMC Research Notes* 2008; 1: 111.
40. Cornwall GA, Orgebin-Crist MC, Hann SR. The CRES gene: a unique testis-regulated gene related to the cystatin family is highly restricted in its expression to the proximal region of the mouse epididymis. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 1653–64.
41. Robaire B, Seenundun S, Hamzeh M, Lamour SA. Androgenic regulation of novel genes in the epididymis. *Asian J Androl* 2007; 9 (4): 545–53.
42. Heemers HV, Tindall DJ. Androgen receptor (AR) coregulators: a diversity of functions converging on and regulating the AR trans-criptional complex. *Endocr Rev* 2007; 28 (7): 778-808.
43. Beu CCL, Orsi AM, Domeniconi RF. Structure of the Lining Epithelium of the Cauda Epididymis of the Golden Hamster. *Anat Histol Embryol* 2009; 38: 49–57.
44. Saleh AM, Alameldin MA, Abdelmoniem ME, Hassouna EM, Wrobel KH. On the intrinsic innervation of the epididymis of the camel. *Ann Anat* 2002; 184 (4): 305-15.
45. Jimmy D. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*. Neill, editör, Elsevier Academic Press Publications St. Louis USA; 2006.
46. Nicolson GL, Usui N, Yanagimachi R, Yanagimachi H, Smith JR. Physiology of the epididymis and spermatozoa. *Journal of Biosciences* 1997;7 (2): 191-5.

47. Hu S, Yao G, Guan X. Research Resource: Genome-Wide Mapping of in Vivo Androgen Receptor Binding Sites in Mouse Epididymis. *Mol. Endocrinol* 2010;(24): 2392-405.
48. Patrao M, Silva E, Avellar MC. Androgens and the male reproductive tract: an overview of classical roles and current perspectives. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009;53 (8): 934-45.
49. Cool J, Capel B. Mixed Signals: Development of the Testis. *Semin Reprod Med* 2009;27 (01): 005-13.
50. Renfree MB, Fenelon J, Wijiyanti G, Wilson JD, Shaw G. Wolffian duct differentiation by physiological concentrations of androgen delivered systemically. *Dev Biol.* 2009;334 (2): 429-36.
51. Seenundun S, Robaire B. Time-dependent rescue of gene expression by androgens in the mouse proximal caput epididymidis-1 cell line after androgen withdrawal. *Endocrinology* 2007;148 (1): 173-88.
52. Jantosovicova J. Topographico-anatomic data on the testicular artery, ductus deferens artery and cremaster artery in the stallion. *Gegenbaurs Morphol Jahrb* 1983;129 (4): 467-82.
53. Aytekin Y, Solakoğlu S, editorler. *Temel Histoloji*. 10. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2006.
54. Ross MH, Pawlina W. *Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology*. 5. Edition. Philadelphia: Lippincott W&W; 2006; 729-747 p. 212-213.
55. [www.androloji.info/ders-notlari-epididim-php](http://www.androloji.info/ders-notlari-epididim-php)
56. Hirai S, Naito M, Terayama H. Difference in abundance of blood and lymphatic capillaries in the murine epididymis. *Medical Molecular Morphology* 2009;43 (1): 37-42.
57. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, editor. *Fizyoloji*. 5. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.
58. Çavuşoğlu H, Çağlayan YB, editorler. *Tıbbi Fizyoloji*. 11. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007.
59. Bozdoğan Ö. *Fizyoloji*. 2. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2004.
60. Yaman K. *Fizyoloji*. 3. Baskı. Bursa: Vipaş; 1999
61. Kumar A, Prakash TC, Prasad MRN. *Anat. Anz.* 1980; 147-220.

62. Üçüncü İşisağ S, Ergen G, Arıkan H. Histoloji. 2. Baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları; 2009.
63. Priscilla HD, Prince SM. Cardioprotective effect of Gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions* 2009.
64. Sarıkaya O. Funguslar İle Gallik Asit Üretiminde Çeşitli Bitkisel Atıkların Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı; 2005.
65. Tappel AL. Lipid Peroxidation Damage To Cell Components. 1973;32; 1870-1874.
66. Tekeli Y, Sezgin M, Sanda A. Konya’da Yetişen *Centaurea pterocaula* truatv. ‘in Fenolik Yapısı Ve Antioksidan Etkisi. *SDU Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (e-Dergi)*, 2008;3(1),35-41.
67. Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2001;48(4):487-91.
68. Pellegrina CD, Padovani G, Mainente F, Zoccatelli G, Bissoli G, Mosconi S et. al. Anti- tumour potential of a gallic acid-containing phenolic fraction from *Oenothera biennis*. *Cancer Letters* 2005;226, 17–25.
69. Sakaguchi N, Inoue M, Ogihara Y. Reactive oxygen species and intracellular Ca<sup>2+</sup>, common signals for apoptosis induced by gallic acid. *Biochemical Pharmacology* 1998; 1973–1981.
70. Tunalıer Z, Öztürk N, Koşar M, Başer KH, Duman H, Kırimer N. Bazı Sıderitis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiriler; Eskişehir: 2002;130-138.
71. Baser KH. Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri kitapçığı; Eskişehir: 2002; 31-44.
72. Burak M, Çimen Y. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Klinik Tıp Bilimleri* 1999;296-304.
73. Kağa S. Streptozotolin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Papatya Ekstresinin Antidayabetik ve Antioksidatif Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar: Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.

74. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes. Diabetes Care. 2003 Jan;26 Suppl 1:S5-20.
75. Pickup J, Williams G, editors. Classification and Diagnosis Of Diabetes Mellitus. In: Textbook Of Diabetes. London: Blackwell Scientific Publications; 1991.
76. Yılmaz B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Ankara: Feryal Matbaacılık; 1999.
77. Öztürk F, Iraz M, Eşrefoğlu M, Kuruş M, Gül M, Otlı A. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005;12(1): 1-4.
78. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 2004;27 (5): 1047-53.
79. Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S ve ark. The TURDEP Group: Population-Based Study Of Diabetes And Risk Characteristics in Turkey: Result Of The Turkish Diabetes Epidemiology Study. Diabetes Care 2002;25: 1551-1556.
80. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2001;1: 51-62.
81. Engelgau MM, Geiss LS, Saaddine JB, Boyle JP, Benjamin SM, Gregg EW et. al. The evolving diabetes burden in the United States. Ann Intern Med 2004;140:945-950
82. <http://www.who.int/en/>
83. Kahn R, Weir C, King L, Jacobson M, Moses C, Smith J. Joslin's Diabetes Mellitus. 14. Baskı. İstanbul: İstanbul Medical Yayıncılık Ltd. Şti. 2008;333-348.
84. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R. Robbins Basic Pathology. 2000.
85. Cowie CC, Rust KF, Ford ES, Eberhardt MS, Byrd-Holt DD, Li C et. al. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the U.S. population in 1988-1994 and 2005-2006. Diabetes Care 2009;32(2):287-94
86. Ritz E, Rychlik I. Nephropathy in Type 2 diabetes. Oxford: Oxford Press 1999;45-50.
87. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 4. Baskı. Ankara: Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın Şti. 2009; 15-28, 95-126.
88. Poretzky L. Principles of Diabetes Mellitus. 2nd edition. London: Springer; 2010.

89. Bağrıaçık N. Tanı, Komplikasyonlara Yaklaşım, Tedavi Konsensus El Kitabı. İstanbul: Novo Nordisk Diyabet Servisi Yayınları; 1997; 3–24.
90. Myers AR. Endokrin ve Metabolik Hastalıklar-NMS İç Hastalıkları. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1998; 449–92.
91. Robins C. Temel Patoloji, Endokrin Sistem Hastalıkları. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1995.
92. İliin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. Temel İç Hastalıkları. 2. Baskı. İstanbul: Güneş Kitabevi; 2003;2321–23.
93. Klein R, Klein B. Epidemiology of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes care* 1992;15,1875–91.
94. Damcı T. İnsülin Tedavisi, Diyabet, Obezite ve Metabolizma Hastalıkları Sempozyumu. İstanbul: 2000; 37–46.
95. Arkam K, Pedersen BU, Carstensen B, Borch-Johnsen K, Thorsteinsson B. Frequency and risk factors of severe hypoglycaemia in insulin-treated Type 2 diabetes: a cross-sectional survey. *Diabetic Med* 2006.
96. [Internet] [(7): 750–756. Erişim 10.01.2007]. Available from: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/118552981/abstract>
97. Başkal N. Diabetes Mellitus, Klinik Endokrinoloji. Ankara: Antıp AŞ Yayınları; 1997.
98. Charfen MA, Fernandez FM. Diabetic ketoacidosis [Internet]. *Emerg Med Clin North Am.* 2005; [(3): 609–628. Erişim 04.04.2008] Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15982537>
99. Gedik O, Akalın S. Modern Tıp Seminerleri, Diabetes Mellitus. Ankara: Güneş Kitabevi Yayınları; 1989.
100. Kabaca G. Diabetik Sıçanlarda Selenyumun Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri. İ. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi. İstanbul: 2007.
101. Otto C, Richter WO. Hypoglycemia; Symptoms, differential diagnosis, Therapy [Internet]. *Fortschr Med.*, 1997 [updated 2007 Feb 01; 115(6): 37–39]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9173011>
102. ADA (American Diabetes Association). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29 (1): 37-48.

103. Ekoé JM, Ghadirian P, Simard A, Baillargeon J, Perret C. Diabetes mellitus and pancreatic cancer: a case-control study in greater Montreal. Quebec, Canada: Rev Epidemiol Sante Publique 1992;40 (6):447-53.
104. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, editors. Biyokimya. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1997.
105. Menteş G, Ersöz B, editorler. Harper'ın Biyokimyası. İstanbul: Barış Kitabevi. 1993.
106. Rubin RJ, Altman WM, Mendelson DN. Health care expenditures for people with diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1994;78 (4):809A-809F.
107. Türkoğlu Ç, Duman BS, Günay D. Tip 2 Diyabet Hastalarında Lipotoksisiteye Bağlı İnsülin Direncinin Acipimox'la Tedavisi. Diyabet Bilimi; 2003;1 (3): 91-95.
108. Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL. Copper, Zinc, Manganese, Magnesium Status and Complications of Diabetes Mellitus. Diabetes Care; 1991;14: 1050-1056.
109. Neugebauer S, Baba T, Watanabe T. Association of The Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism With An Increased Risk For Progression to Diabetic. Diabetes; 2000; 40(3): 500-504.
110. Kara İ. Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Alfa Lipoik Asidin Testis Dokularında Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi. Konya Selçuk Üniversitesi; 2010.
111. Uçkun A, Çalikoğlu AS. Çocukluk Çağında Tip 2 Diyabet. 2003;Steed 12 (5): 174-193
112. Scobie IN. Atlas of Diabetes Mellitus. 3. edition. UK: Informa UK Ltd.; 2007;1-14, 63-69.
113. Pickup JC, Williams G. Textbook of Diabetes. 2. Edition. Volume 1. Blackwell Science, Inc; 2002.
114. Bell RH, Hye RJ. Animal Models of Diabetes Mellitus: Physiology and Pathology. Journal of surgical Research 1983; 35: 433-460.
115. Takada J, Machado MA, Peres SB, Brito LC, Borges-Silva CN, Cecília EM et. al. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance. Elsevier 2007;977-984.
116. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res 2001;50: 536-546
117. Tesch GH, Allen TJ. Rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. Nephrology 2007;12: 261-266

118. Bolzán AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res* 2002;512: 121–134.
119. Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergisi* 2007;17(4), 231-236.
120. Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu AN. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev* 1996;48, 69-112.
121. Halliwell B. Food-derived antioxidants: How to evaluate their importance in food and in vivo. *New York: Handbook of Antioxidants*; 2001;1-45.
122. Van den Berg R, Haenen GRMM, van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*; 1999;66: 511-517.
123. Bektaşoğlu B. Hidroksil radikal süpürülmesine dayalı antioksidan aktivite ölçümünde yeni bir yöntem geliştirilmesi. Yüksek lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü; 2007.
124. Cross CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *Ann.Int.Med.* 1987; 107, 526-545.
125. Shahidi F. *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications.* AOCS Press, Champaign, Illinois; 1996;0-935315-77-2.
126. Keleştemur GT, Özdemir Y. Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2011; 4(1), 69-73.
127. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004; 15 (1-2), 91-96.
128. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Bio.Med.Bul,* 1993;49, 481-493.
129. Akça A. Biber çeşitlerinin antioksidan kapasiteleri ve bileşenleri açısından değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi, İ. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü; 2013.
130. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005;3, 30-39.
131. Gürsoy Ş. Düzenli spor yapan öğrenci gruplarında egzersizin total antioksidan kapasite ve serum lipit profili üzerine etkisi. Doktora tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
132. Pihlanto A. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal* 2006;16, 1306-1314.
133. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp*

Dergisi Cilt 35 (4).

134. Janos Z, Krishnamurti D. Oxidative Stres and Disease 10: Nutrients and cell signaling. Taylor & Francis 2005.

135. Somuncu S, Cakmak M, Dikmen G, Akman H, Kaya M. Ischemia-reperfusion injury of rabbit ovary and protective effect of trapidil. An experimental study. *Pediatr Surg Int.* 2008;24:315-318.

136. Altay B, Çetinkalp S, Doğanavsargil B, Hekimgil M, Semerci B. Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis. *Fertility and Sterility* 2003.

137. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi* 2006; 31(2);51-56.

138. Baccetti B, Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F, Leo V. İnsulin dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Human Reproduction* 2002;17: 2673-2677.

139. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Guinovart JJ, Rodriguez-Gill JE. İnsulin dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J Androl* 2004;25 (5):706-19.

140. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stres in diabetic complications. *Diabetes* 1999;48:1-9.

141. Shrilatha B, Muralidhara. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocininduced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. *Reprod Toxicol* 2007;23: 578-587.

142. Shrilatha B. Muralidhara. Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defences and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the Streptozotocin-diabetic rat. *Int J Androl* 2007;30 (6): 508-18

143. Son SM. Role of vascular reactive oxygen species in development of vascular abnormalities in diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;77: 65-70.

144. Aydın A, Sayal A, Işimer A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Ankara: Gata Basımevi; 2001.

145. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine* 2002;1: 1–14.

146. Halifeoğlu Ő, Karataş, F, olak R, Canatan H, Telo S. Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi ncesi Ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. Fırat Tıp Dergisi 2005;10(3): 117–122.
147. Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. Br Med Bull 1993;49: 642–652.
148. Kajimoto Y, Kaneto H. Role Of Oxidative stress in pancreatic-cell dysfunction. Ann. N.Y. Acad. Sci 2004;1011: 168–176.
149. zdemir G. Relatif oksijen partikülleri. Roche Bilimsel Eserler Serisi 1993; 1–5.
150. Akkuő İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları; 1995.
151. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. Physiol Rev 1998;78:547-581.
152. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006.
153. Karabulut AB. Hepatit B’li Hastalarda Eritrosit ve Lenfosit Antioksidan Enzimler, Nitrik Oksit Düzeyleri ve Plazma Stokinleri. Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2001.
154. Yılmaz S, Ozan TS. Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. Türk Biyokimya Dergisi 2003;28(4): 252–256.
155. Kuru M. Diyabetik Nefropati Oluşturulmuş Ratlarda Pioglitazonun Antioksidan Parametreler ve Patolojik Süreçlere Etkileri. Uzmanlık Tezi; Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İ Hastalıkları Blm; 2009.
156. El-Missiry MA, Shalaby F. Role of beta-carotene in ameliorating the cadmium-induced oxidative stress in rat brain and testis. J Biochem Mol Toxicol 2000;14: 238-243.
157. Orozco TJ, Wang JF, Keen CL. Chronic consumption of a flavanol- and procyanidin-rich diet is associated with reduced levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat testes. J Nutr Biochem 2003;14: 104-110.
158. Cai L, Chen S, Evans T, Deng DX, Mukherjee K, Chakrabarti S. Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. Urol Res 2000;28: 342-347.
159. Cutler RG, Plummer J, Chowdhury K, Heward C. Oxidative stress profiling: Part II. Theory, Technology, and Practice. Ann NY Acad Sci 2005.
160. <http://www.oksante.com.tr/Oksantest.pdf>

161. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep* 2005;57: 90-96.
162. Merzouk H, Madani S, Chabane- Sari, D. Prost J, Bouchenak M and Belleville J. Time course of changes in insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 2000;98: 21-30
163. Coşkun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 2005;51: 117-123.
164. Demir R, Yilmazer S, Öztürk M, Üstünel İ, Demir N, Korgun ET ve ark. *Histolojik Boyama Teknikleri*. Palme yayıncılık; 2001;227-38.
165. Kuehnel W. *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy*. Thieme; 2003.
166. Galati G, O'Brien PJ. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: Significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology & Medicine* 2004;287-303.
167. Kefeli VI, Kalevitch MV, Borsari B. Phenolic cycle in plants and environment. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2003;2:13-18.
168. Labieniec M, Gabryelak T. Interactions of tannic acid and its derivatives (ellagic and gallic acid) with calf thymus DNA and bovine serum albumin using spectroscopic method. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology* 2006;82, 72-78.
169. Morton LW, Caccetta RAA, Puddey IB & Croft KD. Chemistry and Biological effects of Dietary Phenolic Compounds: Relevance to Cardiovascular Disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2000;27, 152- 1559.
170. Yıldız H, Baysal T. Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi* 2003;29-35.
171. Curcio M, Puoci F, Iemma F, Parisi OI, Cirillo G, Spizzirri UG et. al. Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009;57: 5933–5938.
172. Strlic M, Radovic T, Kolar J, Pihlar B. Anti- and prooxidative properties of gallic acid in Fenton-type systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002;50: 6313-6317.

173. de Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaer E, Renard P, Munoz C, Millan M.J. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat. Rev. Drug. Discov* 2010;9: 628–642.
174. Girish MB, Bhuvana K, Nagesh Raju G, Sarala N. A novel atypical antidepressant drug: agomelatine. a review. *Int.J.Pharm. Biomed. Res.* 2010;1: 113–116.
175. Zupancic M, Guilleminault C. Agomelatine – a preliminary review of a new antidepressant. *CNS Drugs* 2006;20: 981–992.
176. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine* 2005;27: 119–130
177. Eser D, Bahai TC, Möller H-J Agomelatine: The evidence for its place in the treatment of depression. *Core Evidence* 2009;3:171-179.
178. Rao VP, Prabhakar T, Naveen ChR. Clinical and pharmacological review on novel melatonergic antidepressant: Agomelatine. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2010;1:446-450.
179. Tinant B, Declercq JP, Pupaert JH. N-[2-(7-Methoxy-1-naphthyl)ethyl]acetamide, a potent melatonin analog. *Acta Cryst, C*50:907-910.
180. Sansone RA, Sansone LA. Agomelatine: A novel antidepressant. *Innov Clin Neurosci.* 2011;1994;8:10-14.
181. Srinivasan V, Zakaria R, Othman Z, Lauterbach EC, Acuña-Castroviejo D. Agomelatine in Depressive Disorders: Its Novel Mechanisms of Action. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 2012;24:290-308.
182. Öztürk F. Apoptoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002;9 (2):143-148.
183. Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi* 2004;5 (2): 110-115.
184. Tomatır AG. Apoptoz; programlı hücre ölümü. *T. Klin. J. Med. Sci.* 2003;23: 499-508.
185. Çalışkan M. Apoptosis: Programlanmış Hücre Ölümleri. *TÜBİTAK Turk J Zool.* 2000;24: 31-35.
186. Akşit H, Bildik A. Apoptozis. *YYÜ VET FAK DERGİSİ* 2008; 19(1): 55,6.
187. Galle PR. Apoptosis in liver disease. *Journal of Hepatology* 1997;27: 405-412.

188. Dayan YB, Kaveri SV, Kazatchkine MD, Shoenfeld Y. Is cancer an autoimmune process dependent on anti-apoptotic autoantibodies? *Medical Hypotheses* 2000; 55 (2): 103–108.
189. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi* 2001;2(1): 91-95.
190. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon With Wide Ranging Implications In Tissue Kinetics. *Br. J. Cancer* 1972;26 (4): 239-57.
191. Walker NI, Harmon BV, Gobe GC, Kerr JFR. Patterns of cell death. *Methods Achiev Exp Pathol* 1988;13: 18-32.
192. Buyru N, Dalay N, Özgüç M, editorler. *Hücrenin Moleküler Biyolojisi*. 4. Baskı. USA: Garland Science Taylor and Francis Group; 2002.
193. Yamada KM. Cell surface interactions with extracellular material. *Annu. Rev. Biochemistry* 1983;761-799.
194. Dickinson CD, Veerapondion B, Dai XP, Hamlin RC, Xuong NH, Ruoslahti E et. al. Crystal structure of the tenth type III cell adhesion module of human fibronectin. *J. Mol. Biol* 1994;1079-1092.
195. Hynes RO, Zhao Q. The evolution of cell adhesion. *J. Cell Biol* 2000;150 (2), F89-F96.
196. Main AL, Harvey TS, Baron M, Boyd J, Campbell ID. The threedimensional structure of the tenth type III module of fibronectin: an insight into RGD-mediated interactions. *Cell* 1992;671-678.
197. Pankov R, Yamada KM. Fibronectin at a glance. *J. Cell. Sci.* 2002; 115 (20), 3861- 3863.
198. Sottile J, Hocking DC. Fibronectin polymerization regulates the composition and stability of extracellular matrix fibrils and cell-matrix adhesion. *Mol. Biol. Cell* 2002;13 (10), 3546 -3559.
199. Watt FM. The extracellular matrix and cell shape. *TIBS* 1986;11, 482-85.
200. Cooper MG, Hausma RE. *The Cell A Molecular Approach*. 3. Edition. Washington: ASM Pres; Inc; 2004.
201. Tamkun JW, Hynes RO. Plasma fibronectin is synthesized and secreted by hepatocytes. *J Biol. Chem* 1983;258: 4641-4647.

202. Aznavoorian S, Stracke ML, Krutzsch H, Schiffmann E, Liotta LA. Signal transduction for chemotaxis and haptotaxis by matrix molecules in tumour cells. *J. Cell Biol.* 1990;110:1427-1438.
203. Cho J, Mosher DF. Role of fibronectin assembly in platelet thrombus formation. *J. Thromb. Haemost.* 2006;4:1461-1469.
204. Mosher DF, editor. Fibronectin in wound healing. In *Fibronectin*. New York: Academic Press. 1989.
205. Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials* 2003;24:4385-4415.
206. Rich A, editor. *Fibronectins*. Springer Series in Molecular Biology. New York: Springer; 1990.
207. Liotta LA, Rao CN, Wewer UM. Biochemical interactions of tumor cells with the basement membrane. *Annu. Rev. Biochem.* 1986;55:1037-1057.
208. Mao Y, Schwarzbauer JE. Fibronectin fibrillogenesis, a cell mediated matrix assembly process. *Matrix Biol.* 2005;24:389-399.
209. Midwood KS, Mao Y, Hsia HC, Valenick LV, Schwarzbauer JE. Modulation of cell fibronectin matrix interactions during tissue repair. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2006;11:73-78.
210. Pick-Kober KH, Munker D, Gressner AM. Fibronectin is synthesised as an acute phase reactant in rat hepatocytes. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1986;24:521-528.
211. Potts JR, Campbell ID. Structure and function of fibronectin modules. *Matrix Biology* 1996;15:313-320.
212. Rossen RD, Rubio JA, Porter WJ, Trial J, Orson FM, Rodriguez-Barradas MC, Birdsall HH. Monocyte CD49e and 110-120 kDa fibronectin fragments: HIV prognostic indicators independent of viral load and CD4 T-cell counts. *AIDS* 2009;23: 2247-2253.
213. Ruoslahti E. Fibronectin and its receptors. *Annu. Rev. Biochem.* 1988;57:375-413.
214. Sandig H, McDonald J, Gilmour J, Arno M, Lee TH, Cousins DJ. Fibronectin is a TH1-specific molecule in human subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009;124:528-535.
215. Mosher DF, editor. Role of fibronectin in embryogenesis. In *Fibronectin*. New York: Academic Press; 1989.

216. Viji RI, Kumar VB, Kiran MS, Sudhakaran PR. Angiogenic response of endothelial cells to heparin-binding domain of fibronectin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2008;40:215-226.
217. Wierzbicka-Patynowski I, Schwarzbauer JE. The ins and outs of fibronectin matrix assembly. *J. Cell Sci.* 2003;116:3269–3276.
218. Li NC, Kanda K, Fukumori T, Inoue Y, Nishitani M, Kanayama H, Kagawa S. Expression of vascular endothelial growth factor in bladder cancer. *Urol Oncol* 2000;6:10-15.
219. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol.* 2005;10;23(5):1011-27.
220. Klein B, Zhang XG, Lu ZY, Bataille R. Interleukin-6 in human multiple myeloma. *Blood.* 1995;15;85(4):863-72.
221. Podar K, Tai YT, Davies FE, Lentzsch S, Sattler M, Hideshima T et. al. Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood.* 2001;15;98(2):428- 35.
222. Yazır Y. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) reseptörleri ve fonksiyonları. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2007;29 (3): 128-136.
223. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000;11: 517-24.
224. Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signaling and endothelial function. *IUBMB Life* 2001;52: 61-6.
225. Ferrara N, Gerber HP, Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-76.
226. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200: 587-597.
227. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginin: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol.* 1989;38:1709-15.
228. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factors. *Nature* 1988;327: 524-6.
229. Panagiotidis G, Alm P, Lundquist I. Inhibition of islet NO synthase increases arginine-induced insulin release. *Eur. J. Pharmacol.* 1992;229: 277-81.

230. Torrealles J. Nitric oxide: One of the more conserved and widespread signaling molecules. *Frontiers in Bioscience* 2001;6:1161-1172.
231. The management of infertility due to obstructive azoospermia. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Male Reproduction and Urology. *Fertil Steril* 2008;90(5 Suppl):S121-124.
232. Bredt DS and Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic Messenger molecule. *Annu Rev Biochem.* 1994;63, 175- 195.
233. Leila MM, Kennedy CR and Geraldine MH. Expression of nitric oxide synthase and effect of substrate manipulation of the nitric oxide pathway in mouse ovarian follicles. *Human Reproduction* 2004;30- 40.
234. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum. Reprod.* 1998;3- 24.
235. Chun SY, Eisenhauer KM, Kubo M and Hsueh AJW. Interleukin-1b suppresses apoptosis in rat ovarian follicles by increasing nitric oxide production. *Endocrinology* 1995;136, 3120- 3127.
236. Dixit VD, Parvizi N. Nitric oxide and the control of reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 2001;65 (1- 2), 1- 16.
237. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1975;72: 3666-70.
238. Diker KS. İmmunoloji. 1. Baskı. Ankara: Medisan yayınevi; 1998.
239. Schling P, Rudolph C, Heimerl S, Fruth S and Schmitz G. Expression of tumor necrosis factor alpha and its receptors during cellular differentiation. *Cytokine* 2006;33: 239-45.
240. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan E, Mathison J et. al. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985;316;552-554.
241. Özbal Y. Temel İmmünoloji. 2. Baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri; 2000.
242. Kılıçturgay K. İmmünoloji. 3 baskı. Bursa: Nobel&Günes yayınevi; 2003.
243. Aggarwall BB, Kohr WJ, Hass PE, Moffat B, Spencer SA, Henzel WJ et. al. Human tumor necrosis factor. Production, purification and characterization. *J Biol Chem* 1985;260(4): 2345-54.

244. Grau GE, Taylor TE, Molyneux ME, Wirima JJ, Vassali P, Hommel M. Tumor necrosis factor and disease severity in children with falciparum malaria. *N Engl J Med*. 1989;1586-91.
245. Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin / Tumour necrosis factor. *Lancet* 1989;1122– 6.
246. Atabey N, Gökoğlu M, Atabey A. Tümör nekroz faktörü. *Ç. Ü. Tıp Fak. Der.* 1989;3:458-64.
247. Beutler B, Cerami A. Cachectin: More than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987;316 (7): 379-85.
248. Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest* 2003;124(3), 1103-1115.
249. LIN SH, WANG ZS. Study on the Expression of Androgen Receptor in Testis, Epididymis and Prostate of Adult Rats with Diabetes. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005;11(12), 891-4.
250. Altay B, Cetinkalp S, Doganavsargil B, Hekimgil M, Semerci B. Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis. *Fertility and Sterility* 2003;828-831.
251. John H. McNeill. *Experimental models of diabetes*. 1st ed. Informa Healthcare 1999: 3-14
252. Savion S, Gidon-Dabush S, Fein A, Torchinsky A, Toder V. Diabetes teratogenicity is accompanied by alterations in macrophages and T cell subpopulations in the uterus and lymphoid organs. *Int Immunopharmacol* 2004;4:1319-27.
253. Favaro RR, Salgado RM, Raspantini PR, Fortes ZB, Zorn TMT. Effects of long-term diabetes on the structure and cell proliferation of the myometrium in the early pregnancy of mice. *Int J Exp Pathol* 2010;91:426-35.
254. Khaneshi F, Nasrolahi O, Azizi S, Nejati V. Sesame effects on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Avicenna J Phytomed* 2013;3:347-355.
255. Ramzy MM, El-Sheikh AAK, Kamel MY, Abdelwahab SA, Morsy MA. Mechanism of testicular protection of carvedilol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J Pharmacol*. 2014;46(2): 161-165.

256. Niu J, Gilliland MGF, Jin Z, Kolattukudy PE, ve Hoffman WH. MCP-1 and IL-1 $\beta$  expression in the myocardia of two young patients with Type 1 diabetes mellitus and fatal diabetic ketoacidosis. *Exp Mol Pathol* 2013.
257. Zimmet P, Albert K, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. London: *Nature* 2001;414:782-787.
258. Lee IC, Kim KH, Kim SH, Baek HS, Moon C, Kim SH et. al. Apoptotic cell death in rat epididymis following epichlorohydrin treatment. *Hum Exp Toxicol* 2013;32:640
259. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res.* 2008;40(4):354-60.
260. Bayramoglu G, Senturk H, Bayramoglu A, Uyanoglu M, Colak S, Ozmen A ve ark. Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced diabetic rats. *Cytotechnology* 2013.
261. Hida W, Shindoh C, Satoh J, Sagara M, Kikuchi Y, Toyota T et. al. N-acetylcysteine inhibits loss of diaphragm function in streptozotocin-treated rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996.
262. Karaiskos D, Tzavellas E, Ilias I, Liappas I, Paparrigopoulos T. Agomelatine and sertraline for the treatment of depression in type 2 diabetes mellitus. *Int J Clin Pract* 2013;67:257-60.
263. Punithavathi VR, Prince PSM, Kumar R, Selvakumari J. Antihyperglycaemic. Antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *Eur J Pharmacol* 2011;650:465-471.
264. Zeybek B, Ergenoglu M, Erbas O, Yildirim N, Akdemir A, Yavasoglu A ve ark. High-dose atorvastatin ameliorates the uterine microenvironment in streptozotocin-induced diabetic rats. *Gynecol Endocrinol.* 2014;3:1-5.
265. Francavilla S, De Martino C, Scorza BP, Natali PG. Ultrastructural and immunohistochemical studies of rat epididymis. *Cell Tissue Res.* 1983;233(3):523-37.
266. O'Bryan, MK, Zini A, Cheng CY, Schlegel PN. 1998, Human sperm endothelial nitric oxide synthase expression: correlation sperm motility. *Fertility and Sterility* 1998;1143-1147.
267. Revelli A, Soldati G, Costamagna C, Pellerey O, Aldieri E, MAassobrio M et. al. Follicular Fluid Proteins Stimulate Nitric Oxide (NO) Synthesis In Human Sperm:

A Possible Role For Acrosomal Reaction. *Journal of Cellular Physiology* 1999-a;178:85-92.

268. Revelli A, Costamagna C, Moffa F, Aldieri E, Ochetti S, Bosia A et. al. Signaling Pathway Of Nitric Oxide-Induced Acrosome Reaction in Human Spermatozoa. *Biology of Reproduction* 2001-b;64, 1708-1712.

269. Zini A, O'Bryan MK, Magid MS, Schlegel PN. Immunohistochemical Localization of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Human Testis, Epididymis, and Vas Deferens Suggests a Possible Role for Nitric Oxide in Spermatogenesis, Sperm Maturation, and Programmed Cell Death. *Biology of Reproduction* 1996;55: 935-941.

270. O'Bryan MK, Schlatt S, Gerdprasert O, Phillips DJ, De Kretser DM, Hedger MP. Inducible Nitric Oxide Synthase in The Rat Testis: Evidence For Potential Role In Both Normal Function And Inflammation-Mediated Infertility. *Biol Reprod* 200;63:1285-1293.

271. Park MH, Heo SJ, Park PJ, Moon SH, Sung SH, Jeon BT et. al. 6,6'-Bieckol Isolated from *Ecklonia cava* Protects Oxidative Stress Through Inhibiting Expression of ROS and Proinflammatory Enzymes in High-Glucose-Induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Appl Biochem Biotechnol* 2014.

272. Hessle CC, Andersson B, Wold AE. Gram-positive and Gram-negative bacteria elicit different patterns of pro-inflammatory cytokines in human monocytes. *Cytokine* 2005;30:311-8

273. Lysiak JL. The role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 in the mammalian testis and their involvement in testicular torsion and autoimmune orchitis. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:9.

274. Ahmed HH, Abdalla MS, Eskander EF, Al-khadragy, Massoud MN. Hypolipidemic influence of *Sargassum subrepandum*: mechanism of action. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2012;16(3): 112-20.

275. Joo IIW, Ryu JH, Oh HJ. The Influence of Sam-Chil-Geun (*Panax Notoginseng*) on the Serum Lipid Levels and Inflammations of Rats with Hyperlipidemia Induced by Poloxamer-407. *Yonsei Med J.* 2010;51(4): 504-10.

276. Yi J, Xiaohui L, Ya L, Haigang Z. Atherosclerosis lesion is accelerated by persistent systemic inflammation but attenuated by saponins from *Panax Notoginseng* in rabbits. *J. Med. Col. PLA.* 2008;23: 38-44.

277. Hotamisligil GS, Bruce M Spiegelman BM. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ : A Key Component of the Obesity-Diabetes Link. *Diabetes* 1994;43:1271-1278, 1939-327.
278. Cooper ME, Vranes D, Youssef S, Stacker SA, Cox AJ, Rizkalla B et. al. Increased Renal Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor VEGFR-2 in Experimental Diabetes. *Diabetes* 1999;48:2229.
279. Boyer DS, Hopkins JJ, Sorof J, Ehrlich JS. Anti-vascular Endothelial Growth Factor Therapy for Diabetic Macular Edema. *Ther Adv in Endo and Metab* 2013;4:151-169.
280. Zhang QY, Qiu SD, Ge L. Studies on expression and location of VEGF protein in rat testis and epididymis. *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao*. 2004;37(1):1-8.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Hülya Uğur

**Doğum Tarihi:** 30.01.1990

**Öğrenim Durumu:** Lisans

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Fen-Edebiyat Fakültesi/Biyoloji Bölümü	Marmara Üniversitesi	2008-2012
Yüksek Lisans	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Ege Üniversitesi	2012-

### Staj Deneyimlerim

Marmara Üniversitesi Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı – İnfeksiyon Hastalıkları Araştırma Laboratuvarı – 01.07.2009 - 15.07.2009

İzmir İl Çevre ve Orman Müdürlüğü – 01.07.2009 - 31.07.2009

İzmir Adli Tıp Kurumu – Biyoloji İhtisas Dairesi – 01.07.2010 - 30.07.2010

The University of Nottingham (İngiltere-Nottingham) School of Clinical Sciences, Division of Stroke - 3 ay - 2013 (Erasmus Programı)

### Sertifikalarım – Katılım Belgelerim

1. İstanbul Teknik Üniversitesi 3. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kongresi – Katılımcı (2009)

2. Ege Üniversitesi Uluslararası Katılımlı 3. Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma ile Uygulama Platformu – Katılımcı (2009)
3. Marmara Üniversitesi 1. Kök Hücre Sempozyumu – Katılımcı (2010)
4. 18. Ulusal Biyoloji Kongresi – Yönetim Kurulu Üyesi (2011)
5. Pedagojik Formasyon Sertifika Programı (2012)
6. Erasmus Staj Hareketliliği Katılım Belgesi – The University of Nottingham (2013)