

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

HİPERTERMİDE TUBA UTERİNA YAPISI

Yüksek Lisans Tezi

Gülşen GULUZADE

Tez Danışmanı: Prof. Dr.Celal ILGAZ

Ankara
Haziran-2010

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

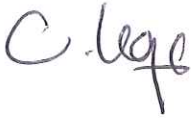
**Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 18 /06/2010



**Prof.Dr.Deniz Erdoğan
Gazi Üniversitesi**

**Prof.Dr.Celal Ilgaz
Gazi Üniversitesi**



**Doç.Dr.Meltem Bahçelioğlu
Gazi Üniversitesi**



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Resimler	v
Kısaltmalar ve Simgeler	ix
1. Giriş	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tuba Uterina gelişimi	5
2.2. Tuba Uterina'nın Anatomisi (Salpinx, Fallop Kanalı)	10
2.2.1. İfundibulum Tubae Uterina	10
2.2.2. Ampulla Tubae Uterinae	11
2.2.3. İsthmus Tubae Uterina	11
2.2.4. Pars Uterina (İntramural Parça)	11
2.2.5. Tuba Uterina'nın Damarları	12
2.2.6. Tuba Uterina'nın Sinirleri	12
2.3. Tuba Uterina'nın Histolojisi	13
2.3.1. Tunika mukoza	13
2.3.2. Epitelyum	13
2.3.3. Kinosilyalı Hücreler	14
2.3.4. Salgı Hücreleri (Peg Hücreleri)	15
2.3.5. Lamina propriya	17
2.3.6. Tunika muskularis	17
2.3.7. Tunika seroza	17
2.4. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi	18
2.5. Hipertermi	21
2.5.1. Vücut Isısı	21
2.5.2. Isı Dengesi	21
2.5.3. Isı Üretimi (Termogenezis)	22
2.5.4. Vücut Isısının Düzenlenmesi	22

2.5.5. Vücut Sıcaklığını Ayarlayan Mekanizmalar	23
2.5.6. Isı Düzenlenmesi (Termoregulasyon)	24
2.5.7. Isı Düzenlenmesi ve Hormonsal Katkıları	26
2.6. Serbest Radikaller	29
2.6.1. Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hasarlar	30
2.6.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	31
2.6.3. Süperoksit Dismutaz	32
2.7. Kullanılan Antikorlar	33
2.7.1. HSP 70	33
2.7.2. Apoptozis	35
2.7.3. Kaspazlar	38
2.7.4. Kaspaz 3	39
2.7.5. Kaspaz 8	40
2.7.6. Kaspaz 9	40
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	42
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	42
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem	42
4. BULGULAR	45
4.1. Kaspaz 3 Bulguları	45
4.2. Kaspaz 8 Bulguları	46
4.3. Kaspaz 9 Bulguları	46
4.4. HSP 70 Bulguları	47
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇ	92
7. ÖZET	93
8. SUMMARY	95
9. KAYNAKLAR	97
10. EKLER	118
11. TEŞEKKÜR	119
12. ÖZGEÇMİŞ	120

RESİMLER

Resim 1: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 49

Resim 2: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 50

Resim 3: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 51

Resim 4: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 52

Resim 5: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 53

Resim 6: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 54

Resim 7: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 55

Resim 8: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 56

Resim 9: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 57

Resim 10: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 58

Resim 11: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 59

Resim 12: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 60

Resim 13: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 61

Resim 14: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 62

Resim 15: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 63

Resim 16: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 64

Resim 17: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 65

Resim 18: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 66

Resim 19: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 67

Resim 20: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 68

Resim 21: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 69

Resim 22: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 70

Resim 23: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 71

Resim 24: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 72

Resim 25: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 73

Resim 26: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 74

Resim 27: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 75

Resim 28: SOD uygulanan ve 30 dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 76

Resim 29: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400). 77

Resim 30: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 78

Resim 31: SOD uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı gruba ait tuba uterina dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000). 79

KISALTMALAR VE SİMGELER

TBF: Testis Belirleyici Faktör

A. a. Arter

V.v: Ven

DNA: Deoksiribonükleik Asit

SOD: Süperoksit Dismutaz

HSP: Isı Şok Proteini

GRP: Glikoz Düzenleyici Protein

RNA: Ribonükleik Asit

ICAD: Deoksiribonükleaz İnhibitörü

CAD: Deoksiribonükleazlar

NGF: Sinir Büyüme Faktörü

DRC: Ölüm Reseptör Kompleksi

Apaf 1: Adaptör Proteinler

1. GİRİŞ

İnsan organizması tüm yaşamsal işlevlerini, ancak belirli vücut sıcaklığında sürdürebilir. Vücut ısısının yükselmesiyle organizmada doku hasarları oluşur. Üreme organları yüksek ısıya karşı çok duyarlı oldukları için hipertermi, üreme organlarını ve doğum öncesi evrede embriyon kalitesini etkilemektedir. Son yıllarda bu konuyla ilgili araştırmalar oldukça artmıştır. Araştırmalarda deneysel olarak hipertermi koşulları oluşturulmakta ve denekler buna etkin bırakılmaktadır.

On birinci yüzyılda İbn Sina (MS 980-1037) ilk ateşin kalpten başlayarak sinir, arter ve venlerle tüm bedene yayıldığını, bu yayılımın bedenin normal işlevini bozduğunu, oluşan hararetin de hüzün ve yorgunluğa yol açtığını belirtmiş, ateşi semptomatik ve patolojik olarak ayırmıştır.¹

Hipertermi vücut sıcaklığının anormal derecede yükselmesi olarak tanımlanır. İnsanlardaki normal vücut ısısı 37 °C dir. Bu değer 38.9 °C derecenin üstüne çıkması ve belirli bir süre bu değerde kalması fertilité açısından çeşitli sorunlara neden olabilir. Hipertermi enfeksiyonlar, sıcak banyolar, egzersiz, sauna gibi nedenlere bağlı olarak gelişebilir.

Hiperterminin patolojik sonuçlara neden olabileceği olaylar ortam sıcaklığının yüksek düzeylere ulaşması, ateşli hastalıklar, kanserli hastalarda tedavi amaçlı hipertermi uygulamaları ve erkeklerde kriptorşidizm şeklinde sıralanabilir.^{2,3}

Yüksek sıcaklıkta tüm organizmada yaygın olarak bulunan ısı şok proteinleri (HSP) (şapheronlar), koruyucu bir mekanizma oluştururlar. Sıcaklık artması sonucu organlardaki ribozomlarda HSP sentezi artarak, denatüre proteinlerin renatüre olmasına aracılık eder.^{4,5}

Organizmadaki birçok protein yapıların denatüre olması sonucu ve hücrelerde lipid peroksidasyonunu arttırması nedeniyle çoğu organda geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz hasarlar ortaya çıkar.

Hiperterminin kan-beyin bariyerini bozduğu, beyin ödemi ve hücresel hasara neden olduğu bildirilmiştir. Deneysel hipertermi modellerinde karaciğer parankim hücrelerinde sıcak stresinin oksidatif hasara neden olduğu vurgulanmıştır.^{6,7}

Gametogenezis karmaşık bir süreç olup, toksik maddeler, radyasyon, ısı değişimleri gibi streslere karşı son derece duyarlıdır. Bu etkenler germ hücrelerinde oksidatif strese neden olmaktadır. Deneysel hipertermi modellerinde hücrelerde serbest oksijen radikallerinin arttığı ve sitosolik antioksidan olan GSH ve SOD düzeyinin azaldığı ve spermatogenik hücreler ile oositlerde mayoz bölünme düzeninin bozulduğu bilinmektedir.^{2,5,10}

Folikül uyarıcı hormonun (FSH) sentezi ve salınımı östradiol ve inhibin hormonunca denetlenilmektedir. İnhibin hormonunun kökeni olan granuloza ve teka hücrelerinin sıcaklık stresine duyarlı olmaları nedeniyle folliküllerde östradiol ve inhibin hormon düzeyinin düştüğü bildirilmiştir.⁸

Küçük folliküllerin sıcaklık stresine daha duyarlı olduklarını ve bu folliküllerin ovulasyona gidebilmesi için 42 günlük bir süreye gereksinim duyulmasının sonbaharın erken evrelerinde oluşan fertilité düşüklüğünün nedeni olabileceği düşünülmüştür.⁸

İn vitro ortamda akut sıcaklık stresine etkin kalan morula evresindeki embriyonlarda ısı şoku proteinlerinin üretilmesiyle stresin etkilerinin tolere edilebileceği bildirilmiştir. Kronik sıcaklık stresi ise

embriyonlarda gelişimi blastosist evresinden sonra olumsuz etkilemektedir.

İmplantasyon öncesi evrede oluşan akut sıcaklık stresi erken embriyonik ölüm oranında artışa neden olmaktadır. Hiperterminin dişi üreme sisteminin önemli organlarından olan tuba uterinaları da olumsuz etkilediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Tuba uterinalar üreme işlevinde bir çok önemli role sahiptirler. Üremenin ilk aşaması olan döllenme erkek ve dişi germ hücrelerinin bir araya gelmesiyle olaylanır. Ovaryumlardan serbest kalan ovum'un tuba uterina lümeni içine alınması, aynı zamanda başlangıçta döllenme yeteneği olmayan spermiyum'un ovum'a ulaştırılması ve bu sürede döllenme yeteneği kazandırılması ve döllenme için gereken uygun ortama sahip olması tuba uterinaların en önemli işlevlerinden bazılarıdır. En önemlisi ise döllenmenin burada gerçekleşmesidir. Döllenmeden sonra tuba uterinalar oluşan zigot ve erken dönem embriyonun uterus'a iletilmesinde ve bu iletilme sırasında embriyonun beslenmesinde de önemli işlevler üstlenirler.⁹

Maternal hipertermi tuba uterinalarda oksidatif stresi geliştirmektedir. Hipertermiye etkin bırakılan sıçanların embriyonlarında iki hücreli evrede Cdc 2 aktivitesinde olan bozuklukla ilgili olarak gelişimsel yetilerde kayıp izlenilmektedir.¹⁰

Maternal hiperterminin zigot, morula ve blastosistte toplam hücre sayılarını önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir. Aynı zamanda hipertermiye etkin kalmış farelerin iki hücreli evrede olan embriyonlarında DNA hasarı çok yüksek bulunmuştur. Bu nedenle hiperterminin maternal vücuttaki redoks durumunda sistematik değişikliklere neden olduğu, ve

tuba uterina'da oksidatif stresin artmasını tetiklediği, bunun da erken embriyonik ölümlerle ilgili olduğu düşünölmektedir. ¹¹

Hipertermi gametogenezis üzerinde gösterdiği olumsuz etkisini apoptozisi indükleyerek gerçekleştirir. Hipertermi moleküler düzeyde oositlerde ve Leydig hücrelerindeki membran bütönlüğünü bozarak sfingomyelinazları aktive eder. Bunun sonucunda da Bcl-2 yolağı üzerinden sitoplazmada APAF-1 aktivitesi artar ve apoptozis olaylanır. ¹²

Oksidatif metabolizma sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri normalde superoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz gibi enzimlerle ya da vitamin E, vitamin C, beta-karoten gibi vücuttaki antioksidan mekanizmalar ya da dışarıdan verilen antioksidan maddeler ile yok edilir. ¹³

Çalışmamızda hipertermiye etkin bırakılan deneklerde tuba uterinalarda oluşabilecek değişikliklere bir antioksidan olan superoksit dismutazın olası koruyucu etkilerinin apoptotik ve oksidatif stres belirteçleri kullanılarak ortaya konulması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.TUBA UTERİNA GELİŞİMİ

Embriyonun cinsiyeti, genetik olarak döllenme sırasında belirlenmiş olmasına karşın, dişi ve erkek yapısal özellikleri embriyonik gelişimin 7. haftasında olur. ^{15,16,17}

Cinsiyetin farklanması, otozomal ve resesif çok sayıda genin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Seksüel farklanmanın anahtarı kısa kolunda SRY genini (Y kromozomundaki seks belirleyici bölge) taşıyan Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü testis belirleyici faktördür (TBF). TBF, cinsiyet organlarının farklanmasını düzenleyen genlerin harekete geçirilmesini sağlar. Bu faktörün varlığıyla fötusun cinsiyeti erkek tipinde; yokluğunda ise kız tipinde gelişir. ^{15,16,17,18}

Genital sistem gelişimin erken evrelerinde her iki cinste de birbirine benzer. Bu nedenle gelişimin başlangıcı "seksüel gelişimin farklanmamış evresi" olarak isimlendirilir. Gonadlar (testis ve ovaryum) üç kaynaktan köken alırlar:

- Karın arka duvarı mezoteli (mezodermal epitel)
- Mezenşimal bağ dokusu (embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri

Gonadal farklanmanın ilk belirtileri gelişimin yaklaşık 5.haftasında olaylanmaya başlar; Öncelikle mezonefroz'un mediyalinde bulunan mezotelyal hücreler ve mezenşimde proliferasyon sonucu bir kalınlaşma olur. Buna gonadal ya da genital kabartı denir. ^{16,20}

Gelişimin ilerleyen evrelerinde gonadal kabartı'nın dış yüzünü döşeyen mezotelyal epitel hücreleri parmak şeklindeki epitelyal

kordonlarını (primer seks kordonları) oluşturarak alttaki mezenşim içine doğru büyürler. ²¹

Farklanmamış gonad dışta korteks, içte medulla katmanlarından oluşur. Embriyo XX seks kromozom yapısına sahip ise; farklanmamış gonadın korteksi ovaryum'a farklanır, medullası geriler. ²²

İlkel germ hücreleri gelişimin 4. haftasının başında vitellus kesesi duvarının, allantois'e yakın endodermal hücreleri arasında belirir. Embriyonun baş-kuyruk yönünde katlanması sırasında, vitellus kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine katılır. Katlanma olaylanırken ilkel germ hücreleri, arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca gonadal kabartılara doğru göç ederler. Gelişimin 6. haftasında gonadal kabartılara ulaşan hücreler, altındaki mezenşim içerisine girerler ve birincil seks kordonlarına dahil olurlar. ^{15,16,23,24}

Onuncu haftaya değin ovaryumlar yapısal olarak ayırtedilemezler. Birincil seks kordonları belirgin değildir. Bu evrede medulla içerisine sokulan bu kordonlar artık bir yapı olan rete ovari'yi oluştururlar. Rete ovari ve birincil seks kordonları (kortikal kordonlar), erken fetal dönemde ovaryumların yüzey epitelinden köken alarak altta bulunan mezenşim içerisine uzanırlar. Kortikal kordonların boyutları arttıkça, ilkel germ hücreleri bu kordonların içlerine girerler. Yaklaşık 16. haftada, bu kordonlar izole hücre kümelerine ayrılır ve oluşan primordial folliküllerin her biri merkezinde primordial germ hücrelerinden köken alan bir oogonyum içerir. ^{15,16,25}

Fetal yaşamda oogonyumlar aktif mitoz ile çoğalarak çok sayıda primordial follikülleri oluşturur. Bu çoğalma fetal yaşamın 5. ayına değin sürer. Doğum sonrasında yeni oogonyum oluşmaz. Oogonyumların

büyük çoğunluğu doğumdan önce dejenere olsa da, doğumdan sonra iki milyon kadar primer oosit kalır. ²¹

Dişi ve erkek embriyolarda iki çift genital kanal vardır. Bunlar mezonefrik (Wolfian) ve paramezonefrik (Müllerian) kanallarıdır. Mezonefrik kanallar erkek genital kanalların gelişiminde önemli yer tutarken, paramezonefrik kanallar dişi genital kanallarının gelişiminde rol oynar. Gelişimin 5. ve 6. haftalarında genital sistem farklanmamış evrede olduğundan, genital kanalların her iki çiftide bulunur. Dişi fötüslerde, mezonefrik kanal işlevsel olmayan bir kaç kalıntı dışında tümüyle dejenere olur. ^{15,16,20}

Paramezonefrik kanallar, gonad ve mezonefrik kanalların lateralinde gelişir. Paramezonefrik kanal ürogenital şişkinliğin ön-yan yüzeyindeki epitelin uzunlamasına invaginasyonu halinde biçimlenir. İnvaginasyonların kenarları birbiriyle kaynaşarak kanal halini alır. Bu kanalların huni şekilli kraniyal uçları pelvis boşluğuna açılır. Paramezonefrik kanallar embriyonun gelecekteki pelvik bölgesine ulaşınca ya da değin, mezonefrik kanallara koşut olarak, kaudale doğru uzanırlar. Pelvik bölgeye ulaştıklarında, mezonefrik kanalları ventralde çaprazlar ve orta hatta birleşerek "Y" biçimli, uterovaginal primordium'u oluştururlar. Bu tübüler yapı, ürogenital sinüs'ün dorsal duvarı içine uzanır ve burada bir kabartı olan sinüs (Müllerian) tüberkülü'nü yapar. ^{15,16,19}

Dişi embriyolarda testesteron yokluğu nedeniyle mezonefrik kanallar gerilerken, Müllerian baskılayıcı madde (MİS) yokluğu nedeniyle de paramezonefrik kanallar gelişir. Erkek cinsiyet gelişiminin uyarılması için testesteron hormonu gerekirken; dişi cinsiyet gelişiminde ovaryumların ya da hormonların varlığı gerekli değildir. ^{15,16}

Başlangıçta her iki paramezonefrik kanalda da üç bölge tanımlanabilir:

- Karın boşluğuna açılan kranial vertikal parça,
- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal parça,
- Karşı taraftan gelen eşiyle birleşen kaudal vertikal bölge.

Ovaryumların kaudale doğru yer değiştirmesiyle birlikte ilk iki bölgeden tuba uterinalar gelişir. Paramezonefrik kanalların kaudal bölgeleri de uterus'u oluşturmak için birleşir. Paramezonefrik kanalların ikinci bölgelerinin medio-kaudal yönde yer değiştirmeleriyle ürogenital kabartılar giderek daha enlemesine bir konuma yerleşirler. Kanallar orta hatta birleştikten sonra pelvis içinde kalın enlemesine bir kıvrım oluşur. Birleşmiş paramezonefrik kanalların lateralinden pelvis duvarına uzanan bu kıvrıma uterus'un sınırlayıcı ligamenti denir. Bunun kranial sınırında tuba uterinalar, arka yüzünde de ovaryumlar yer alır.^{15,16,}

Paramezonefrik kanalın kranial ucunun bir kısmı; tuba uterina'nın infundibulum bölümünün yapısına katılmaz ve veziküler bir yan oluşum olan Morgagni hidatiği olarak kalır.¹⁷

Tuba uterinaların gelişimlerinin belirginleşmesi 16-20. haftalar arasında olur.

12 haftalık fötüste tuba uterina'nın ampullasının lümeni yarık şeklindedir. 15. haftada mukoza lümenine doğru hafif katlantılar gösterir. Epitel kinosilyasız tek katlı prizmatiktir. 18. haftada lümen H şeklini alır. Epitel yalancı çok katlı epitele dönüşmüştür. 18-22. haftalarda tuba uterinalarda belirgin bir büyüme erki görülür. Tüp boyları uzar. Mukoza ve kas katmanı farklanır. Fimbriyalar gelişir. Infundibulum, ampulla ve isthmus belirgin hale gelir. 20-31. haftalar arasında lümen katlantıları artar

ve epitelde kinosilyalı hücreler izlenir. 40. haftalarda yetişkin tuba uterina yapısı görülür. ²⁴

Tuba uterinaların gelişimsel anomalileri yaygın değildir, ancak birkaç tipi tanımlanmıştır. Bunlar hidatik kistler, aksesuar ostia, tüm ya da segmental yokluk, tüp duplikasyonu, kas katmanı yokluğu ve tüpün kanalize olmamasıdır. ¹⁷

2.2. TUBA UTERİNA ANATOMİSİ (Salpinx, Fallop Kanalı)

Tuba uterinalar uterus'un sağ ve sol üst uçlarından ovarium'lara doğru uzanan 10-12 cm uzunluğunda, 3 mm çapında peritonla örtülü bir çift tüp şekilli organdır. Uterus'a yakın bölümü yatay olarak önce dışa, daha sonra da arka ve yukarıya doğru uzanarak ovarium'un üst ucuna ulaşır. Tuba uterina ovarium'un üst ucuna ulaşınca içe ve aşağıya doğru yönelerek ovarium'un üst kenarını sarar.^{27,30,35}

Ligamentum teres uteri'nin arkasında yer alan mezenteri (mesosalpinx) ile, ligamentum latum uteri'nin üst kenarına tutunur. Tuba uterina lümeni, cavitas uteri ile cavitas peritonealis'i birleştirir. Böylece pelvis boşluğuna atılan oosit'in uterus'a doğru taşınması olası olur. Cavitas uteri'nin üst köşesine açılan deliğine ostium uterinum tubae uterina, periton boşluğuna açılan deliğine ostium abdominale tubae uterina denir.^{31,29,35}

Tuba uterina'lar periton boşluğundan uterus'a doğru anatomik olarak farklı 4 bölümden oluşur. Bunlar sırasıyla infundibulum tubae uterinae, ampulla tubae uterinae, isthmus tubae uterinae ve uterus duvarı içinde kalan pars uterina'dır.^{26,28,34}

2.2.1. İfundibulum Tubae Uterina

Ovarium tarafındaki huni şeklinde genişlemiş 2 cm'lik kısımdır. Tuba uterina'nın en geniş bölümüdür. Ostium abdominale tubae uterinae denilen delikle periton boşluğuna açılır. Çapı 3 mm olan bu delik çevresinde fimbriae tubae uterinae denen 12-15 adet hareketli saçak şeklinde uzantılar yer alır. Bu uzantılardan biri diğerlerinden daha uzun ve daha kalın olup içerisinde düz kas lifleri bulunur ve bu uzantı ovarium ile değinir. Bu uzantıya fimbria ovarica denir. Uzunluğu yaklaşık 2-3 cm olan

bu uzantı ostium abdominale ile ovarium arasındaki mesafeyi yakın durumda tutarak olgunlaşarak ovarium'dan dışarı atılan oosit'in tuba uterina'nın içine alınmasını sağlar. Oosit tuba uterina'nın duvarındaki kas katmanının kasılması ile uterus boşluğuna iletilir. ^{26,33,35}

2.2.2. Ampulla Tubae Uterinae

Tuba uterina'nın en uzun ve en ince duvarlı bölümüdür. S şeklinde kıvrımlı olan bu bölüm organın tüm uzunluğunun 2/3 nü oluşturur. Uzunluğu 7-9 cm, çapı 5-6 mm' dir. Dikine yukarıya doğru ilerleyen bu parça önden arkaya basıktır. Spermiyumların oosit ile karşılaşması ve döllenme genelde bu bölümde olaylanır. Zigot 5-7 günde uterus lümenine ulaşır. Zigotun uterus'a ulaşamaması tubal gebelikle sonuçlanır. ^{26,32,35}

2.2.3. İsthmus Tubae Uterina

Tuba uterina'nın en dar lümenli bölümüdür. Duvarı kalın ve yuvarlaktır. Uzunluğu 2-3 cm, iç çapı 3-4 mm' dir. ³⁵

2.2.4. Pars Uterina (İntramural Parça)

Tuba uterina' nın uterus duvarı içinde kalan bölümü olup 0,5 cm çapında, 1 cm uzunluğundadır. Uterus'un kalın miyometriyum katmanından geçerek ostium tubae uterinae ile uterus'a açılır. ^{26,33}

2.2.5. Tuba Uterina'nın damarları

Tuba uterina'nın arterleri a.uterina'nın r.tubarius'u ile a.ovarica'nın rami tubari dallarıdır. A. uterina'dan gelen ramus tubarius diğerinden daha kalındır. (Sompson arteri) Bu dal a. ovarica ile anastomoz yaptığı yerin yakınında a. uterina'dan ayrılır ve mesosalpinx'in iki yaprağı arasında tuba uterina boyunca fimbria tubae uterinae'ya kadar dallar vererek uzanır. Venler arterlere eşlik ederler. Venae tubales içindeki kan vena ovarica'ya ve plexus venosus uterinus'a açılırlar.

Lenf damarları, uterus'un fundus kısmı ve ovarium'un lenf damarları ile birlikte uzanırlar. V.ovarica ile birlikte yukarıya yayılırlar ve lumbal bölgedeki aortik lenf n d  lleri olan nodi aortici laterales ve preaortici'ye açılırlar. ^{33,36,37}

2.2.6. Tuba Uterina'nın Sinirleri

Sinirleri kısmen plexus ovaricus'tan ve kısmen plexus uterinus'dan gelir. Afferent lifleri plexus ovaricus ve n.splanchnicus lumbalis aracılığıyla T11 ile L1 spinal ganglionlardaki nöron gövdelerine ulaşır. ^{33,36,37}

2.3. TUBA UTERİNA HİSTOLOJİSİ

Tuba uterina duvarı 3 katmandan oluşur. Bunlar içten dışa doğru sırasıyla tunika mukoza, tunika muskularis, tunika seroza katlarıdır.

2.3.1. Tunika Mukoza

Tunika mukoza ampulla'da kalındır. Sekonder ve tersiyer dallanmalar yapan birçok uzunlamasına plikalar oluşturur. Bu nedenle lümen enine kesitlerde dolambacılı bir yarık şeklinde izlenir. Ampulla'nın uzunlamasına mukoza plikaları, infundibulumdan ovaryum yüzeyine dallanarak uzanırlar. Bunlara fimbriya ovarika denir. Ampulladan uterus'a doğru gidildikçe, uzunlamasına mukoza plikaları alçalır ve daha az dallanırlar. Uterus içine uzanan bölümde mukoza plikaları azalarak lümene doğru uzanan küçük çıkıntılara dönüşür ve iç yüzey neredeyse düz hale gelir.

Tunika mukoza epitel ve lamina propriya'dan oluşur.

38,39,40,41,42,43,44,45

2.3.2. Epitel

Epitel tek katlı prizmatiktir. Boyu ampullada daha yüksek olup, uterus'a doğru göreceli olarak alçalır. Epitelde iki hücre tipi bulunur. Bunlar kinosilyalı ve salgı oluşturan hücrelerdir. Menstruel döngünün proliferasyon ve sekresyon evrelerinde hormonal değişikliklere koşut olarak silyalı ve salgı yapıcı hücrelerin yapı ve sayısında, hücrelerin birbirlerine oranlarında değişiklikler olur.

Silyaların hareketi uterus'a doğrudur. Bunlar epitel yüzeyini kaplayan akıcı sıvının hareketini sağlarlar. İsthmustan fimbriya bölgesine

doğru gidildikçe kinosilyalı hücre oranı giderek artarken salgı hücreleri azalır. ^{40,41,42,45,47,48,49,50}

2.3.3. Kinosilyalı Hücreler

Kinosilyalı hücreler bazal lamina üzerine otururlar. Sayıları salgı yapan hücrelere karşın daha fazladır. Kinosilyalı hücreler solunum yollarındaki silyalı hücrelere benzeyen ince yapı özellikleri sergilerler. Yükseklikleri yaklaşık 30 µm, genişlikleri 12 µm olan ve sitoplazmaları açık renk boyanan hücrelerdir. Her hücrede yaklaşık 50 adet kinosilya bulunur. Kinosilyaların içinde mikrotübüller vardır. Bunlar silyanın hücreden çıktığı yerin hemen altında bulunan bazal cisimcikten köken alır ve 9 çift çevresel ve iki tek ortada yerleşim gösterirler. mikrotübül yapısını sergilerler. Hücrenin çekirdekleri yaklaşık 8-10 µm çapında ve yuvarlak şekillidir. Hücrenin apikaline yakın ya da ortasında yerleşiktir. Çekirdek ökromatiktir. Sitoplazmada granülsüz endoplazmik retikulum tubulusları granüllü olanlara karşın daha çoktur. Çok sayıda mitokondriyon ve filamanlar içerirler. Kinosilyalar genelde uterus yönünde hareket eder ve ovulasyonla tuba uterina'ya atılan oositin de aynı yönde ilerlemesini sağlar. Bu hareket uterustan periton boşluğuna doğru mikroorganizmaların geçişini de engeller. ^{42,54,56,57}

Silyaların boyları ve sayıları hormonal denetim altındadır. Bu hücreler follikül gelişimi evresinde ve östrojen üretimi olduğunda büyürler ve bol sil üretirler (silyogenez) Östrojenler silya hareketini artırır. Lutealiz sırasında progesteron hormonu etkisiyle silli hücreler sillerini yitirirler (desiliasyon). Follikül gelişimi evresinde silyalı hücre oranı fimbriya bölgesinde ortalama %48, luteal evrede ise %4 olarak gözlenir. ^{46,52,53,54,56,57}

2.3.4. Salgı Hücreleri (Peg Hücreleri)

Silyalı hücelere karşı daha az sayıda ve küçük hücelerdir. Yüzeyden yukarı çıkıntılar oluşturlar. Epitele sokulmuş bir çiviye benzerler. Bu nedenle peg hüceleri (çivi hüceleri) olarak ta isimlendirirler. Çekirdekler ovaldir, hücrenin orta ya da bazaline yakın yerleşim gösterir. Peg hücrelerinin çekirdekleri kinosilyalı hücelere karşı daha koyu boyanır. Sitoplazma içediği salgı granülleri nedeniyle yoğundur. Hücrelerde mitokondriyonlar iyi gelişmiştir apikal sitoplazmada izlenir ve kinosilyalı hücelere karşı daha çoktur. Salgı hücrelerinde mitokondriyonlar iyi gelişmiştir ve sayı olarak kinosilyalı hücrelerden daha fazladır. Granüllü endoplazmik retikulum tubulusları gelişkindir. Granülsüz endoplazmik retikulum sisternaları azdır, Golgi kompleksi iyi gelişmiştir. Salgı granülleri boldur ve birkaç lizozom içerirler. Çok sayıda serbest ribozom, filamanlar ve mikrotübüller kapsarlar.

Salgı hücrelerinin lümene bakan serbest yüzlerinde mikrovilluslar bulunur. Salgı hücrelerinin salgılama erki östrojenlerce uyarılır. Proliferasyon evresinde östrojen düzeyi arttığı için granül birikimi artar. Sekresyon evresinde ise progesteron hormonu etkisiyle bu salgı boşaltılır. Salgı biriktirme aşamasında hücrelerin oylumu artar. Bu hücreler diğerlerine baskı yapar. Hücrelerin şekilleri armut ya da fıçıya benzer. Lüteal evrede şişerek armut şeklini alan salgı hüceleri salgılarını lümene boşaltırlar. ^{45,52,53,54,55,56,57}

Salgı hücrelerinin oluşturduğu salgı oositin beslenmesi ve korunmasını sağlar. Aynı zamanda spermiyumların kapasitasyonunu artırır. Tuba uterina'nın mukozasının yüzeyini kaplayan salgı kas katmanının eş zamanlı kasılmalarıyla oositin uterus yönünde taşınmasına yardımcı olur. Bu aynı zamanda uterusdan periton boşluğuna mikroorganizmaların geçişini de engeller. ⁴²

Menstruel döngü süresince salgı oluşturan hücrelerdeki değişimler bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Proliferasyon evresinde salgı yapıcı hücrelerde hücre içinde salgının artmasına koşul olarak apikal yüzeylerin lümene doğru kabarık olduğu bunun ovulasyona değin sürdüğü belirtilmiştir. Ovulasyonla birlikte salgı lümene atılmakta ve bunu izleyerek hücrelerin boyları azalmakta ve hücre apikal yüzleri düzleşmektedir. Salgının hücre içinde biriktirilmesi östrojen düzeyi ile ilişkilendirilmiştir. Östrojen silyalı hücrelerde sayıca artma ve silyalarda uzamaya neden olurken, salgı yapıcı hücrelerde salgının yapımını arttırmaktadır. Progesteron ise silya hareket hızını artırırken, salgının hücreden atılmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda silyalarda azalmaya da yol açmaktadır.^{48,58}

Epitelin yüksekliği ve hücre tiplerinin sayıları, bölgesel olarak ve menstrual döngünün çeşitli evrelerinde farklılıklar gösterir. Proliferatif evrede; epitel hücreleri uzun ve silindirdir, silli hücreler baskındır. Sekretuar evrede, epitel alçak boylu silindirik ya da kübiktir, oositin beslenmesini sağlayan glikoproteinleri sentezleyip salgılayan peg hücreleri çok sayıdadır.⁴⁵

Ovulasyonda epitel kalınlığı 30 µm kadardır. Menstrüasyonun başlangıcından hemen önce yarısına iner.⁴³

Menstrüasyon döngüsünün luteal evresi ve erken gebelik sırasında salgı hücreleri baskın hale gelir. Apikal sitoplazmalarıyla tuba uterina lümenine ince çıkıntılar yaparlar. Salgı hücreleri kinosilyalı hücrelerden ayırdedilemez.³⁹

Tuba uterina'nın farklı bölgelerinde kinosilyalı hücrelerin salgı hücrelerine oranı farklıdır; infundibulumda %50-80, ampullada %33, isthmusta %25, intramural parçada %10 dur.⁵⁶

2.3.5. Lamina Propriya

Lamina propriya gevşek bağ dokusu katmanıdır. İnce bağ dokusu liflerinden ve bol miktarda mekik şekilli hücrelerden yapılmıştır. Bağ dokusu hücrelerinden histiyositler, mast hücreleri, lenfositler ve fibroblastlara rastlanır. Bez içermez. Lamina propriya lenf damarları ve sinirlerden zengindir. Özellikle fimbriya bölgesindeki lamina propriyada kan damarları boldur. Ovulasyona yakın fimbriyalar kanla dolup şişer ve genişler. Silli hücreler içeren epitel ve şişen fimbriyalar, ovulasyonla atılan oositin periton boşluğuna düşmesini engeller. ^{40,41,57}

2.3.6. Tunika Muskularis

Tunika muskularis düz kas dokusundan yapılmıştır. Kas lifleri farklı yönlerde seyrederler. İçte enlemesine (sirküler), dışta uzunlamasına (longitudinal) düzenlenmiş düz kas liflerinden oluşur. Uzunlamasına ve enlemesine kas katmanları arasında keskin bir sınır bulunmaz. Enlemesine katman dışta göreceli olarak uzunlamasına katmanla karışır. Tunika muskularis'in kas demetleri arasında bol miktarda gevşek bağ dokusu ve kan damarları bulunur. Zengin elastik lifler içeren bu doku tunika seroza içine doğru yayılır. İsthmusda kas katmanı kalındır ve uterus'a doğru ritmik kasılmalar yapar. Kasılmalar, spermin oosite ve döllenmiş oositin uterusu doğru ilerlemesine yardımcı olur. ^{40,41,57}

2.3.7. Tunika Seroza

Tek katlı yassı mezotel ve onun altındaki gevşek bağ dokusundan oluşur. Seroza'da büyük kan damarları görülür. ^{41,57}

2.4.TUBA UTERİNA FIZYOLOJISI

Erkek üreme sisteminden farklı olarak, dişi üreme sistemi düzenli döngüsel değişimler gösterir. Bu değişiklikler, döllenme ve gebelik için belli sürelerle yapılan hazırlıklardır.

Bu döngüsel olaylar sırasında tuba uterinalar birçok işleve sahiptir. Döllenme ve zigotun erken gelişmesi bu organda gerçekleşir. Döllenmenin tuba uterina'da gerçekleşmesi halinde yüksek oranda gebelik görülür.⁵⁹

Tuba uterinaların fimbriya bölgesi düz kas demetlerinden ve kan damarlarından zengindir. Ovulasyonda fimbriya'lardaki bu damarlar kanla dolar ve bu bölge şişerek kalınlaşır. Ovulasyondan hemen önce tuba uterinalar ritmik şekilde kasılmaya ve uçlarındaki fimbriya'lar da ovaryum yüzeyini süpürmeye başlarlar. Infundibulum bölgesinin huni şeklini alması ovaryum'dan atılan serbest ovum'un tuba uterinalarca kolaylıkla yakalanmasını sağlar.^{61,}

Tuba uterina epitelinde bulunan siller uterus'a doğru vurma hareketi yapar. Folliküler evre sırasında östradiol sillerin sayısını ve vurma hareketini arttırmakta olup aynı zamanda aktif salgılama yapan hücrelerin sayısını da arttırır. Östradiol spermiyumun siliyer vurumlarla yukarı doğru tırmanabileceği mukoid bir ortam sağlayan tubal salgıları da uyarır. Fimbriyalar daha damarlı bir hal alır. Bu etkiler progesteron tarafından antogonize edilir. Lüteal evrede progesteron siliyer vurumları çoğaltacak ve döllenmiş ovumun uterus'a doğru olan hareketini arttıracak şekilde etki yapar. Progesteron ovumun, gelen herhangi bir spermin ve döllenme olursa zigotun beslenmesini sağlayacak salgının salgılanmasını arttırır.

^{59,60,}

Ovumun döllemesi tuba uterina'nın ampulla bölgesinde olur. Cinsel birleşmeden sonra vaginaya milyonlarca spermiyum boşaltılır. Bunlardan sadece 50-100 kadarı ovuma ulaşabilir. Spermiyumun taşınması kadının orgazmı sırasında hipofiz bezi arka lobundan salgılanan oksitosin ile, erkekte seminal sıvıda bulunan prostaglandinlerin uyarılarıyla gerçekleşir. Aynı zamanda uterus ve tuba uterinaların kasılmaları da büyük rol oynar. Dölleme bölgesine gelinceye değin spermiyumlar kapasitasyonlarını tamamlarlar. Spermiyumun ovuma girebilmesi için öncelikle, ovumun çevresinde bulunan korona radiata katmanına girmesi gerekir. Ovumun dış yüzeyi üzerinde spermiyum reseptörleri vardır. Sperm hücresinin baş kısmında eritici enzimler bulunur. Ovumun dış katmanları bu enzimlerle eritmeye çalışılır. Daha sonra spermiyumun yumurtayı çevreleyen zona pellusida'ya bağlanması ve bu katmana penetre olması zorunludur. Zona pellusida'yı geçen spermiyumun ovuma ulaşmasıyla hücre içine hızlı bir sodyum girişi başlar ve zar potansiyeli değişir. Bu değişiklik, diğer bir spermiyumun ovuma ulaşmasını engeller. ^{4,61,62,63,64,65}

Dölleme sonrasında, yumurta 3-5 gün içinde tuba utarinalardan uterus boşluğuna taşınır. Taşınma sırasında tuba uterinaların iç kısmını döşeyen silyalı epitel hücrelerinin silyaları sürekli uterus'a doğru hareket ederler. Bu zigotun taşınmasını kolaylaştırır. Aynı zamanda tuba uterina'daki zayıf kasılmalar yumurtanın geçişine yardımcı olabilir. Tuba uterinaların iç yüzeylerinde bulunan katlantılar, sıvı hareketine karşın yumurta geçişine bir direnç oluştururlar. Ayrıca tuba uterina'nın isthmus'u ovulasyon sonrası ilk 3 gün, spastik olarak kasılı kalır. Bu sürenin sonunda ovaryumlardaki korpus luteum'dan salgılanan progesteronun artmasıyla tuba uterinaların düz kasları gevşemeye başlar ve spazm çözülür. Bu şekilde ovum'un uterus'a geçmesi sağlanır. ^{61,64}

Döllenmiş ovum tuba uterina'da taşınırken birçok bölünme aşamaları geçirir ve yaklaşık 100 hücreden oluşan bir blastosist halinde uterus'a girer. Bu süre içinde tuba uterinaların salgı hücreleri fazla miktarda salgı üretmeye başlarlar. Bu salgı silyaların hareketleriyle uterus'a doğru itilir. Salgı sıvıları proteinden zengindir ve özellikle gelişen blastosistin beslenmesi için gereklidir. ⁶¹

2.5. HİPERTERMİ

2.5.1. Vücut Isısı

İnsan tüm yaşamsal işlevlerini ancak belirli vücut sıcaklığında sürdürebilir. Amerikan Sağlık Birliği (AHA) normal vücut sıcaklığı sınırlarını 36,5-37,2 °C olarak kabul etmiştir. Vücutta deri ve ekstremitelerin sıcaklıkları birbirinden farklıdır. ⁶⁶ Rahat bir dış ortam sıcaklığında bulunan bir insanda ortalama deri sıcaklığı 33-34°C dolayındadır. ⁶⁷ Rektal ısı ise vücut iç ısını oluşturur ve 37 °C'dır. Oral ısı ise 36,5-37°C arasındadır. Vücutta yer alan derin dokuların ısıları, cinsiyet, kişinin hareket etme durumu, yeme-içme tüketimi, günün saati, kadınlarda menstruasyon evresi ve ateşli bir hastalık olmadıkça 37 °C'de sabit tutulmaya çalışılır. Bu değer gün içinde $\pm 0,6^{\circ}\text{C}$ 'lik sapmalar gösterebilir. Rektal ısı sirkadiyen ritme koşut olarak en düşük sabah 06:00 (36,6 °C) ve en yüksek düzeyine akşam saat 18:00'de ulaşır. (37,5 °C) Çıplak bir kişi kuru havada 12,5-55 °C arasındaki hava sıcaklıklarında vücut iç ısını sabit tutabilir. Isı kaybını önleyici kıyafetler ile -40 °C'de bile vücut iç ısı sabit kalabilir. ⁶⁸

2.5.2. Isı Dengesi

Vücüttaki ısı dengesi ısı oluşumu ve ısı kaybı arasındaki denge ile oluşur. Vücut iç ısı yükseldiğinde ısı kaybı mekanizmaları devreye girer ve vücut termolizis ile ısı yitirir. ^{68,69} Bu mekanizma hipotalamik bir merkezin denetimi altındadır. Ciltteki ve vücut içindeki termoreseptörlerden getirici (getirici) sinirlerin entegre olduğu yer olan hipotalamik ısı merkezinin belli başlı uyararı kanın ısı değişimleridir. ⁷⁰ Organizmada ısı dengesi kısaca şu şekilde ifade edilebilir. ^{68,69}

$$\text{Isı Dengesi} = \text{Isı Oluşumu (IO)} - \text{Isı Kaybı (IK)}$$

(termogenezis) (termolizis)

Vücut sıcaklığının değişmez tutulabilmesi için ısı oluşmuş ile ısı kaybının eşit olması gerekir. ⁶⁶

2.5.3. Isı Üretimi (Termogenezis)

Vücut normal metabolik süreçlere bağlı olarak içsel ısıyı üretir. Dinlenik durumda ya da uykuda metabolik ısı üretimi düşüktür. Buna karşın şiddetli egzersiz süresince ısı üretimi yüksektir. Egzersiz süresince harcanan enerjinin %75-80'i ısı olarak görülmektedir. Ağır egzersizler süresince bu durum ısıнын yükselmesiyle sonuçlanabilir.

Organizmada ısı oluşumunu artıran mekanizmalar aşağıdaki şekilde sıralanabilir :

- Metabolizma,
- İstemli kas erki,
- İstemsiz kas erki,
- Hormonal etki [Adrenalin, Noradrenalin, Tiroksin (T4)]
- Besinlerin özgün dinamik etkileri,
- Postür değişiklikleri,
- Çevre ısısı ^{68,69}

2.5.4. Vücut ısısının Düzenlenmesi

Vücut ısısı düzenleme mekanizması 3 şekilde oluşur:

- Vücut ısısını 37 °C (98,6 °F) ya da buna yakın bir sıcaklıkta sürdürmek için bir termostat gibi hareket eden hipotalamus'a yerleşik bir düzeltme merkezi vardır.
- Titremeyle vücut ısısını arttıran kaslar, vücut ısısını yitirmek ya da korumak için atardamarları sıkıştıran ya da genişleten vasomotor denetim gibi düzenleyiciler,

- Çevresel sıcaklık koşullarındaki değişiklikleri hissetmek için deri içine yerleştirilmiş sıcak ve soğuk ısı algılayıcı reseptörler,

Vücut sıcaklığını ayarlayan mekanizmalar otonomik, somatik, endokrin ve davranış değişiklikleri gibi olayları kapsar. Vücut sıcaklığını ayarlayan mekanizmaların bir grubu ısı oluşumunu arttırmak ve ısı kaybını azaltırlar. Bu mekanizmalar vücut sıcaklığının düşme eğilimi göstermesi durumunda harekete geçerler. Diğer bir grup düzenekler ısı oluşumunu azaltırlar, ısı kaybını arttırmak ve ısı kaybını azaltırlar. Bu mekanizmalar, vücut sıcaklığı yükselme eğilimi göstermesi durumunda harekete geçerler. Böylece normal vücut sıcaklığı sabit tutulmaya çalışılır (normotermi).

2.5.5. Vücut Sıcaklığını Ayarlayan Mekanizmalar

Sıcakta Aktive Edilenler

a) Otonomik Etkiler

- Deri kan damarlarının genişlemesi,
- Terleme,
- Solunum yoluyla evaporasyonun artırılması.

b) Somatik Etkiler

- Sıcakta az hareket etme,

c) Endokrin Etkiler

- Katekolamin (epinefrin ve norepinefrin) salgılarının azalması,
- Tiroid uyarıcı hormon ve tiroid hormonu salgısının azalması,
- Epifiz bezinin melatonin aracılığı ile ısı düzenlenmesine etkisi.

d) Davranış Etkileri

- Serin yer arama,
- Sıcakta hareketlerini azaltma,

e) Genel Tepkiler

- Besin almaya karşı iştah azalması^{66,71,72,73}

2.5.6 Isı düzenlenmesi (Termoregulasyon)

Isı düzenleme sisteminin merkezi ön hipotalamustaki preoptik çekirdekde bulunmaktadır.⁶⁸

Termoregülasyon'un görevi ısı üretimi, ısı alınması ve ısı verilmesinden (ısı kaybı) doğan ısı saptamalarını belirli bir değerde sabit tutmaktır.⁷¹

Egzersiz ve dinlenme sırasında bu ısı yaklaşık 37°C derece olup bu referans ısı değeri olarak adlandırılır.⁷⁴

Hipotalamus ısı düzenleme merkezidir. Isıyı algılayan termoreseptör, hipotalamus ve deride bulunur. Hipotalamus bir termostat gibi çalışır ve tam olarak 36,7°C 'ye ayarlanmıştır. Vücudun iç ısı ya da beyin ısı bu derecenin altına düşerse, hipotalamus, vücutta ısı üreten ve ısı kaybını engelleyen mekanizmalarını devreye sokarak ısı dengesi sağlamaya çalışır. Hipotalamustaki özelleşmiş ısı algılayıcıları ve reseptörlerle hipotalamus'a ulaşan derideki ve kan damarlarındaki kanın sıcaklığı ile bilgiler sonucu, ısıyla ilgili gerekli düzenlemeleri sağlar.⁷¹

Vücut ısını bu değin hassas bir şekilde ayarlayan ısı düzenleme sistemi; merkez, reseptörler ve efektör organlardan oluşmaktadır. Isı d]zenleme sisteminin reseptörleri, merkezi reseptörler, periferel reseptörler ve vücut deri reseptörleri olarak üç kısımda incelenir.

68

Merkezi reseptörler; Ön hipotalamusta bulunurlar. Burada çok sayıda sıcak ve soğuk reseptörleri yer alır. Bu reseptörler ısıya oldukça duyarlıdır. Kor ısısındaki oynamayı 0,1–0,2°C arasında sabit

tutmaya çalışırlar. Ön hipotalamusta'ki sıcak-soğuk reseptörlerin oranı 1/3'dir.

Periferal reseptörler; Deri altında bulunurlar. Sıcaklık artışına duyarlı sıcak reseptörleri, soğuğa duyarlı soğuk reseptörleri ve yakıcı sıcak ve dondurucu soğuğa duyarlı ağrı reseptörleri bulunmaktadır. Vücut derin reseptörleri; Medulla spinalis, karın içi organlar ve büyük venlerin duvarlarında bulunur. ⁷²

Deride yer alan soğuk ve sığağa duyarlı reseptörler serbest sinir uçlarından oluşur. Bu sinirler vücut yüzeyi boyunca dağılmaktadırlar. Genelde soğuğa duyarlı reseptörler, sığağa duyarlı reseptörlerden daha fazla sayıdadır. Merkezi ve periferal reseptörler korteks ve hipotalamustaki düzenleyici sisteme bağılıdır.

Isi düzenleme sisteminde yer alan termal efektörler ise; iskelet kasları, arteriollerin duvarındaki düz kaslar, ter bezleri ve endokrin bezlerdir. ^{72,74}

Merkezi ve periferik reseptörlerden gelen uyarıların ışığında hipotalamus, kor ısını sabit tutmaya çalışır. Merkezi ve periferal reseptörlerden gelen uyarılar isi düzenleme merkeziyle olduğu gibi arka hipotalamus ile sinirsel ilişki içindedir ve istemsiz olarak ısı üretimine katkıda bulunurlar (kahverengi yağ dokusu ile). Ayrıca periferal reseptörlerden çıkan uyarılar beyin korteksine bilgi iletir. Bunun sonucu istemli kas hareketi ya da davranışsal olarak ısı düzenlenmesine katkıda bulunulur. ⁶⁸

2.5.7. Isı Düzenlenmesi ve Hormonal Katkıları

Endokrin organlar kısa ve uzun dönem ısı düzenlemesinde etkilidirler. Böbreküstü bezince salgılanan adrenalin ve noradrenalin ile tiroit bezinden salgılanan tiroksin hormonları ısı düzenlenmesine katkıda bulunurlar.⁷²

Hipertermi, vücut sıcaklığının 41°C ya da daha yüksek bir değere yükseldiğinde ortaya çıkan ve ısı düzenleme mekanizmalarının bozulmasına yol açabilen bir olgudur. Güneş altında uzun süre kalma, bakteriyel enfeksiyonlar ve bedende oluşan bir takım maddeler etkisiyle beden ısısı üst sınırlara ulaşır ve önlem alınmazsa kötü sonuçlar ortaya çıkabilir.^{4,5,6}

Güneş altında uzun süre kalındığında sürekli su kaybı (dehidrasyon) olur. Terleme sırasında tuz kaybı ortaya çıkar. Bedenden fazla ısı atılması için damarların genişlemesi (vazodilatasyon) kan basıncının düşmesi, halsizlik ve beyin işlevlerinin aksaması (bilinç kaybı) olaylar zinciri oluşur. Hipertermi'de özellikle ısı kayıp mekanizması çalışmaz ve terleme de olmadığından bedende sürekli ısı birikimi sonucu ölüm olaylarıdır. Hipertermi'de öldürücü ısı (letal ısı) 45-46 °C, kedi ve köpek 43 °C olarak bildirilmektedir. Hiperterminin patolojik sonuçlara neden olabileceği durumlar ortam sıcaklığının yüksek düzeylere ulaşması, ateşli hastalıklar, kanserli hastalarda tedavi amaçlı hipertermi uygulamaları ve erkeklerde kriptorşidizm şeklinde sıralanabilir.^{3,4,5,6}

Hipertermik durumlar :

Isı krampları: Genellikle karın kaslarında oluşan aşırı ağrılı kas spazmlarıdır. Vücuttaki her kas etkilenebilir. Aşırı terleme, elektrolit ya da iyon (Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺) kaybına yol açar. Bu dengesizlik kas kramp

ve kasılmalarına yol açabilir. Isı krampları uygun miktar su ve iyon yer değişmesiyle önlenabilir.

Isı Baygınlığı: Isı baygınlığı ısıya aşırı etkin kalma sonucu gelişen hızlı fiziksel yorgunlukla ilgilidir. Genellikle sıcakta uzun süre ayakta kalma ya da sıcakta alışık olmadan egzersiz yapmayla oluşur. Periferik damarlarda vazodilatasyon, hipotansiyon, ya da ekstermitelerde kan göllenmesi sonucu ortaya çıkar.

Isı Yorgunluğu: Terleme ile olan sıvı kaybının uygun olmayan miktarda sıvı ile yerdeğişmesi sonucu oluşur.

Isı Çarpması: Yaşamı tehdit eden acil bir durumdur. Rektal ısının 106°F ya da daha fazla olmasıdır. Nabız 160-180 vuru/dak çıkabilir. İshal, kusma, baş dönmesi, baş ağrısı, yorgunluk görülür. Dolaşım yetmezliği ölüme yol açabilir. Kalıcı beyin hasarı oluşabilir. ⁷⁵

Isı stresi indeksi aşağıdaki tabloda gösterilmiştir: ⁷⁵

Rölatif nem	Ambient Isı (F)										
	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120
	Hissedilen Isı (F)										
%0	64	69	73	78	83	87	91	95	99	103	107
%10	65	70	75	80	85	90	95	100	105	111	116
%20	66	72	77	82	87	93	99	105	112	120	130
%30	67	73	78	84	90	96	104	113	123	135	148
%40	68	74	79	86	93	101	110	123	137	151	
%50	69	75	81	88	96	107	120	135	150		
%60	70	76	82	90	100	114	132	149			
%70	70	77	85	93	106	124	144				
%80	71	78	86	97	113	136					
%90	71	79	88	102	122						
%100	72	80	91	108							

■ 90-150 F ısı krampi ihtimali ■ 105-130 F ısı krampi, ısı bitkinliği, sıcak çarpması ■ 130+ sıcak çarpması riski

Hipertermi tüm vücut sistemleri ve organlar üzerinde değişikliklere yol açabilmektedir.⁷⁶

Hiperterminin üreme işlevleri üzerine olan etkileri doğrudan ve dolaysız olarak ikiye ayrılmaktadır. Yüksek ısının hipotalamus, ön hipofiz, uterus, follikül, oosit ve embriyon üzerine olan etkileri doğrudan, kuru madde alımının azalması nedeniyle metabolizmada oluşan değişiklikler ise dolaysız etkilerini oluşturmaktadır.¹¹

Son yıllardaki bulgular oosit gelişiminin ısıya duyarlı olduğunu göstermektedir. Sıcaklık stresinin fertilite üzerine olan etkisinin, doğrudan ovaryum'da artan yüksek ısının oosit kalitesi üzerine olan olumsuz etkisine bağlı olabileceği bildirilmektedir.^{78,79}

Hipertermi'ye etkin kalmış ineklerin uterus ortamı normal koşullardan farklı bir şekil almıştır. Artan genel vücut ısısı nedeniyle uterus'a gelen kan akımında bir azalma ve buna bağlı olarak uterin ısıda artış şekillenmektedir. Gelişen bu değişimler tohumlamadan sonra döllenme oranını düşürmekte, embriyonik gelişimi sınırlamakta ve erken embriyonik ölümleri artırarak infertiliteye neden olmaktadır.⁸⁰

Bu yüksek çevre ısısı implantasyon öncesi embriyon gelişimini olumsuz etkilemekte, ancak bu etki embriyon büyüdükçe azalmaktadır. Aynı zamanda bu dönemde sıcaklık stresi uterus'un endometriumundan salgılanan prostoglandin salgılarına yol açarak prematüre luteolizise, buna bağlı olarak ta embriyonik ölümlere neden olmaktadır. Bu nedenle sıcaklık stresindeki ineklerde çoğunlukla 42. günden önce erken embriyonik ölümler şekillendiği bildirilmiştir.^{78,81}

Hiperterminin apoptozisi artırdığı ve hipertermi süresince bunun artarak sürdüğü gösterilmiştir.⁷⁷

Apoptozisin genel özelliği oksidatif stresin oluşmasıdır.¹² Sitosolik bir antioksidan olan süperoksit dismutaz, lipid peroksidasyonunu engelleme ve serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırabilmek özelliklerine sahiptir.⁸²

Oksidatif stresi engelleme özelliği, bu enzimin apoptotik süreci geri döndürebileceğini düşündürmektedir.

2.6. Serbest Radikaller

Serbest radikallerin biyolojik sistemler içerisindeki varlığı yaklaşık olarak 50 yıl önce ortaya atılmıştır. 1956 yılında McCord ve Fridovich'in süperoksit dismutaz enzimini bulmalarıyla biyolojide serbest radikallerin önemi anlaşılmaya başlanmıştır.^{83,84} Aerobik organizmalar sürekli olarak reaktif oksijen türevleri olarak adlandırılan moleküler oksijenden türetilen reaktif moleküller üretirler.⁸⁴ Reaktif oksijen bileşikleriyle ortamda oluşan radikal akını yeterli derecede antioksidan enzimlerce ortadan kaldırılamadığında, aşırı oluşan serbest radikaller membran lipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerine hasar vererek lipid peroksidasyon ürünleri olan malondialdehit, 4-hidroksinoneal gibi moleküllerin oluşmasına neden olurlar. Membranların bütünlüğünü yitirmesi hücre akışkanlığının bozulmasına, membran potansiyellerinin değişimine ve hücrenin parçalanması ve organellerinin dağılmasına yol açar.⁸⁵

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlığına sahip ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır.⁹¹

Serbest radikallerin özelliklerinden birisi kısa ömürlü olmaları, bir diğeri ise radikal olmayan maddeler ile tepkimeye girerek yeni radikaller

oluşturmaları ve zincir reaksiyonu başatabilmeleridir. ^{87,88} Bunlar organizmalarca hücre içinde mitokondriyal solunum zincirinde ya da hücre dışında, özellikle de fagositler tarafından oluşturulur. ⁸⁹

Canlı organizmalarda çeşitli enzimatik ya da kimyasal tepkimeler sonucu oluşan serbest radikaller, normal metabolizma sırasında oluşabildikleri gibi organizmanın, ışık, sıcaklık, radyasyon, hava kirliliği, sigara dumanı, enflamasyon, şiddetli egzersiz gibi etkilere etkin bırakılması, tıbbi olarak bazı ilaçların alınması ve anestezi maddelerin metabolizması sırasında oluşabilirler. ⁹⁰

2.6.1. Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hasarlar

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok hasara yol açar. Bunlar:

DNA'nın hasarı nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı, tiyollere bağlı enzimlerin yapı ve işlevlerinin bozulması, hücre ortamının tiyol/disülfid oranının değişmesi, protein ve lipitlerle kovalent bağlar yapması, enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler, mukopolisakkaritlerin yıkımı, proteinlerin tahrip olması, lipit peroksidasyonu, membran yapısı ve işlevinin değişmesi, membran proteinlerinin destabilizasyon, taşıyıcı sistemlerin bozulması, steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi, kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşmasıdır. ⁹²

Serbest radikal tepkimeleri özellikle oksiradikaller ve bunların biomoleküller ile oluşturduğu organik radikaller oksidatif hasar gelişmesinde ve kanser oluşumunda önemlidir. Oksiradikaller, nükleik asitler, protein ve aminoasitler, lipit ve lipoproteinler, karbonhidratlar ve

bağ dokusu makromolekülleri üzerine etkilidirler. Bu etkilerini membran işlevleri, metabolizma ve gen ekspresyonu üzerine gösterirler.⁹³

Serbest radikaller organizmalarca hücre içinde mitokondriyal solunum zincirinde ya da hücre dışında, özellikle de fagositler tarafından oluşturulur.⁸⁹

2.6.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar oksijen kaynaklı radikalleri oluşturmaya başlamışlardır. Bununla eş zamanlı olarak, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için organizmada antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunmadığında hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır.

94

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri membran yapısında bulunan lipitlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak, başlangıçta antioksidanlar lipit peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise, antioksidanların tanımı lipitlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbohidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir. Böylece, antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksijen hasarını engelleyen ya da geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanıma koşut olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir. Başlıca antioksidan etki türleri şunlardır:

1. Reaktif oksijen türlerinin enzimsel tepkimeler aracılığıyla ya da doğrudan ortadan kaldırılması,

2. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi,
3. Metal iyonlarının bağlanması ve bu yolla radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,
4. Hedef moleküllerin hasar sonrası onarımı ya da temizlenmesi. ⁹⁵

2.6.3. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit radikale karşı devreye giren ilk savunma sistemidir. SOD süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar, böylece hücre içindeki süperoksit radikali düzeylerini azaltır. Süperoksit radikali birçok yükseltgenme tepkimesinde yan ürün olarak üretilir, ancak olasılıkla büyük bir kısmı mitokondriyonlardaki elektron taşıma zincirinin bir hatası sonucunda ortaya çıkar. Ancak aerobik hücreler dismutasyon reaksiyonunu katalizleyerek $O_2^{\cdot-}$ 'i temizleyen ve detoksifiye eden süperoksit dismutazları içerir. ^{96,97}

SOD'ın insanlarda iki izoenzimi vardır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik yapıdaki bakır ve çinko içeren Cu, Zn-SOD ile mitokondriyonlarda bulunan tetramer yapıdaki Mn içeren Mn-SOD'dir. Bu iki enzimden Cu, Zn-SOD siyanürle baskılanırken, Mn-SOD siyanürden etkilenmez. SOD'nin fizyolojik işlevi süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır. Buna karşın ekstraselüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür. SOD izoformlarının dağılımı dokudan dokuya değişkenlik göstermektedir. İskelet kasında toplam SOD aktivitesinin %15-35'i mitokondriyonlarda gerçekleşirken geri kalanı sitozolde gerçekleşir. ⁹⁸

2.7.Kullanılan Antikorlar

2.7.1. HSP 70

Isı şok proteinleri (HSP) hipertermiyi de içeren, bir çok stres koşulunda üretimi artan proteinlerdir.⁹⁹ Sıcak stresine koştur olarak apoptozis yönünde hücrelerde HSP 70 yapımı artar.¹⁰⁰ Bu proteinler, hücre hasarın onarımı ve hücre yenilenmesini sağlar.^{101,102} Bu proteinler hücrede çekirdekte, sitoplazmada ve mitokondriyonlarda bulunur.¹¹⁴ Bir çok HSP aynı zamanda hasara uğramamış normal hücrelerden de salgın ve bu proteinler: proteinlerin katlanması, açılması, translokasyonu gibi bir çok hayati işlevi üstlenirler.^{103,104} Strese koştur olarak üretimi artan esas grup HSP 70'tir.¹⁰⁴ HSP ile ilgili ilk incelemeler 1962 yılında yapılmaya başlamıştır.¹⁰⁵ 1975 yılında HSP üretiminin ısı stresine koştur olarak artış gösterebileceği ilk kez bildirilmiştir.¹⁰⁶ Erken dönemde yapılan bu ve diğer çalışmalar, şaperon olarak da adlandırılan HSP üretimi sayesinde bu proteinlerin, hücrelerin oluşan değişik koşullara uyum yeteneğinde artış sağladığı görüşünü ortaya koymuştur.¹⁰⁷ HSP birçok hücrede yapılabilen çok iyi korunmuş proteinlerdir. Normalde de hücrelerde çok düşük ya da saptanamayan düzeylerde bulunabilirler. Metabolik bir hasarın ardından fazla miktarda üretilirler. Aminoasit sıralaması ve moleküler ağırlıklarına göre 5 esas gruba ayrılmışlardır. Bunları moleküler ağırlıkları göre 100-110 kDa, 83-90 kDa, 66-78 kDa, 60-65 kDa, 15-30 kDa 'dur ve HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60 ve HSP 20 olarak adlandırılırlar.¹⁰⁸ Bunlardan iki grup hasar sonrası yüksek miktarda üretilmeleri ve hücre onarımındaki işlevleri nedeniyle önemlidir: HSP 70 ve HSP 27. HSP 70, 70 kDa ailesinin, üretimi yüksek miktarda artırılabilen bir üyesidir.¹⁰⁹

HSP 70 'nin en büyük özelliği ATP'yi yüksek çekicilikle kendine bağlamasıdır. HSP 70'le ilgili 10 adet gen, insan genomunun

özelliklerini sergilese de HSP 70 ailesinin sadece 4 üyesi insan hücrelerinde bulunmuştur. Bu proteinler için sık görülen isimler aşağıdakilerdir:

1. HSP 70 (Aynı zamanda 73K, hsc 70, SP71, hsp 68)
2. HSP 72 (Hsp 70)
3. P 72 (73 K, hsc 70, hsc 73)
4. GRP 78 (Bıp ve HSP 80 olarak da bilinirler)

HSP 70 bazal ekspresyonu belirten, serum uyarıcı, hücre döngüsünü düzenleyen ve E1A indükleyebilen yüksek sıcaklığın uyardığı proteindir.

HSP 70 ve bununla ilgili genlerin birçok işlevlerde rolü vardır: DNA replikasyonu, klatrin veziküllerinin kaplanması, proteinlerin endoplazmik retikulumda tutulması ve proteinlerin membrandan karşıya taşınması.¹¹²

HSP 70 genlerinin geleneksel aktivasyonu çevresel sıcaklık artımına tepki göstermektedir ve bu ısı şoku transkripsiyon faktörü tarafından sıkıca denetlenmektedir.¹¹³

Koaktivatör gibi çekirdek östrojen reseptörlerine bağlanarak meme kanser hücrelerinde östrojen α aktivitesini düzenler. HSP 70 ve sıcaklık transkripsiyon faktörleri ekspresyonu östrojen düzenlemenin etkisi altındadır. Aynı zamanda bu proteinlerin steroidojenezle de ilgisi vardır.¹¹⁰

HSP 70 ailesine giren proteinler D.melanogaster'in, kurbağaların, farelerin, sıçanların ve insanların erken gelişimleri sırasında ekspresse olunurlar. Bu proteinlerin erken fare embriyonlarında zigotik gen gelişimi zamanı üretilen ilk ürün olduğu düşünülmektedir. HSP 70 gen

ailesi üyeleri memelilerde germ hücrelerinin farklılaşmasında önemli rol oynamaktadırlar. ¹¹²

HSP 70 önemli insan viral patojenlerinin gen ekspresyonu, genom replikasyonu, demontaj ve morfogenezisi sırasında yüksek düzeyde ekspresse olurlar. Bu da bu proteinlerin viral yaşam döngüsüyle yakından ilgisi olduğunu kanıtlamıştır. ¹¹⁵

Anti-kanser ilaçlarıyla tedavi gören hastaların tümör hücrelerinde yüksek düzeyde HSP 70 salgılanması bu proteinlerin kemoterapi, radioterapi ve hipertermi direnci için yararlı belirteçler olabileceğini düşündürmüştür. ¹¹⁶

2.7.2. Apoptozis

Çok hücreli organizmalarda, her hücre doğar, çoğalır, farklılaşır ve ölür. Tüm bu olaylar doğal bir denge halinde sürer. Doku homeostazisi, apoptozis / proliferasyon dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine bağlıdır. Bu dengenin bozulması birçok önemli hastalığın patogenezesinde rol alır. Apoptozis, hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, genlerle düzenlenen, RNA'ya, protein sentezine ve enerjiye gereksinim duyan, evrimsel olarak korunmuş programlı hücre ölümüdür.

^{117,118}

Apoptozis terimi (a-po-toe-sis) ilk olarak 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından kullanılmıştır. ¹³² Apoptozis; yunanca kökenli bir sözcüktür ve “düşmek, dökülmek” anlamına gelir. ⁸⁵ Hücrelerin genetik olarak belleklerinde var olan intihar programı çeşitli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi uyarılarla başlamaktadır. Kaspaz olarak adlandırılan sistin proteazlar protein grubunun aktiveleştirilmeleri ile hücre ölümü gerçekleştirilir. ^{112,143,147}

Sağlıklı dokularda apoptozis, dokulardaki hücre sayısını uygun düzeyde tutmakta ve organizmada hasar görmüş ya da organizma için tehlikeli olabilecek hücrelerin yok edilmesinde görev alır. İnsanlarda her saniye mitoz ile yüz binlerce hücre üretilirken benzer sayıda hücre de apoptozis ile ölmektedir. Apoptozis gelişim ve yaşlanma süreçlerinde fizyolojik bir olgu olarak gözlenir. Ayrıca apoptozis, immün reaksiyonlar, hastalık ya da zararlı ajanlar nedeniyle hasara uğrayan hücrelere karşı da koruyucu bir mekanizmadır.^{84,104,112,148}

Çok hücreli canlıların normal ve doğru gelişimleri, seçilmiş bazı hücrelerin apoptozis ile ölmesine bağlıdır. Örneğin insan embriyosunun el parmakları arasında bulunan zarsı perdeler buradaki hücrelerin apoptozisi ile ortadan kalkar.

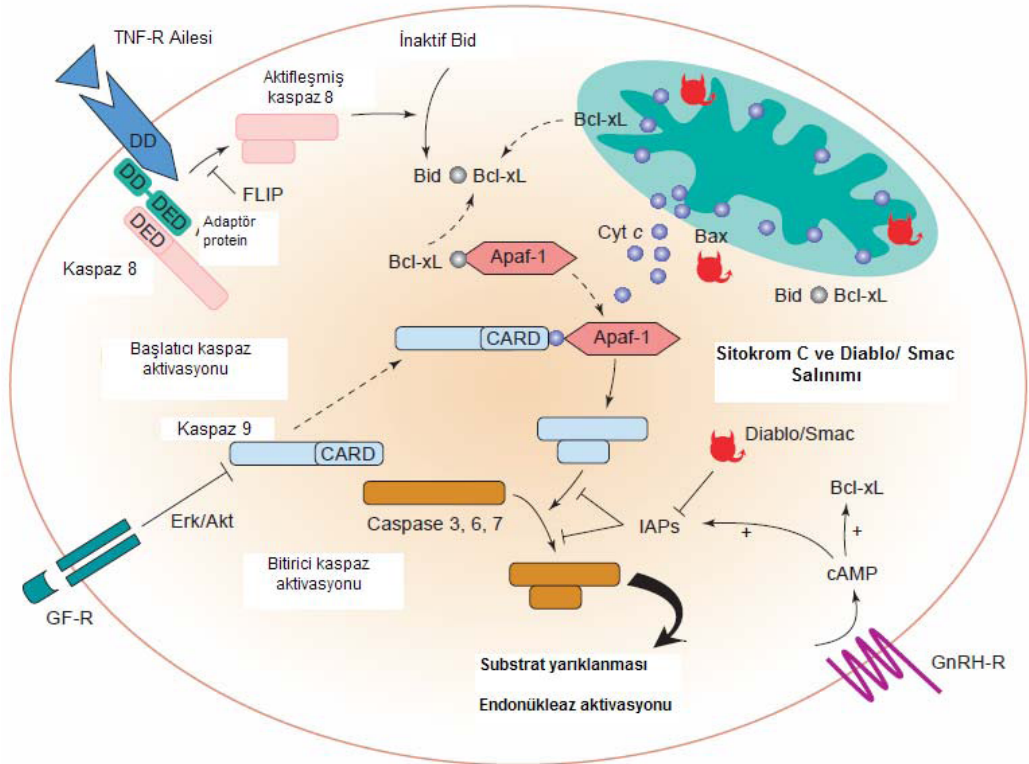
Apoptozisin çok belirgin yapısal özellikleri; membran tomurcuklanması, hücre küçülmesi ve kromatin yoğunlaşmasıdır. Kromatinin nükleozomlar arasındaki DNA bölgelerinden kesilmeleri sonucu ortaya çıkan DNA parçaları elektroforez yöntemi ile “DNA merdiven görüntüsü” oluşur.^{84,85}

Apoptozisde esas morfolojik olay, çekirdeğin yoğunlaşması ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır.

Apoptotik hücrelerde hematoksilin-eozin boyamasında sitoplazma yoğun, yuvarlak ya da oval çekirdekte kromatin parçaları ise koyu mor renkte gözlemlenir.^{84,89,112}

Apoptozis süresince kaspazlar 100 den fazla yapısal ve işlevsel proteini proteolitik kesime uğratırlar. Bu proteinlerin yıkımı, hücrede yaşam ile ilgili yolların bozulmasına ve hücrenin yapısını koruyacak birimlerin yıkımına neden olur ve apoptozisi özgü bir yapı

ortaya çıkar. ^{106,118} Kaspazlar, apoptozisi sadece proapoptotik yolları aktifleştirerek ilerletmezler ayrıca mitojenik ya da antiapoptotik sinyalleri engelleyerek de ilerletirler. Kaspazlar; transkripsiyon faktörlerini (NF-kB, STAT1 ve CREB), hücre döngüsünü düzenleyici proteinleri (siklinler, Rb proteini v.b), sinyal çevriminde rol alan kinazları (PKB, PKC ve MEK), sitoplazmik (aktin, vimentin) ve çekirdek proteinleri (nukleopporin), proteinlerin katlanmasında rol alan proteinleri, DNA tamirinde, sentezinde (PARP ve topoizomerazlar gibi) işlev gören proteinleri keserler. ¹¹⁸ Apoptozisde, kaspazlar tarafından kesilmeler ile genellikle hücresel işlevler engellenirken, bazı durumlarda işlev artışı gözlenebilir. ¹⁰⁶



Apoptozisde görev alan başlangıç kaspazlarının (kaspaz-8 ve kaspaz-9) aktivasyon düzeneği ¹³⁰

2.7.3. Kaspazlar

Apoptotik ölüm mekanizmasının önemli yapılarından birisi de kaspazlardır. Bu ailenin üyeleri solucanlardan insanlara değin pek çok organizmada bulunur. ¹⁰⁶ Kaspaz enzimleri büyük bir proteaz ailesidir. Aktif merkezlerinde sistein aminoasidi taşırlar ve hedefledikleri proteinleri aspartik asit birimlerinden kestikleri için kaspaz ismini almışlardır (C-Asp-ase; C: sistein aminoasiti simgesi, Asp: aspartik asit, -ase: kesici enzim eki). ¹⁴⁷ Kaspazlar ile yapılan kristallografik çalışmalarda yapılarının eşdeş olduğu gösterilmiştir. ^{143,144,146} Kaspazlar hücre içerisinde inaktif zimojenler olarak sentezlenirler ve prokaspaz ismini alırlar. Bu inaktif prokaspaz enzimleri apoptoz sinyalinin alınmasıyla birlikte aktifleşirler ve aktifleşen bu kaspazlar diğer inaktif kaspazları aspartik birimlerinden keserek aktifleştirirler. ^{98,147} Apoptozisin belirgin bir özelliği hücrel protein substratların kaspazlar tarafından kırılmasıdır. ¹¹⁸

Kaspazlar hücrede iki önemli biyolojik yolda görev almaktadırlar; enflamatuar sinyal yolu ve hücre ölüm yolu. ^{98,107} Kaspaz ailesinin 7 üyesi (kaspaz-2, -3 ve 6-10) apoptotik ölüm yolunda görev alırken, diğer üçü (kaspaz-1, -4 ve 5) proinflamatuar sitokinleri aktifleştirerek savunma sisteminde işlev görür. ¹⁰⁶ İki yol birbirinden farklı olsa da sitokin aktivatörü kaspazlar ve apoptotik kaspazlar büyük benzerlikler gösterirler. ^{98,106} Bu sınıflandırmaların dışında kalan kaspaz-14 keratinositlerde üretilir ve epidermal farklılaşma sürecinde aktif olarak çalışır. ¹⁰⁷

Kaspazlar apoptotik yolda “başlatıcılar” ve “bitiriciler” olarak iki grupta toplanırlar. Apoptotik ölüm işlem sırasına göre kaspazlardan ilk görev alanlar başlatıcı ya da öncü kaspazlardır ve bunların uzun öncül bölgeleri bulunur. Apoptotik yolun daha sonraki aşamalarında görev alan kaspazların diğer üyeleri ise efektör kaspazlar olarak adlandırılır. Efektör

kaspazlar başlatıcı kaspazlar tarafından aktiflenirler. Kaspaz-2, -8, -9 ve 10 başlatıcı kaspazlardandır, kaspaz-3, 6 ve 7 ise efektör kaspazlardır. Başlatıcı kaspazların üç önemli özelliği vardır; farklı şekillerde gelen uyarıları, genel bitirici evreye taşırlar, yeterli miktarda bitirici kaspazın aktifleşmesini sağlayarak apoptotik sinyalin çoğalmasını sağlarlar, ölümün en son aşamasında bir denetim noktası olarak bulunurlar. Kaspazlar hücrede yüzden farklı proteini substrat olarak kullanırlar ^{106,144,147}

2.7.4. Kaspaz-3

Kaspaz-3 apoptozisin anahtar moleküllerinden biridir. 17 kDa ve 12 kDa ağırlığında 2 alt birimi vardır. Kaspaz-3'ün üçboyutlu yapısı genel olarak kaspaz-1'le benzerlik gösterir. Ancak S4 alt bölgesi ölçü ve kimyasal bileşimlerine göre kaspaz-1'den çok farklıdır. Kaspaz-3 tam ya da kısmen olarak bir çok anahtar proteinlerin proteolitik yarıklanmasından sorumludur. ^{117, 118,119}

Fas-substrat reseptörünün uyarılmasıyla prokaspaz-8 ve prokaspaz-10 aktif hale geçer. ¹²⁰ Kaspaz-8 hücre içinde aktif şekle geçtikten sonra 2 farklı apoptotik sinyal yolu izleyebilir. İlk sinyal yolunda kaspaz-8 doğrudan kaspaz-3 ve kaspaz-7 gibi efektör kaspazları aktive ederek apoptozisin oluşmasını sağlayabilir. ¹²² Daha sonra aktifleşen Kaspaz-3, deoksiribonükleaz inhibitörünü (ICAD) inaktif hale geçirir, böylece ICAD'ın bağlandığı kaspazla aktifleşen deoksiribonükleazlar (CAD) serbest şekle geçer ve buna bağlı olarak da kromatin yoğunlaşması ve oligonükleozomal DNA parçalanması oluşmaktadır. ¹²³

2.7.5. Kaspaz-8

Kaspaz-8 bir çok ölüm ligand reseptöre sinyal komplekslerinin bağlanması yolu ile aktive olmaktadır. Bu reseptörler, sinir büyüme faktörü (NGF), TNF ailesindendir.

TNF β , FasL ve TRAIL içerirler. Prokaspaz-8'in N-terminal prodomain kısmında iki DED eşdeş bulunmaktadır. Prokaspaz-8 reseptöre bağlı adaptöre (Mort 1) bağlanır, bu yolla DED kısımlarının homofilik etkileşimlerine yol açar, proenzimin bağlanması kendisinde de proteolitik sürece ve aktivasyona yol açar, böylece otokataliz ya da ilgili kaspazlar ile etkileşim açığa çıkmaktadır. Aktivasyondan sonra, kaspaz-8 apoptotik sinyali artırmaktadır, artan sinyal sonucunda da kaspaz-3 aktivasyonu proteolitik yolla ya da dolaysız olarak kesme/aktivasyon yoluyla Bid üzerinden sağlanır. Bid mitokondrial sitokrom-C salınımına ve kaspaz-9 aktivasyonuna yol açar.

Kaspaz-8 ölüm reseptör kompleks (DRC) bağlanması yoluyla ve sonar prokaspaz-3'ü keserek sistemi aktive ettiği için başlatıcı kaspaz olarak sınıflandırılır.^{124,125,146}

2.7.6. Kaspaz-9

Apoptozisin mitokondriyon yolunda görev alan kaspazdır. Kaspaz-9 geni 1. kromozomun p36.3 bölgesinde yerleşiktir.¹²² Kaspaz-9 geninde 9 ekzon bulunur ve DNA'sı yaklaşık olarak 35 Kb'dır. Genel yapısı diğer kaspazlara büyük benzerlik gösterir. Düzenleyici bölgesinde CARD dizisi bulunur ve bölgeler arası ilmek yapısı bu kaspazda daha uzundur. PKB-Akt ve ERK2 tarafından fosforilasyonla baskılanır. Fizyolojik yoğunluklarda inaktif monomer olarak bulunur ancak daha yüksek

yoğunluklarda dimer şekline geçerek aktiflenir. Kırpılarak değil, adaptör proteinlerle (Apaf-1) kümelenerek aktiflenir. ¹³⁰

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma:

Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'den sağlanan dişi sıçanlardan oluşan ve her birinde 6'şer denek bulunan 3 grup oluşturuldu.

Hiperterminin oluşturulması amacıyla dişi sıçanlar 42°C sıcak su banyosunda 20 dk süreyle bekletildi.

SOD'un antioksidan etkisinin incelenebilmesi ereğiyle 1ml % 0.9' luk NaCl içerisinde 50.000 U/kg SOD ve 90 U/kg katalaz çözülerek hazırlanan sıvı, ısı stresi oluşumundan bir saat önce deneklere subkutan olarak uygulandı.

1. Grup: 22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra dokuların alınacağı grup (dişi) (n=6)

2. Grup: Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alınacağı grup (dişi) (n=6)

3. Grup: Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alınacağı grup (dişi) (n=6)

3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait tuba uterina dokusu bloklarından polilizinli camlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak

immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada apoptozisin izlenmesi amacıyla Neomarkers Caspase- 3 (CPP32) (Ab4, Lot: 1197P08A) tavşan poliklonal primer antikoru Neomarkers Caspase- 9 (LAB6/Ab- 4) tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB- 1205-P, Lot:1205P306), Neomarkers Caspase- 8 tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C) kullanıldı. Sekonder kit olarak Ultravision Detection System Anti-tavşan HRP (RTU) (Cat: TP- 125 HL, Lot: PBN70509, Lab Vision, Fremont, USA) ve HRP/AEC (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565) kullanıldı. Ayrıca tuba uterinadaki stresi belirleyebilmek amacıyla Santa cruz HSP 70 (C92F3A-5, Lot#J1408) fare monoklonal IgG1 Zymed Universal kit (Cat: 85-9043, Lot: 1396691) kullanılarak indirekt immünohistokimyasal yöntem ile boyama yapıldı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı.

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP, Lot: 125HP14119, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Hsp 70 primer antikoru uygulanacak kesitlere %3'lük H₂O₂ metanol ile hazırlandı. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Ultra V Block (Cat: TA-125-UB, Lot: AUB70803, Lab Vision, Fremont, USA, 95-

9043 Zymed, USA) uygulandı. Bu aşamanın ardından kesitler yıkanmadan Caspase-3, (CPP32) (Ab4, Lot: 1197P08A) Caspase-8 (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C), Caspase-9 (Cat: RB-1205-P, Lot: 1205P306) primer antikorlarına etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. Hsp 70 primer antikoru için kesitler bir gece süresince +4 derecede bekletildi. Bu sürelerin sonunda camlar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat:TR-125-BN, Lot: RBN70115, Lab Vision, Fremont, USA,85-9043, Zymed, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: TS-125- HR, Lot: SHR70515, Lab Vision, Fremont, USA), (85-9043 Zymed, USA) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olarak Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9 antikorları için AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Hsp70 primer antikoru için kromojen olarak DAB (3,3'iaminobenzidine Tatrahydrochloride-Plus kit) (Cat No; 00-2020, Lot; 421138 A) kullanıldı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Cat:TA-125-MH, Lot: AMH70809, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı. AEC ile boyanan camlar Ultramount (Cat: TA-125-UG, Lot: VM13518, Lab Vision, Fremont, USA) ile kapatıldı. DAB ile boyanan camlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek entallan ile kapatıldılar. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

4. BULGULAR

Tüm gruplarda yapılan ışık mikroskopik incelemelerde doku genelinde yapısal düzeyde hipertermiye bağlı bir değişiklik saptanmadı.

4.1. KASPAZ 3 BULGULARI:

22° C' de sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra tuba uterina örneklerinin alındığı kontrol grubunda, kaspaz 3 tutulumu genelde belirsizdi. Epitelde özellikle silli hücrelerin apikal sitoplazmalarında, hücre zarlarında ve silyalarda tepkimenin varlığı ilgiyi çekiyordu. Bazı salgı hücrelerinde de tutulum orta dereceliydi. Lamina propriya ve kas dokusunda ise genelde immünreaktivite ayırt edilmezken, bazı bölgelerde zayıf dereceli sitoplazmik tutulum dikkati çekiyordu (Resim 1,2,3).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta; tüm epitel hücrelerinde ortadan kuvvetliye değişen yaygın kaspaz 3 tutulumu belirgin olarak izlendi. Apikal hücre zarında ve silyalarda kuvvetli immünreaktivite saptandı. Lamina propriya ve kas hücrelerinde orta dereceli kaspaz 3 tutulumunun varlığı ilgiyi çekiyordu (Resim 4,5,6,7).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alındığı grupta; doku genelinde kaspaz 3 tutulumunun kontrole eşdeğer görünümü dikkati çekti. Tutulum hücrelerin apikalinde ve silyalı hücrelerde silya düzeyinde zayıftan ortaya değişiyordu. Kas ve bağ dokusu hücrelerinde ise tutulum zayıftı (Resim 8,9,10).

4.2. KASPAZ 8 BULGULARI

22° C sıcak su banyosu uygulanan, 24 saat sonra dokuların alındığı kontrol grubunda; kaspaz 8 tutulumunun özgün olmadığı gözlemlendi. Silyalı hücrelerde silyalar üzerinde ve yer yer apikal sitoplazmada belirlenen tutulum zayıftı (Resim 11,12).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta; kaspaz 8 tutulumunun epitel, kas dokusu ve lamina propriada orta dereceli olduğu ayırt edildi. Bu bulgu büyük büyültmeli resimlerde de izleniyordu (Resim 13,14,15).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alındığı grupta; kaspaz 8 tutulumunun epitel hücrelerinde apikal sitoplazmada ve silyalarda orta-zayıf düzeyde olduğu görüldü. Lamina propriya ve kas dokusunda ise immünreaktivate zayıftı (Resim 16,17).

4.3. KASPAZ 9 BULGULARI

22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra dokuların alındığı kontrol grubunda; küçük büyültmeli incelemelerde kaspaz 9 immünoreaktivitesinin, silli hücrelerde apikal hücre zarı, apikal sitoplazma ve silyalarda oldukça kuvvetli olduğu gözlemlendi. Bağ dokusu hücrelerinde ve kas dokuda tepkimenin zayıf olduğu ayırt edildi. Büyük büyültmeli incelemelerde ise apikal sitoplazma, apikal hücre zarı ve silyalarda tepkimenin varlığı belirlendi (Resim 18, 19).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta; kaspaz 9 immünoreaktivitesi tüm epitel hücre sitoplazmalarında yaygındı. Apikal sitoplazmada, hücre zarı ve silyalarda ise yoğun reaktivite ilgiyi çekiyordu. Lamina propriyada ve kas dokusunda orta-kuvvetli dereceli kaspaz 9 tutulumu ayırt edildi. Büyük büyültmelerdeki incelemeler de bu bulguları destekliyordu (Resim 20,21).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alındığı grupta; kaspaz 9 immünoreaktivitesi kontrol grubuna eşdeğer görünümdeydi. Tutulumun epitelde ağırlıklı olarak apikal hücre zarı, apikal sitoplazma ve silyalarda olduğu belirlendi. Lamina propriya ve kas dokusu tutulumu kontrol grubuna benziyordu (Resim 22,23,24).

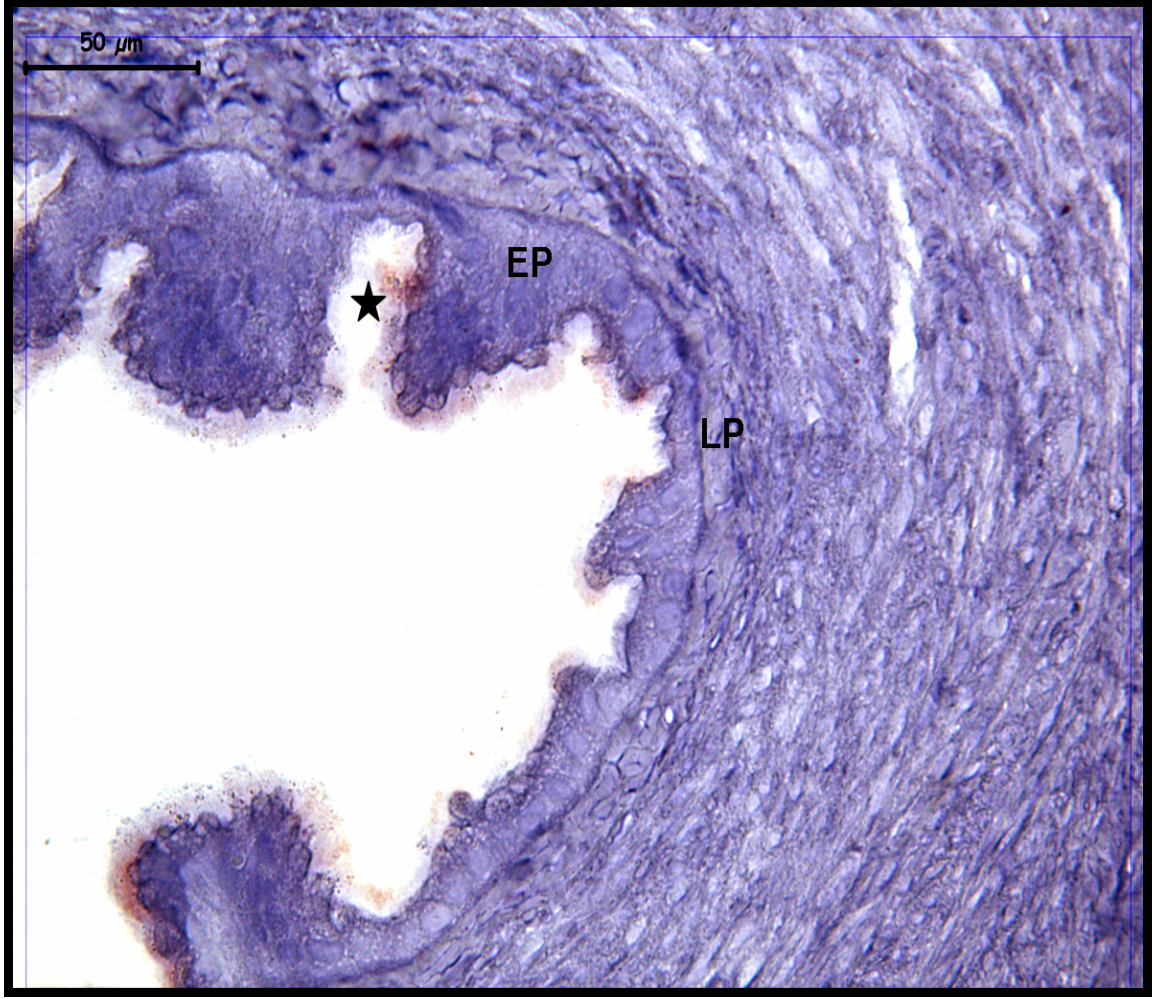
4.4. HSP 70 BULGULARI

22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra dokuların alındığı kontrol grubunda; küçük büyültmelerde epitel hücrelerinde sitoplazmik düzeyde ve zayıf HSP 70 immünreaktivitesi görüldü. Lamina propriya ve kas dokusunda belirgin bir tutulum izlenmiyordu. Büyük büyültmelerde belirlenen bulgular da buna eşlik ediyordu (Resim 25,26).

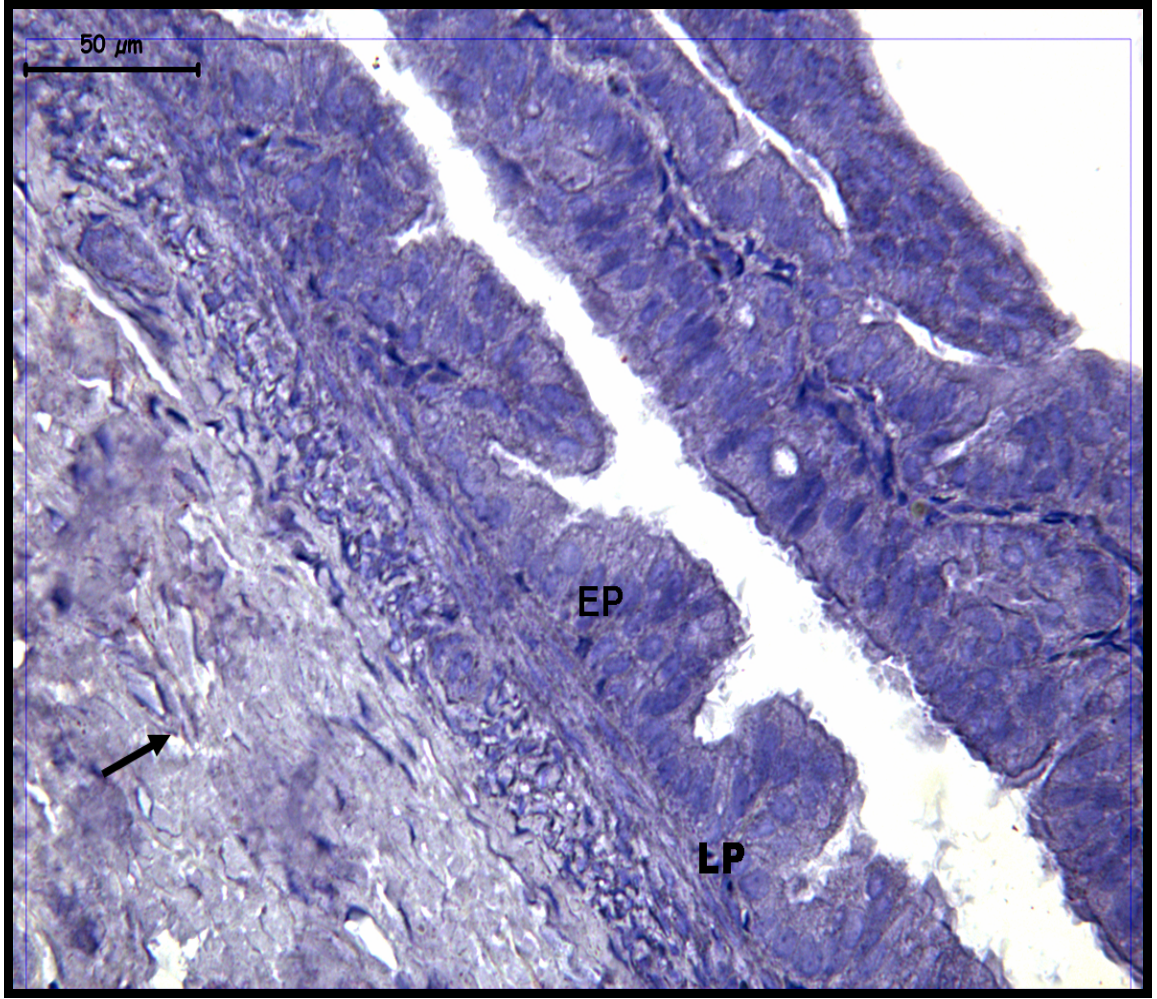
Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta; epitel hücrelerde orta dereceli sitoplazmik tutulum belirlendi. Tutulum epitel hücrelerinde bazı bölgelerde apikal hücre zarında kuvvetliken lamina propriyada zayıf, kas hücrelerinde ise kuvvetliden

ortaya değişiyordu. Büyük büyültme bulguları da küçük büyültmeli resim bulgularına eşdeşti (Resim 27,28).

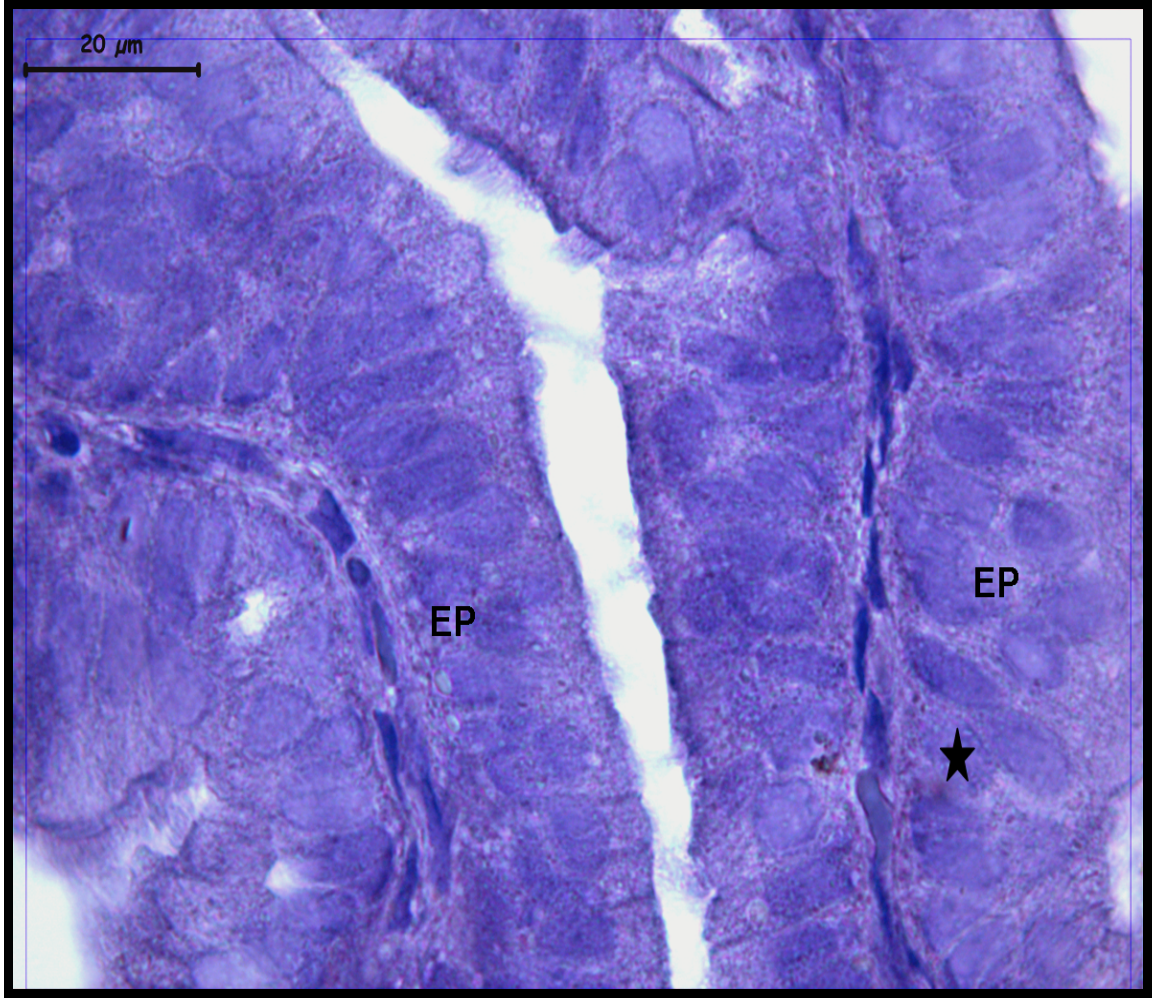
Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alındığı grupta; HSP 70 immünreaktivitesinin bir önceki gruba benzer olduğu görüldü. Epiteldeki tutulum sitoplazmik düzeyde ve orta dereceliydi. Lamina propriyada zayıf tutulum ayırt edilirken bazı kas hücrelerinde kuvvetli bazılarında ise orta dereceli HSP 70 immünreaktivitesi gözlendi (Resim 29,30,31).



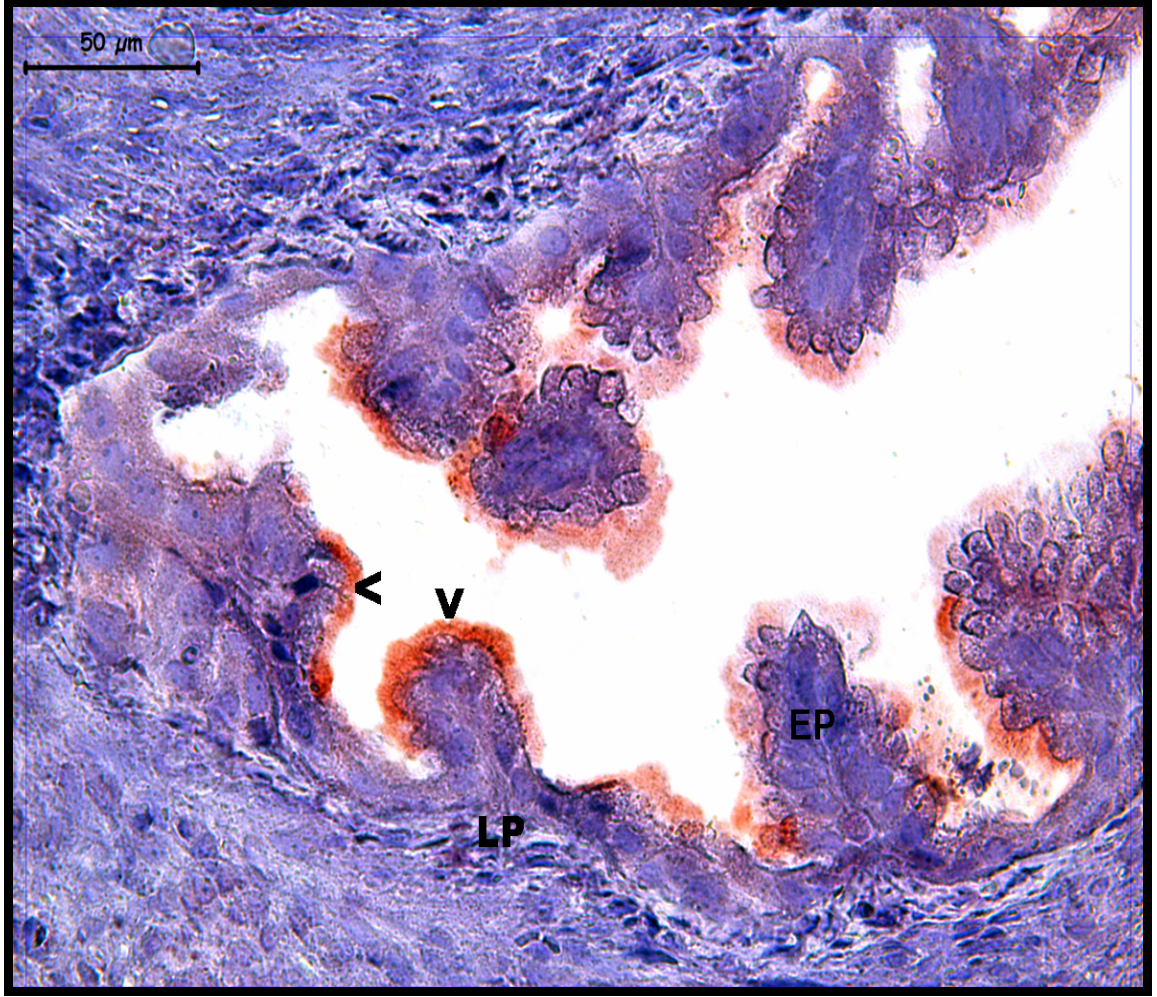
Resim 1: Kaspaz 3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; doku genelinde epitelde (**EP**) zayıf tutulum izlenirken, lamina propriyada (**LP**) tutulum görülüyor. ★: Epitel hücrelerinde kaspaz tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



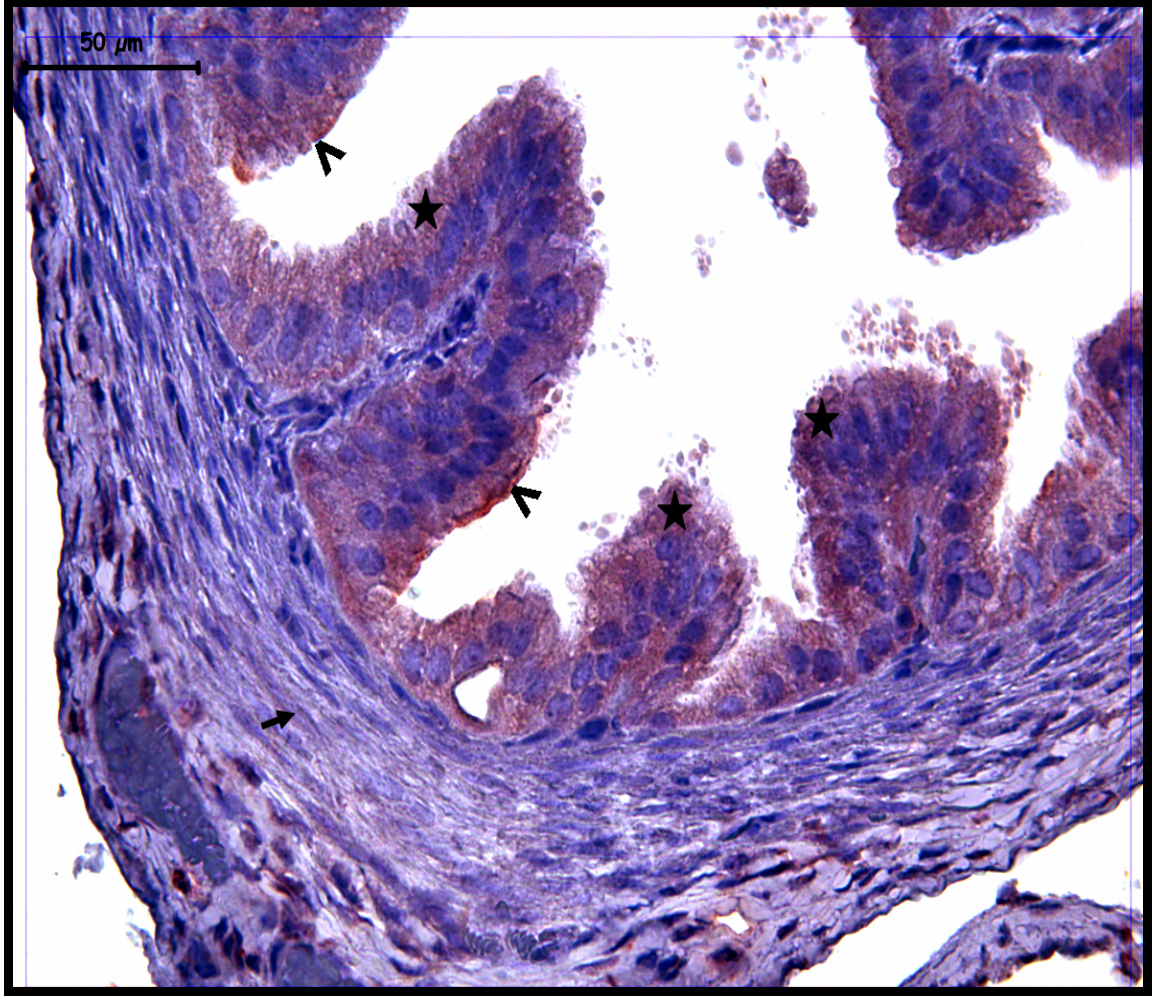
Resim 2: Kaspaz 3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; epitelde (EP), lamina propriya (LP) ve kas dokusunda (→) zayıf immünreaktivite ayırt ediliyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



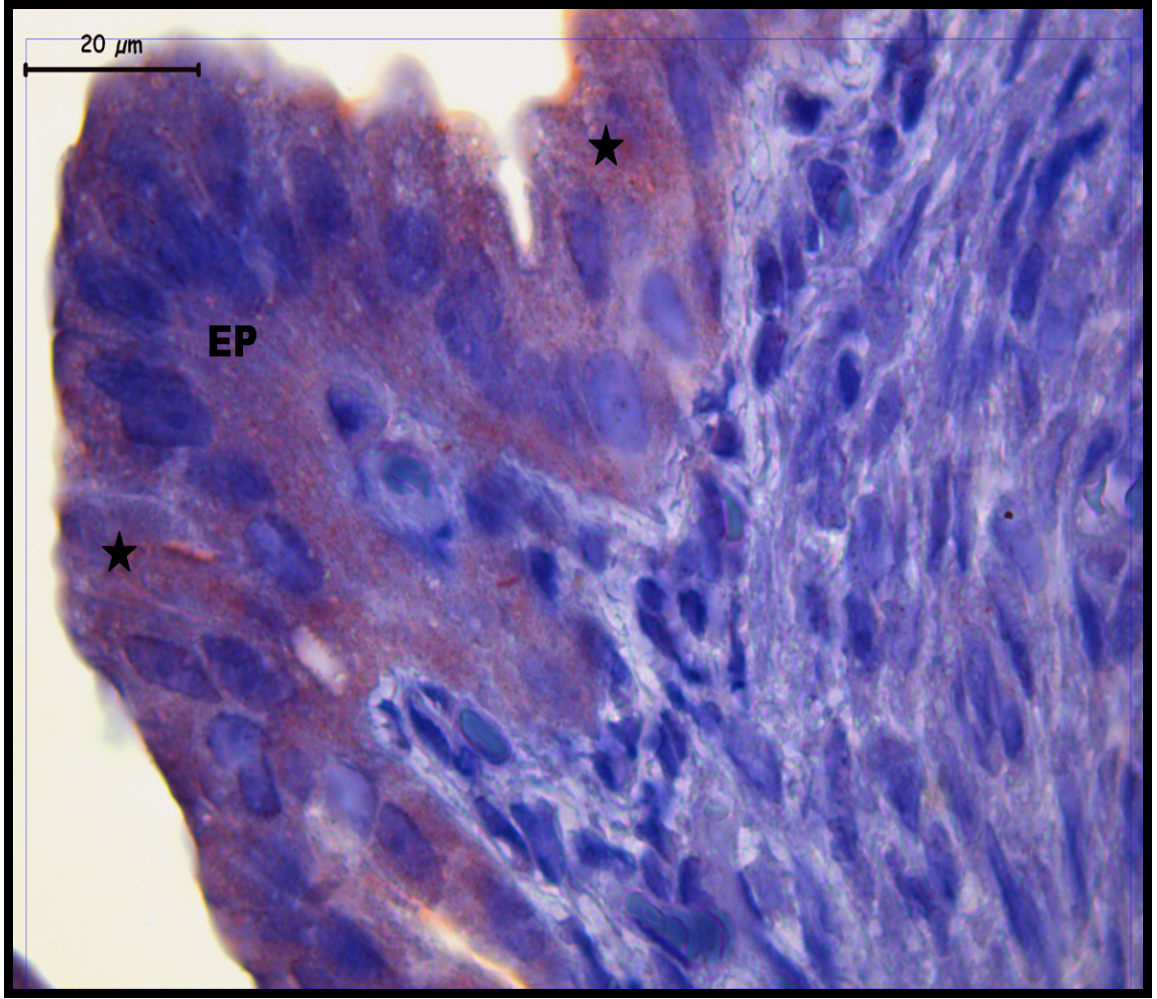
Resim 3: Kaspaz 3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda, büyük büyültmede epitelde (**EP**) zayıf tutulum (★) olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



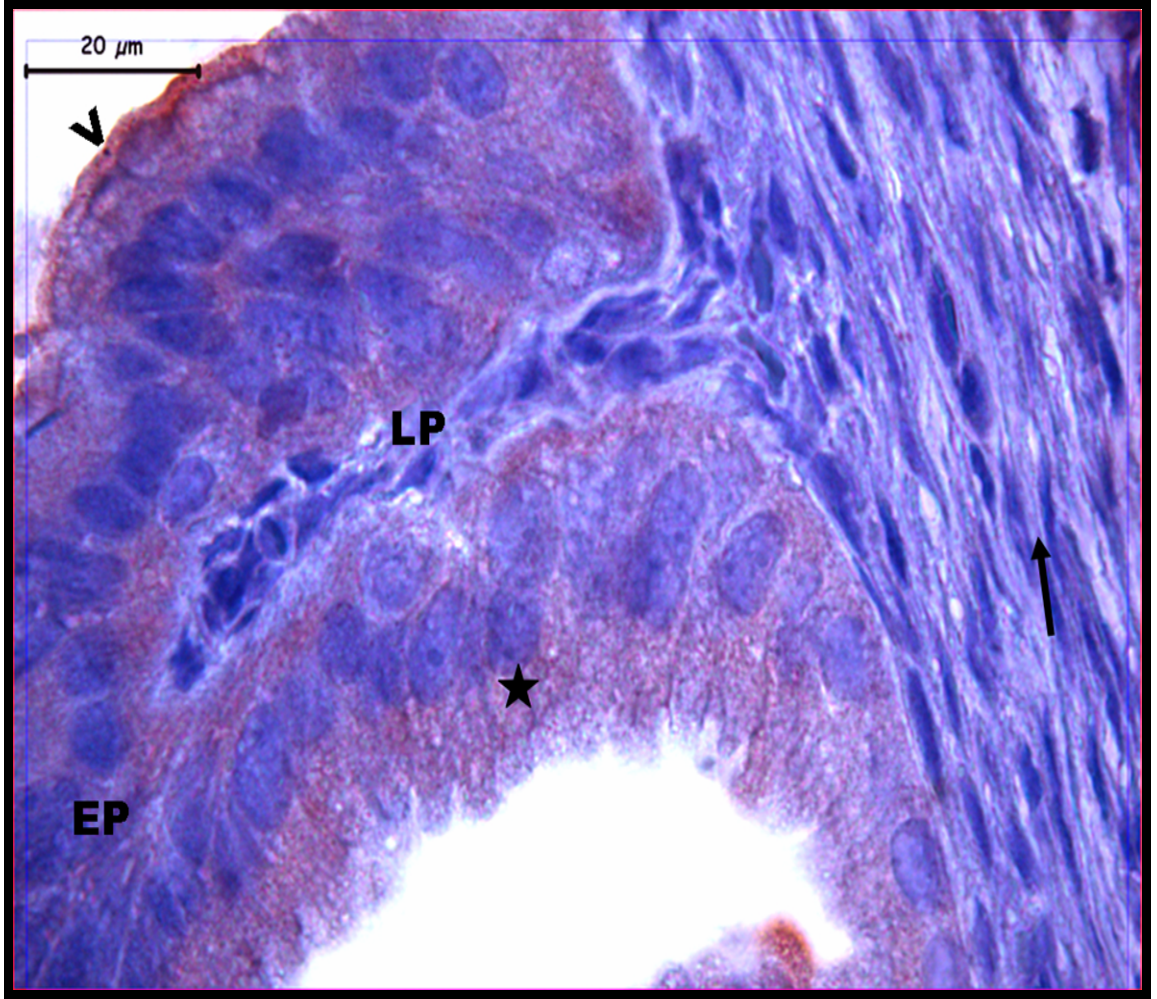
Resim 4: Kaspaz 3 boyaması yapılan, SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; tüm epitel hücrelerinde (**EP**) yaygın ortadan kuvvetliye değişen kaspaz 3 tutulumu belirgin olarak izleniyor. Apikal hücre zarında ve özellikle silyalarda (<) kuvvetli immünreaktivite görülüyor. Lamina propriyada (**LP**) orta dereceli immünreaktivite belirgin (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



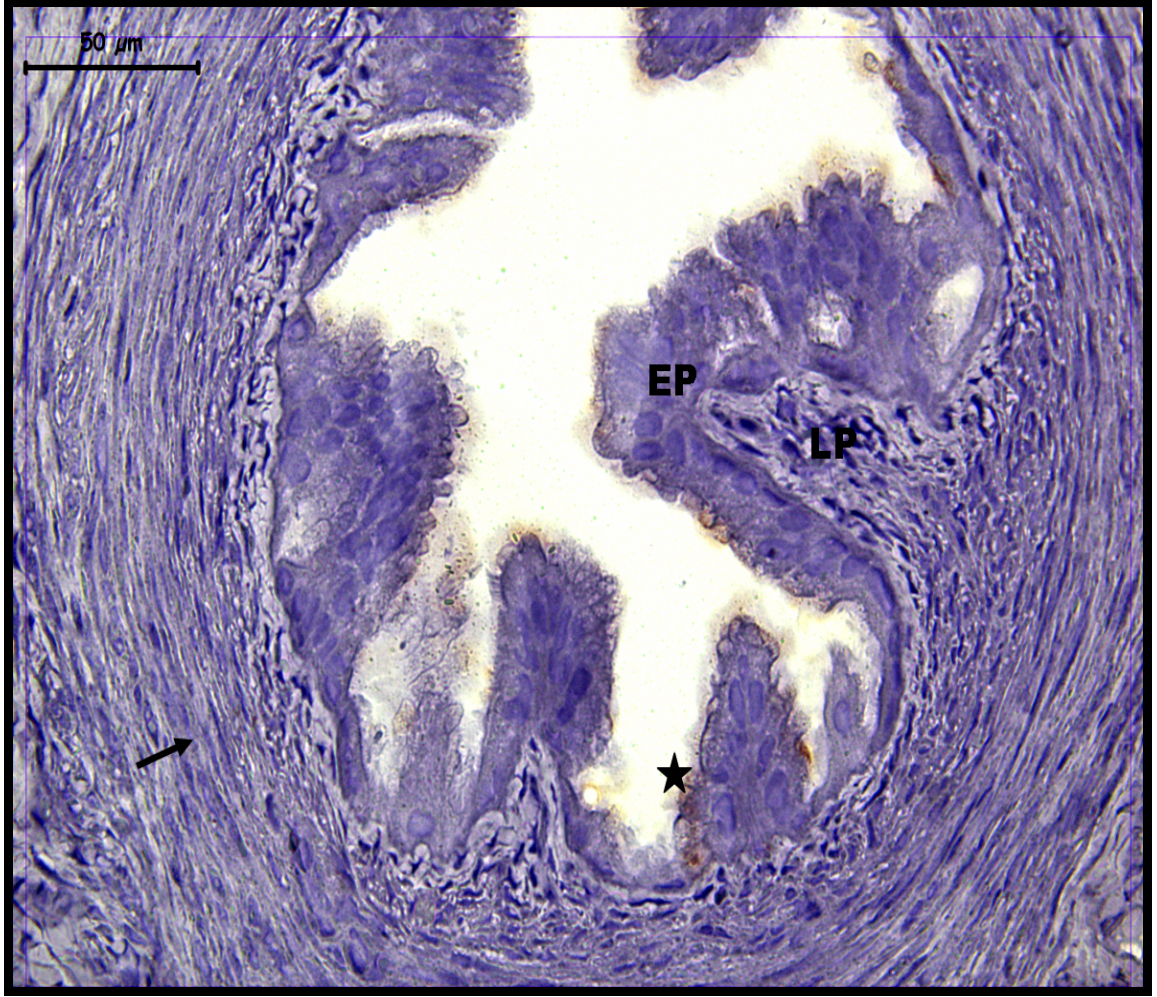
Resim 5: Kaspaz 3 boyaması yapılan, SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinde silyalarda (<) ve tüm sitoplazmada (★) tutulum görülüyor. Kas hücrelerinde (→) orta dereceli kaspaz 3 tutulumu izleniyor. (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



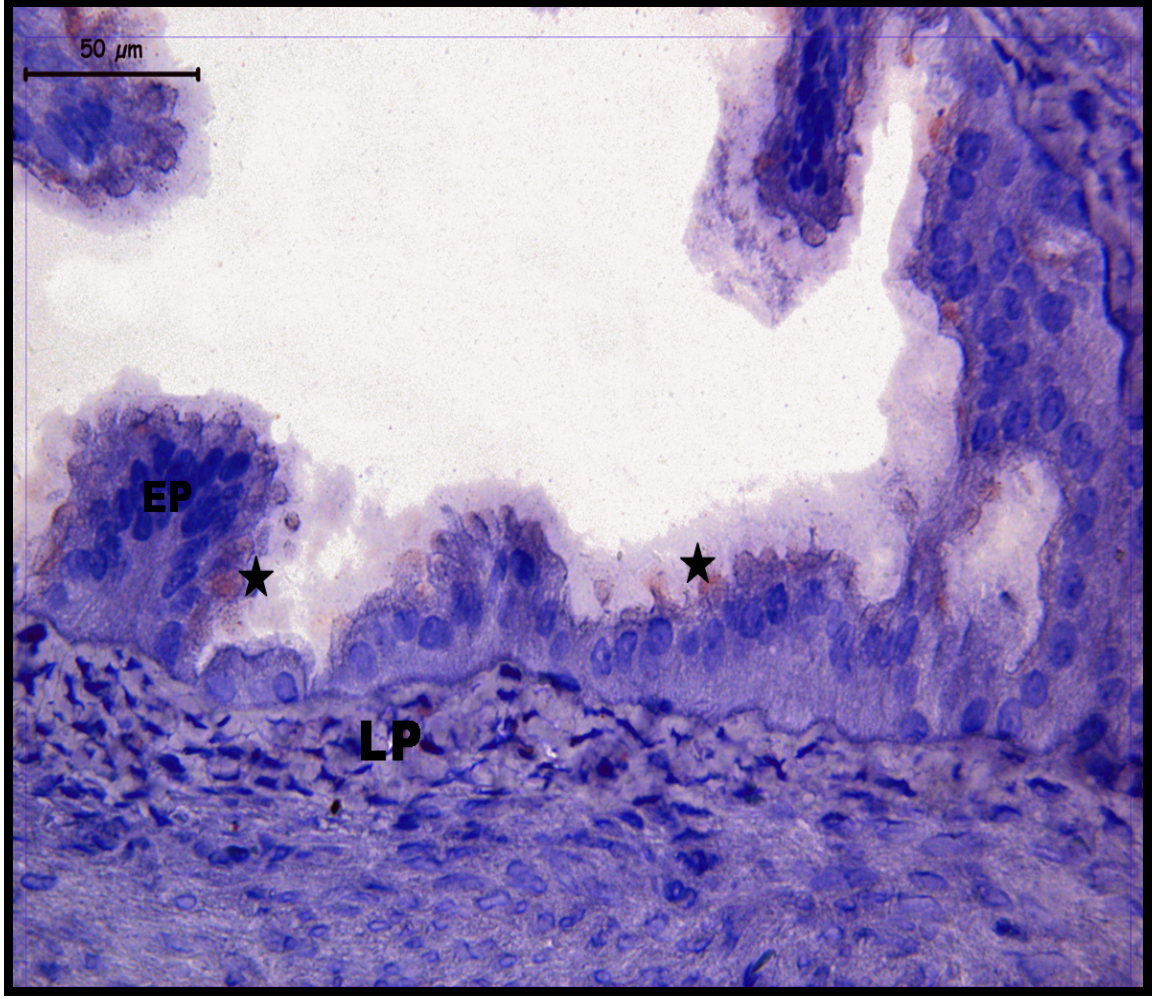
Resim 6: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epiteldeki (**EP**) sitoplazmik tutulum (★) belirgin olarak ayırt ediliyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



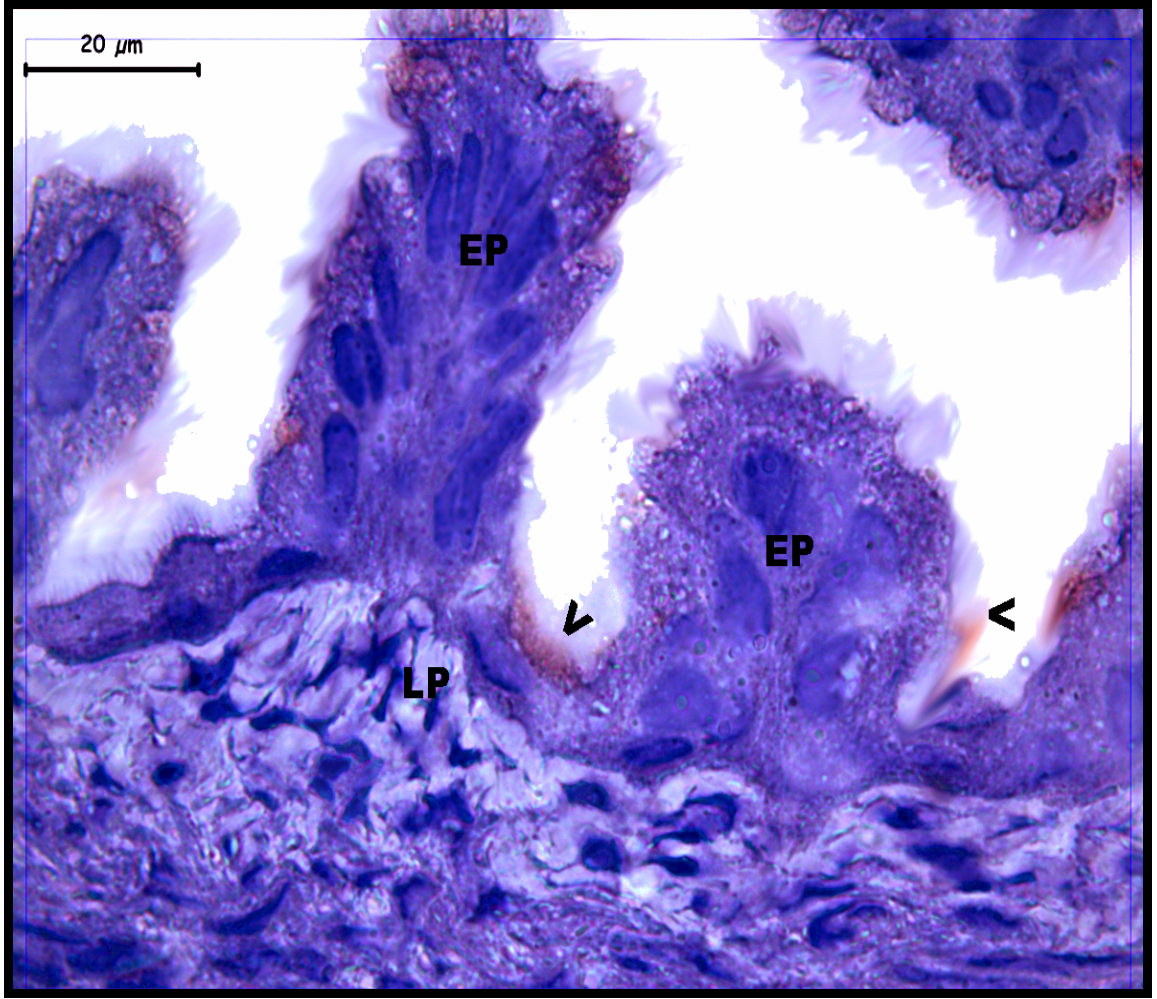
Resim 7: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epiteldeki (EP) sitoplazmik tutulum (★) ve kas hücrelerindeki (→) immünreaktivite izleniyor. LP: Lamina propriya, S: Silyalar (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



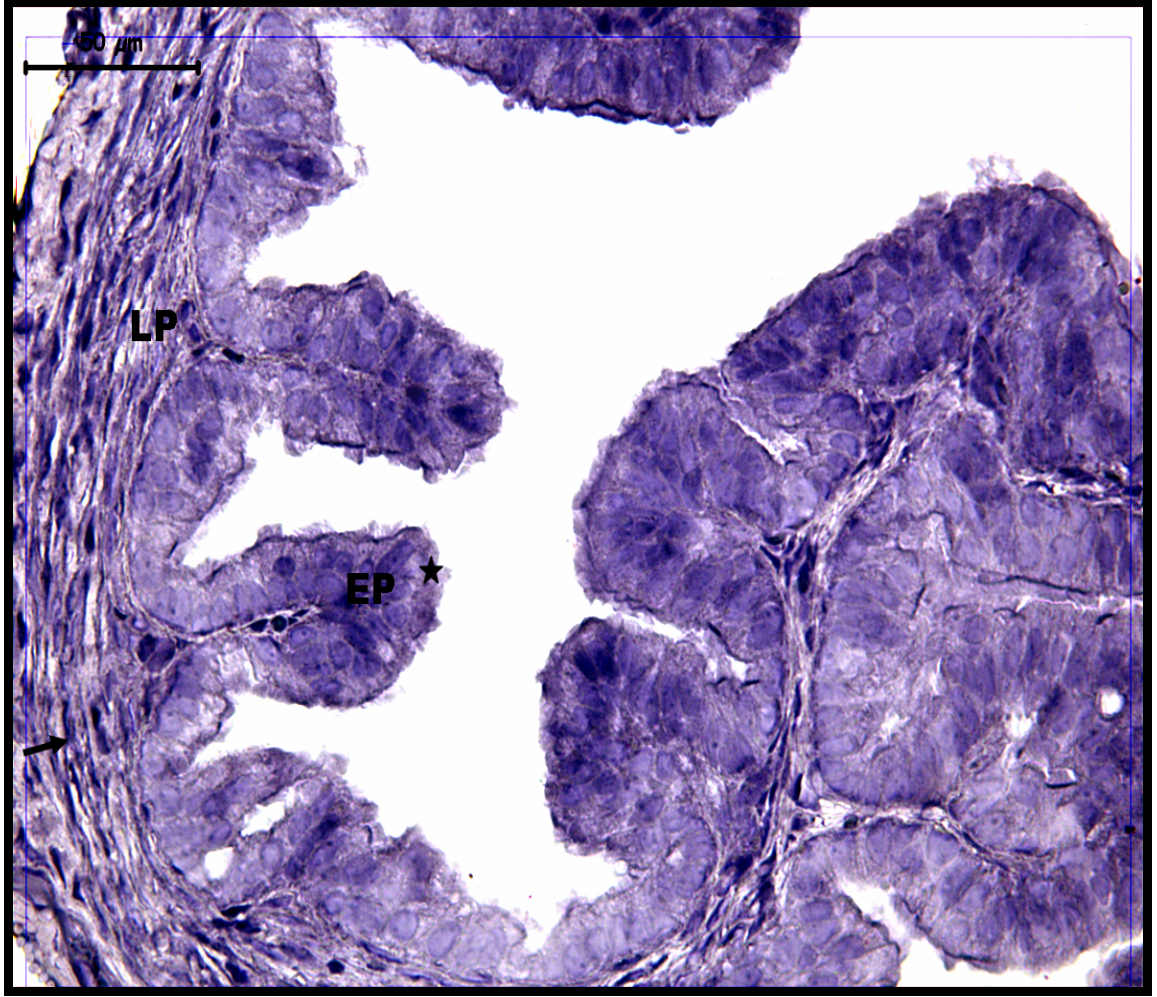
Resim 8: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan 24 saat sonra örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; kaspaz 3 tutulumunun epitel (EP) ve silyalarda (★) kontrol grubuna eşdeğer görünümü dikkati çekiyor. LP: Lamina propriya, ➔: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



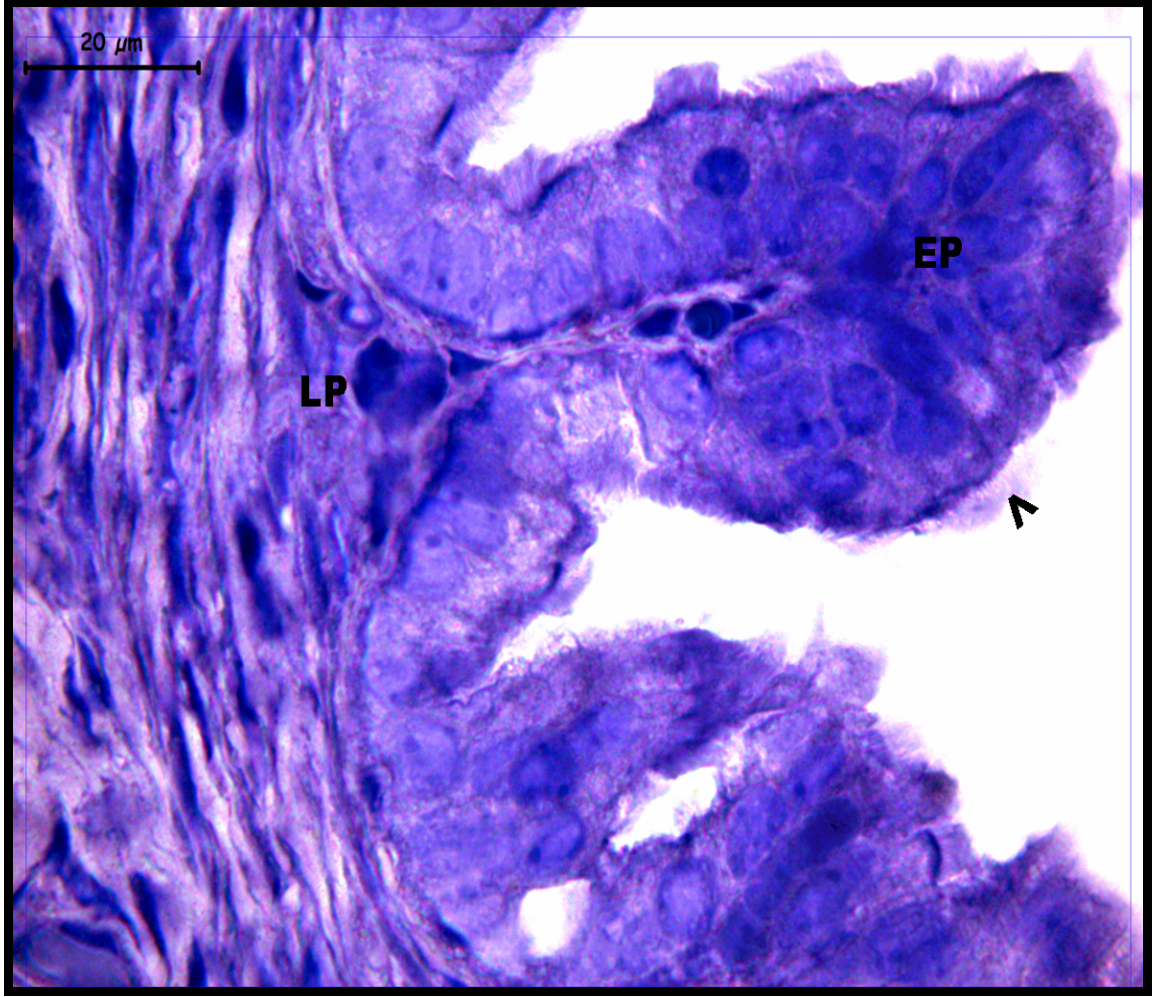
Resim 9: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan 24 saat sonra örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (**EP**) hücrelerin apikalinde; silyalarda (★) zayıftan ortaya değişen immünreaktivite izleniyor. **LP:** Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



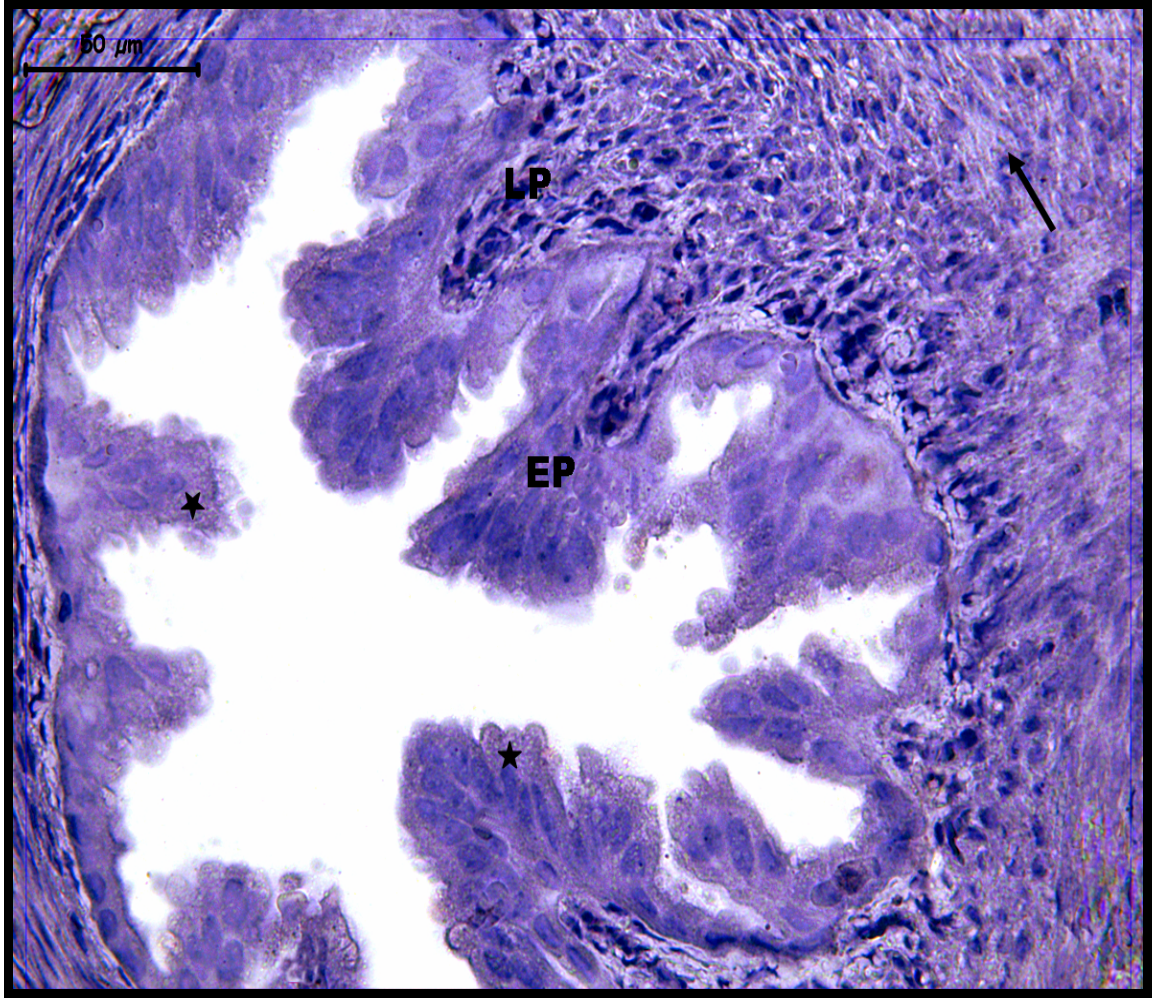
Resim 10: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan 24 saat sonra örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinin (**EP**) silyalarındaki (<) zayıftan ortaya değişen tutulum görülüyor. **LP:** Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



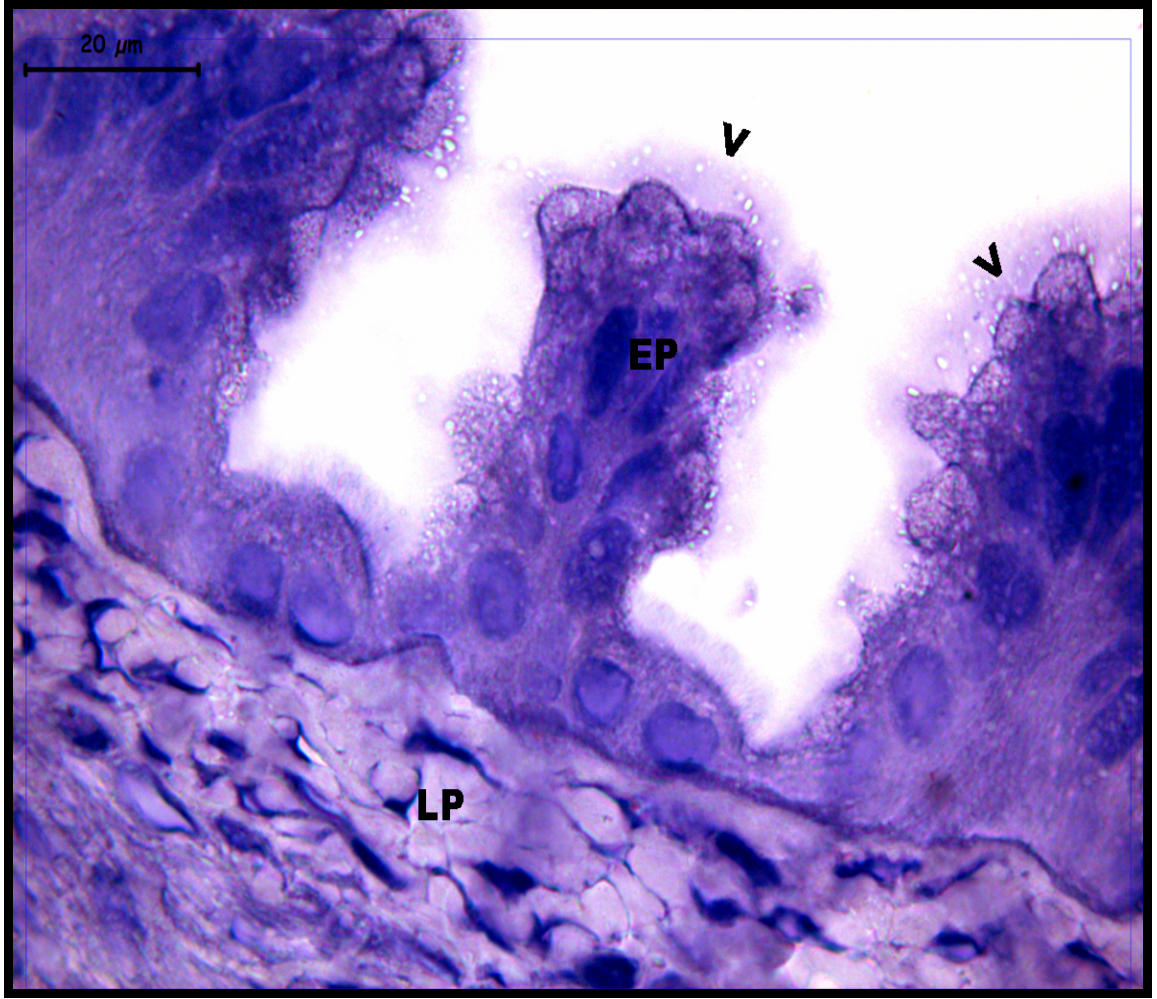
Resim 11: Kaspaz 8 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; kaspaz 8 tutulumunun epitelde (**EP**) ve lamina propriyada (**LP**) son derece zayıf olduğu görülüyor. ➔: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



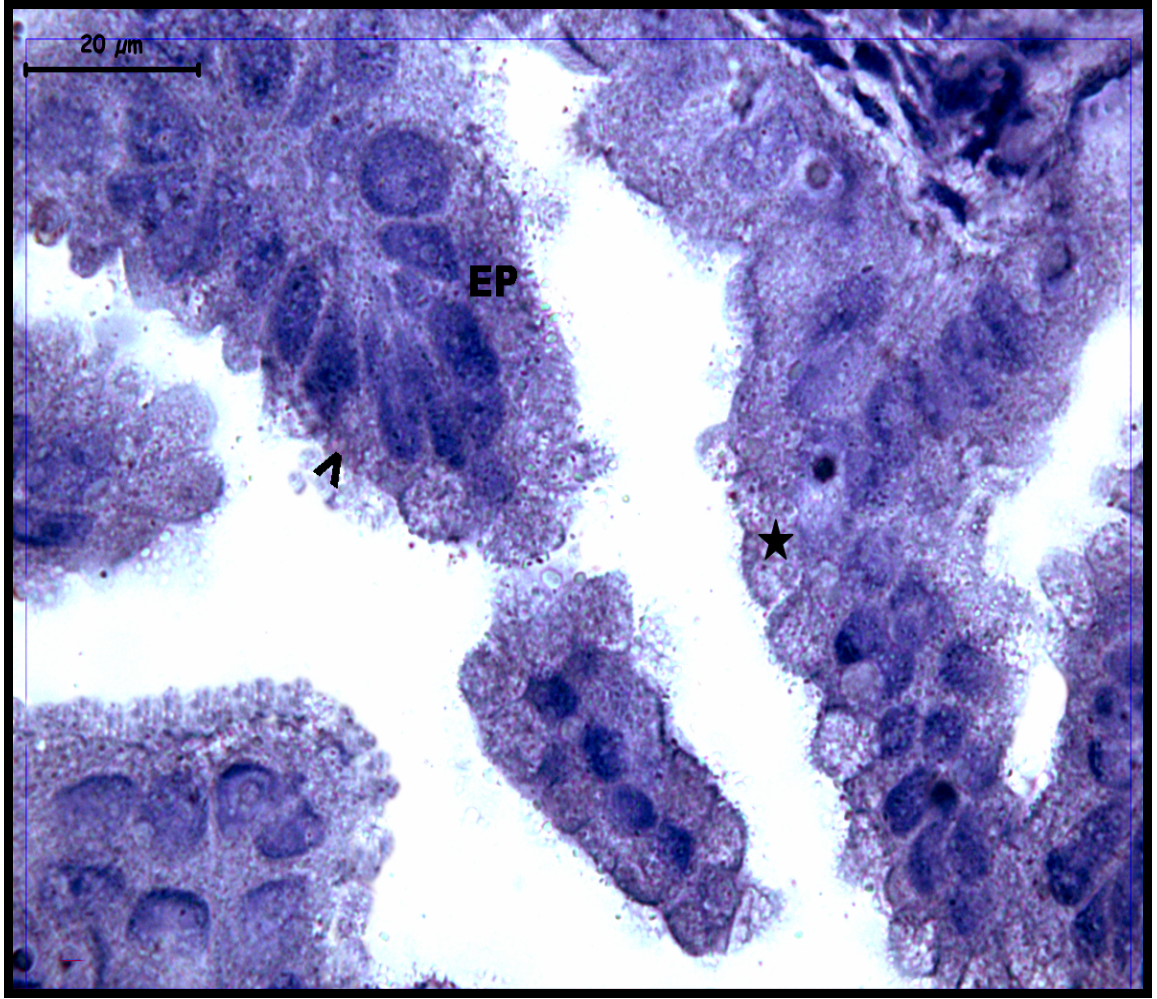
Resim 12: Kaspaz 8 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; immünreaktivitenin epitelde (**EP**) silyalarda (<) ve lamina propriyada (**LP**) son derece zayıf olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



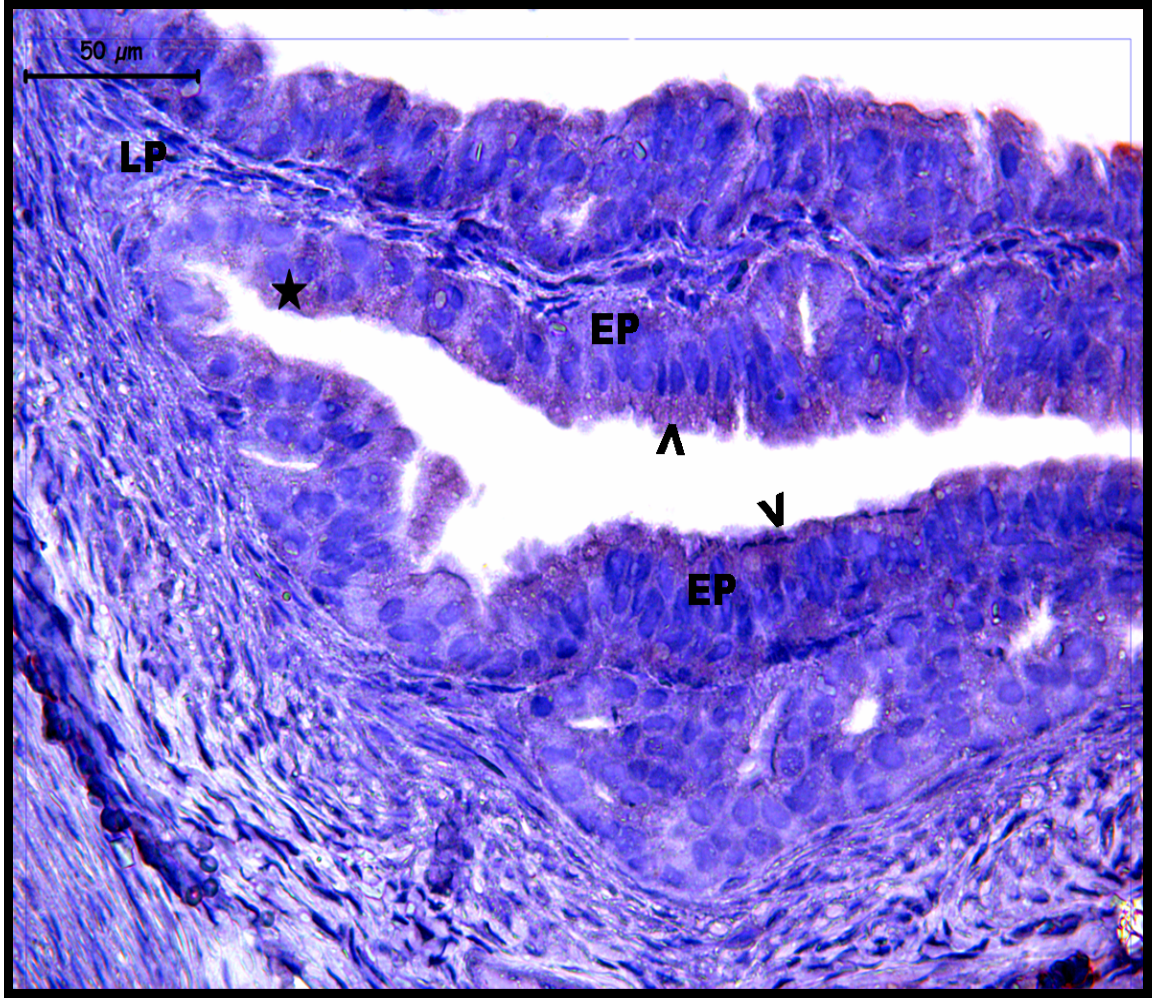
Resim 13: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epiteldeki (**EP**) immünreaktivitenin sitoplazmik (★) ve orta dereceli olduğu ayırt ediliyor. **LP:** Lamina propriya, ➔: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



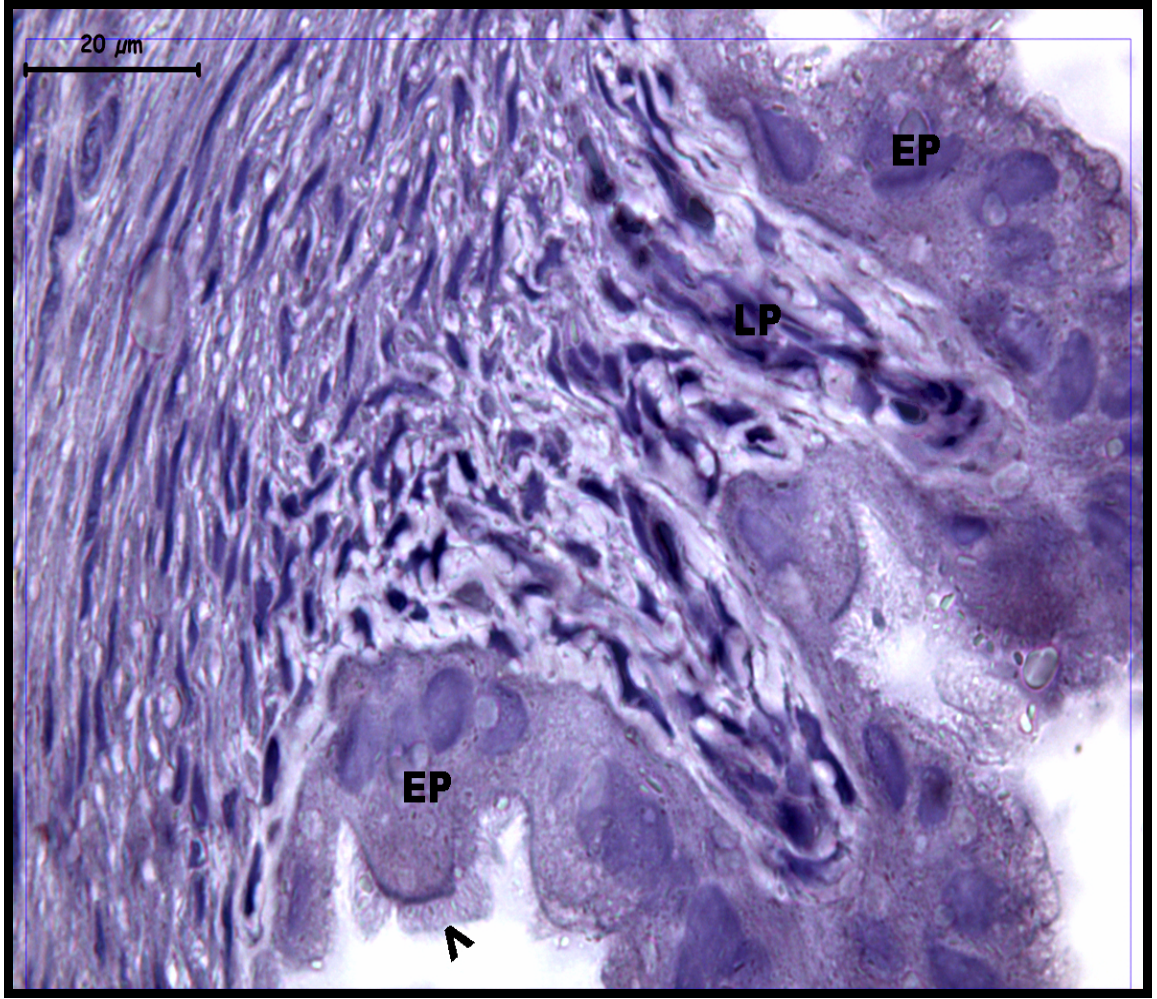
Resim 14 : Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinde (**EP**) ve silyalarda (<) orta dereceli tutulum izleniyor. **LP:** Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



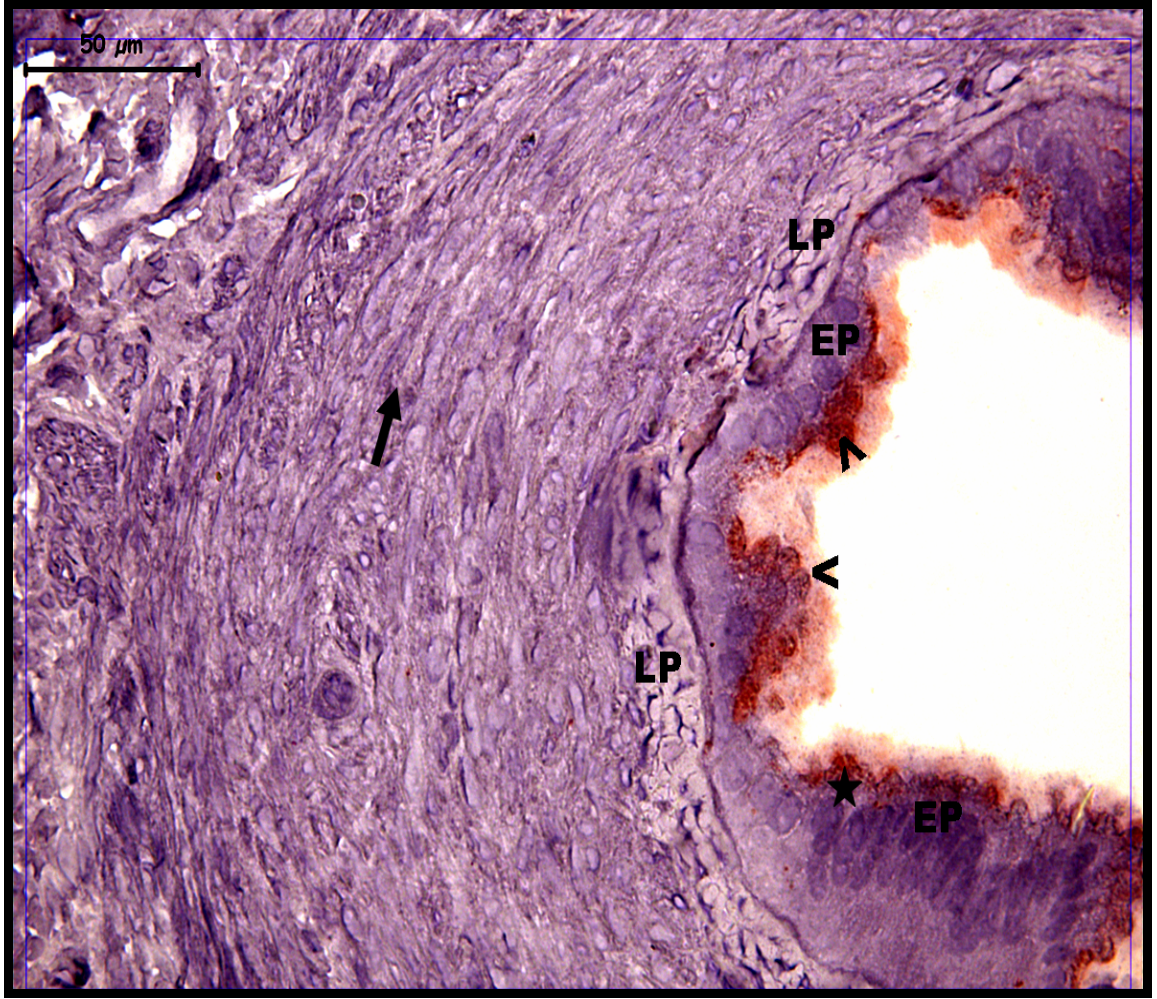
Resim 15: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinde (**EP**) ve silyalarda (<) orta dereceli sitoplazmik (★) tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



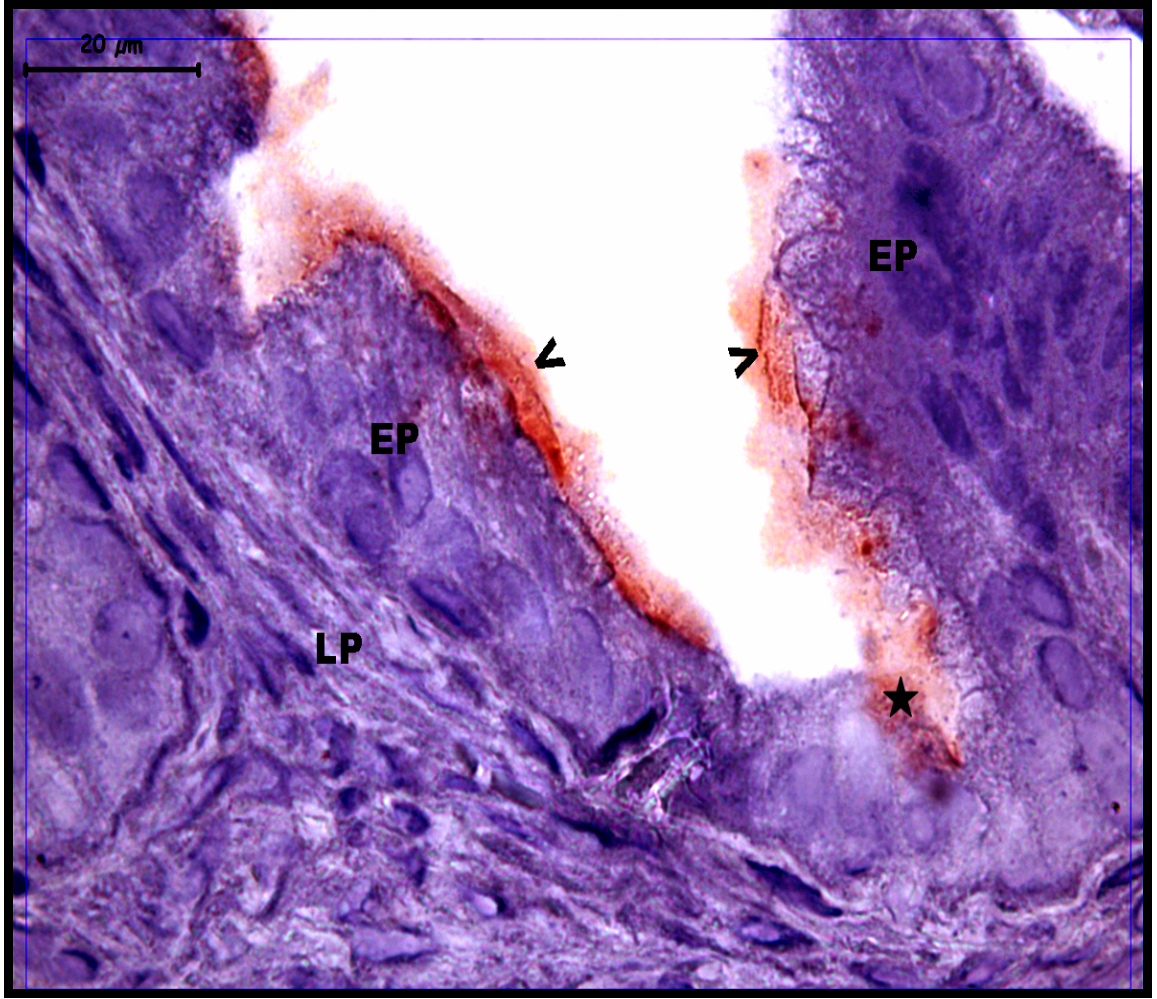
Resim 16: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24 saat sonra örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinin apikal sitoplazmalarında (EP) ve silyalarda (<) zayıf orta dereceli tutulum (★) izleniyor. LP: Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



Resim 17: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24 saat sonra örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücreleri (**EP**) apikal sitoplazmasında ve silyalarda ($\blacktriangleleft$) orta-zayıf tutulum görülüyor. Lamina propriya (**LP**) ve kas dokusunda ($\rightarrow$) zayıf tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



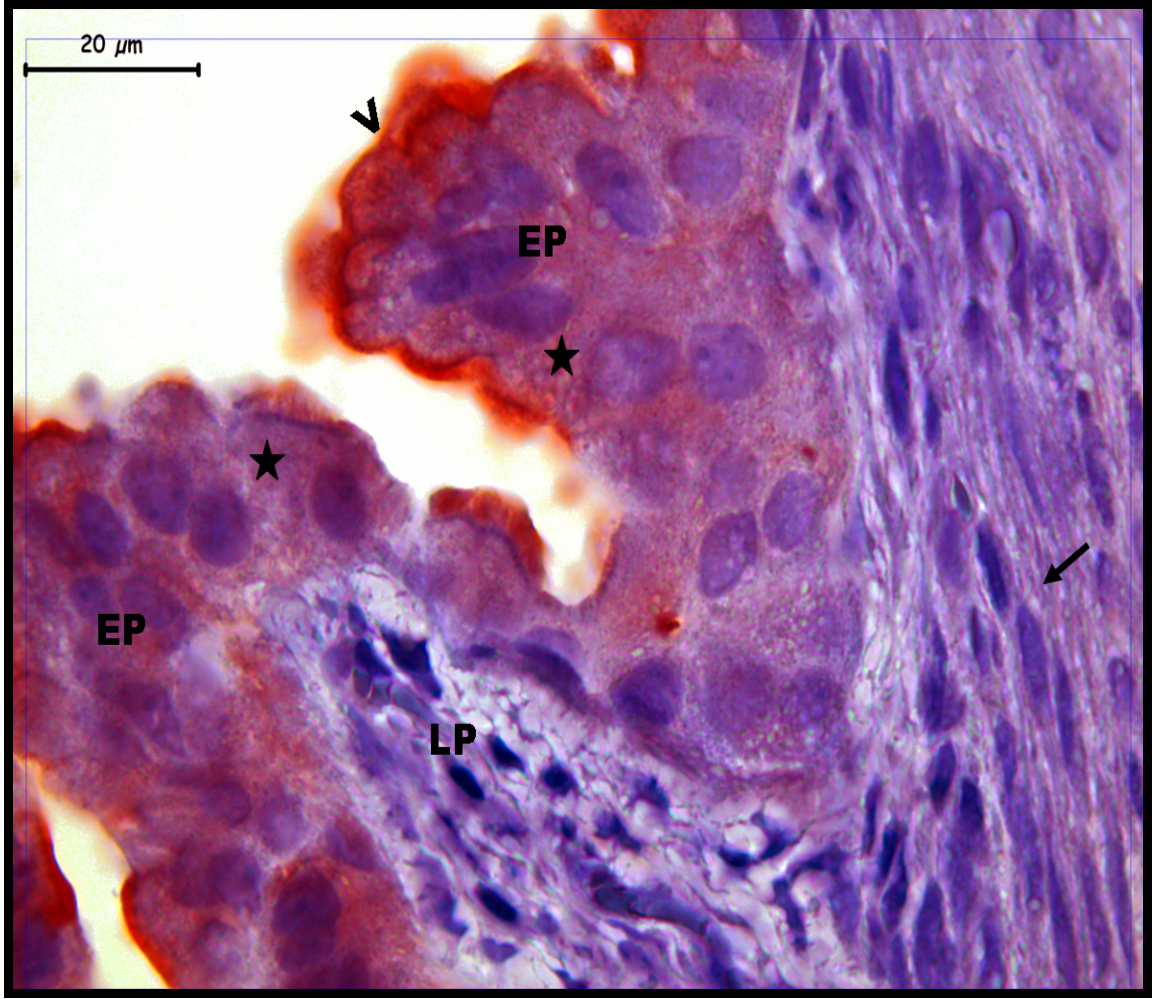
Resim 18: Kaspaz 9 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (**EP**) özellikle apikal sitoplazmada, hücre zarı (★) ve silyalarda (<) son derece kuvvetli olduğu görülüyor. Lamina propriya (**LP**) ve kasta (→) tepkime negatiften zayıfa değişen düzeyde (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



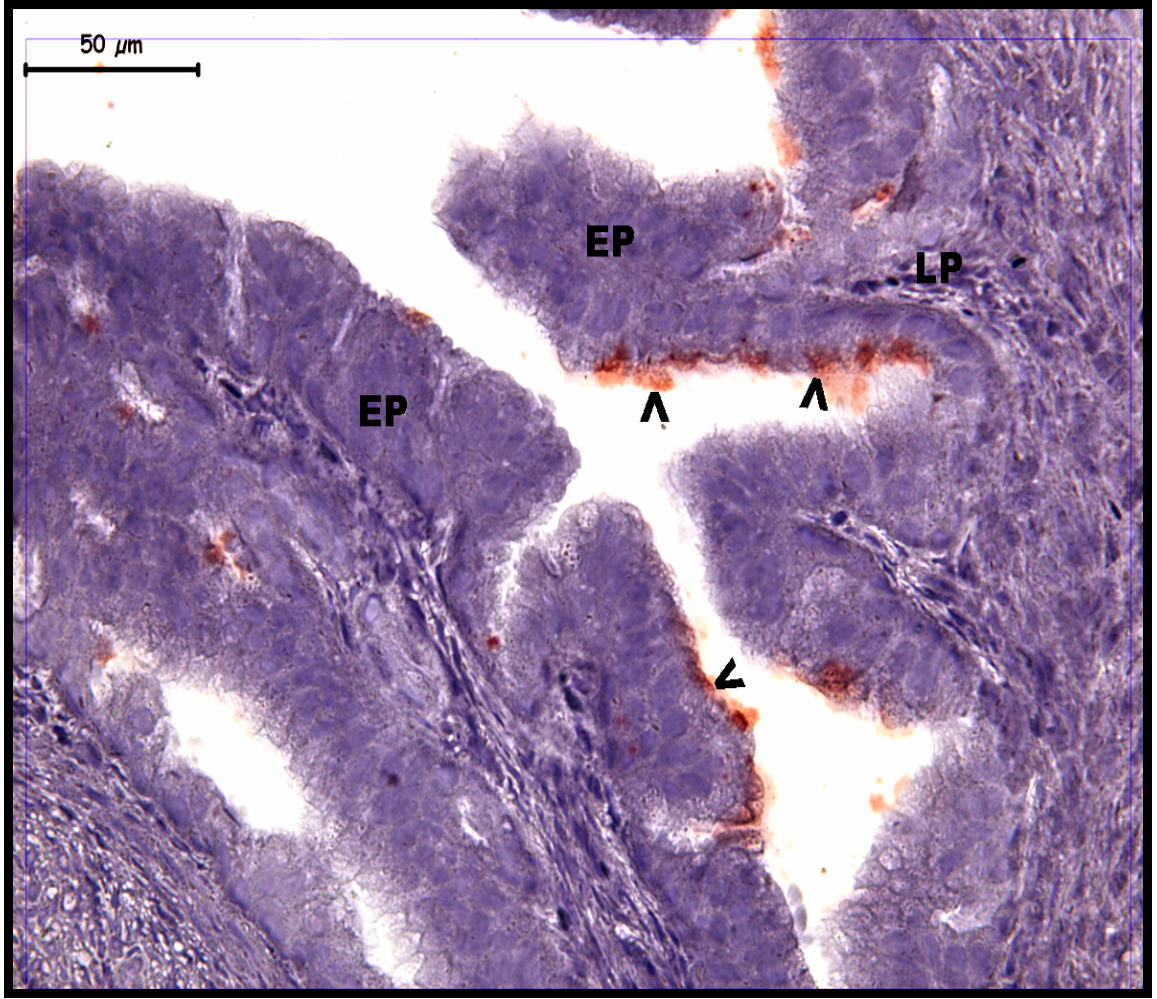
Resim 19: Kaspaz 9 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; büyük büyültmelerde de epitelde (EP) ve silyalarda (↔) immünraektivite (★) görülüyor. LP: Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



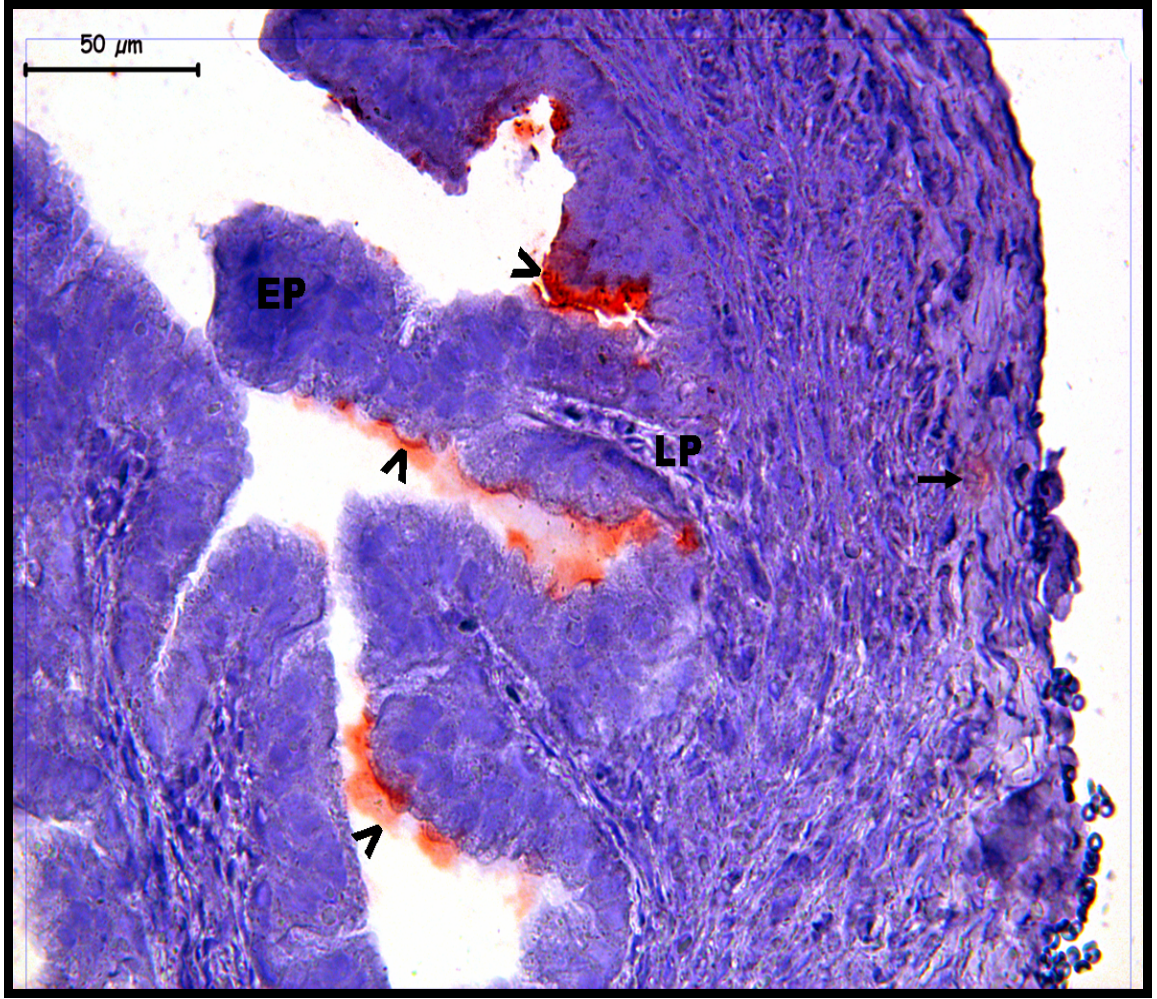
Resim 20: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; kaspaz 9 immünreaktivitesinin tüm epitelde (EP) yaygın olduğu görülürken apikal sitoplazma, hücre zarı, silyalardaki (<) yoğunluğu ilgiyi çekiyor. Lamina propriya (LP) ve kas dokusunda (→) tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



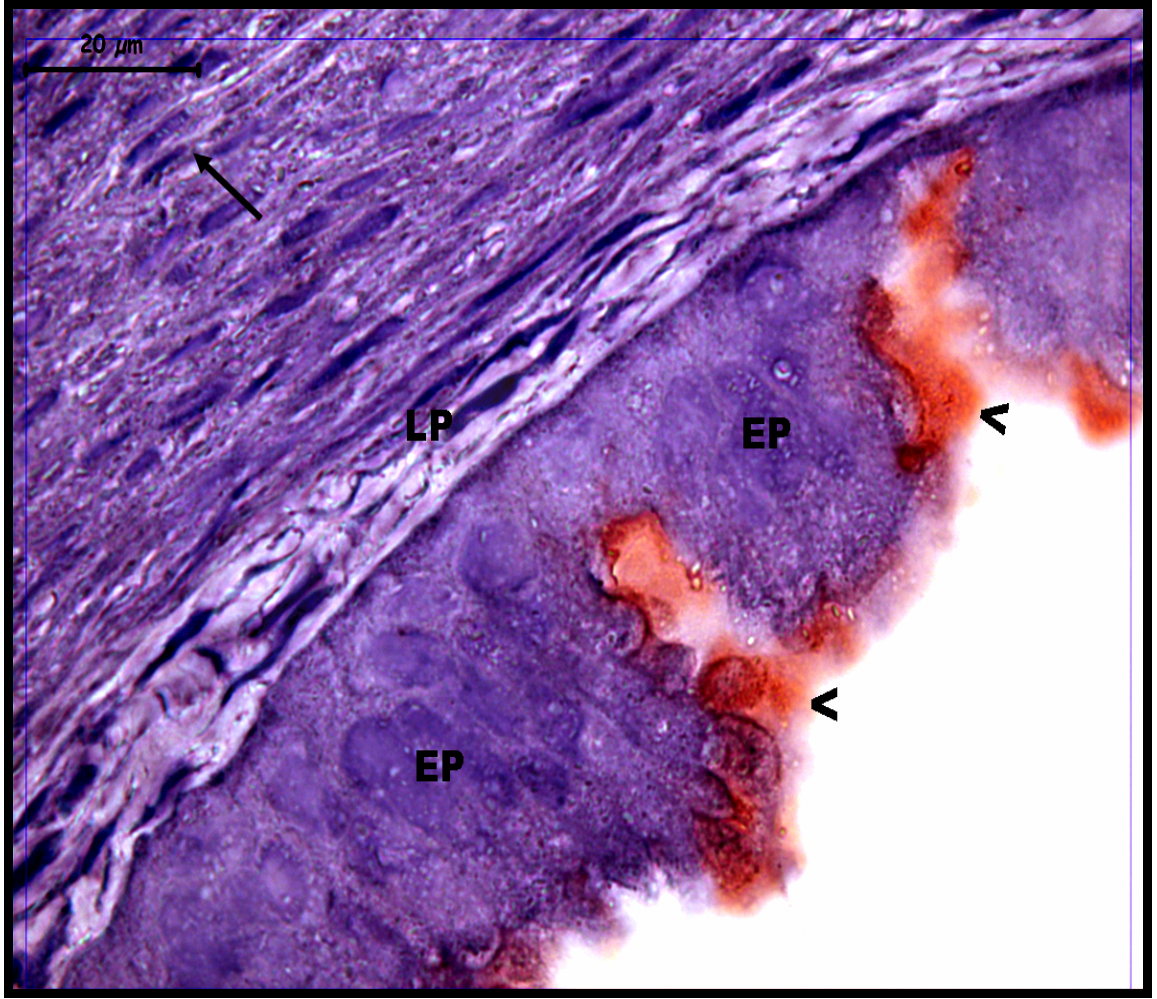
Resim 21: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakikada örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epiteldeki (EP) immünreaktiviteye silyalardaki (<) kuvvetli immünreaktivitenin (★) eşlik ettiği izleniyor. LP: Lamina propriya, →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



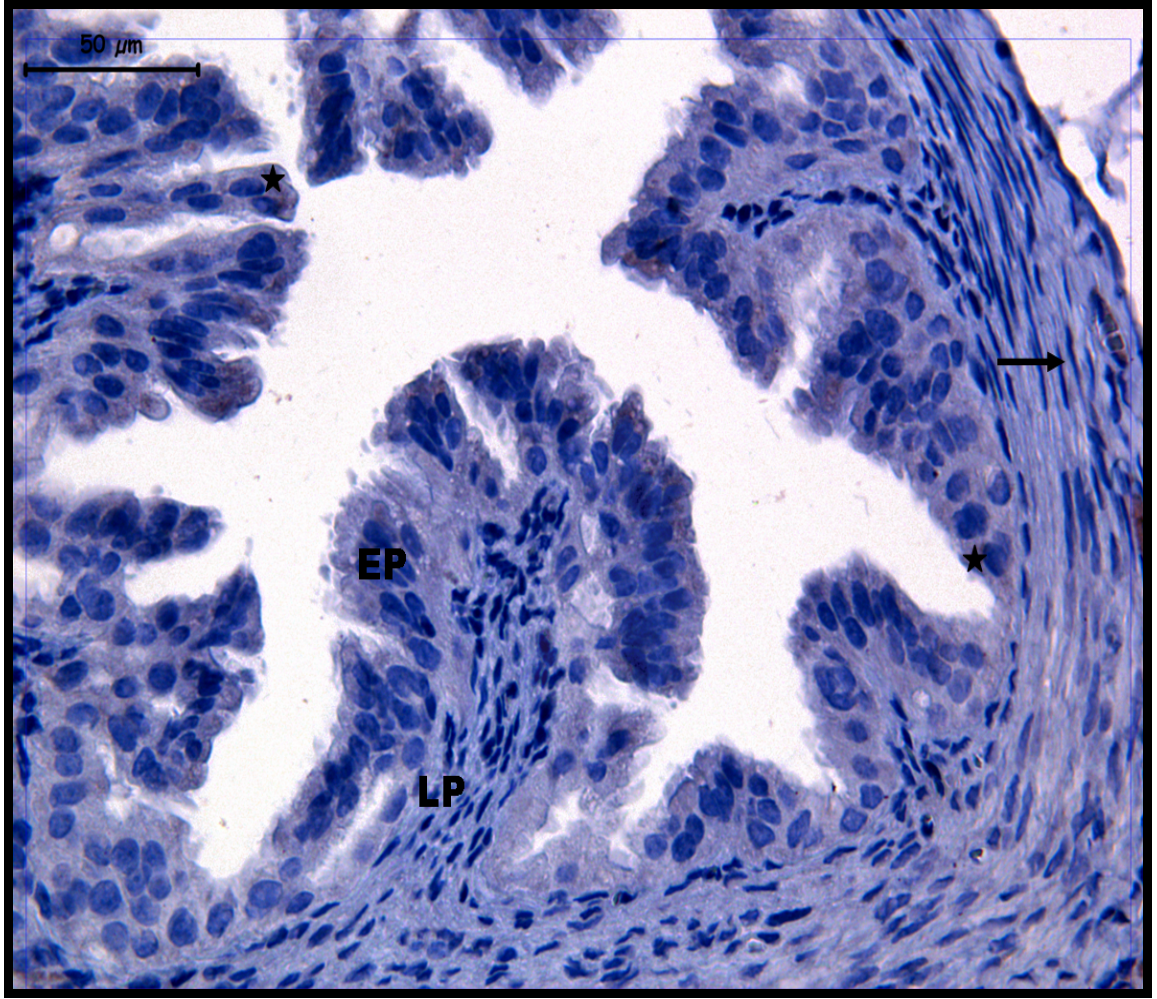
Resim 22: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24 saat sonra örnekleri alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel (**EP**) hücrelerinde apikal sitoplazma, hücre zarı ve silyalarda (<) yer yer Kaspaz 9 immünreaktivitesi görülüyor. **LP:** Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



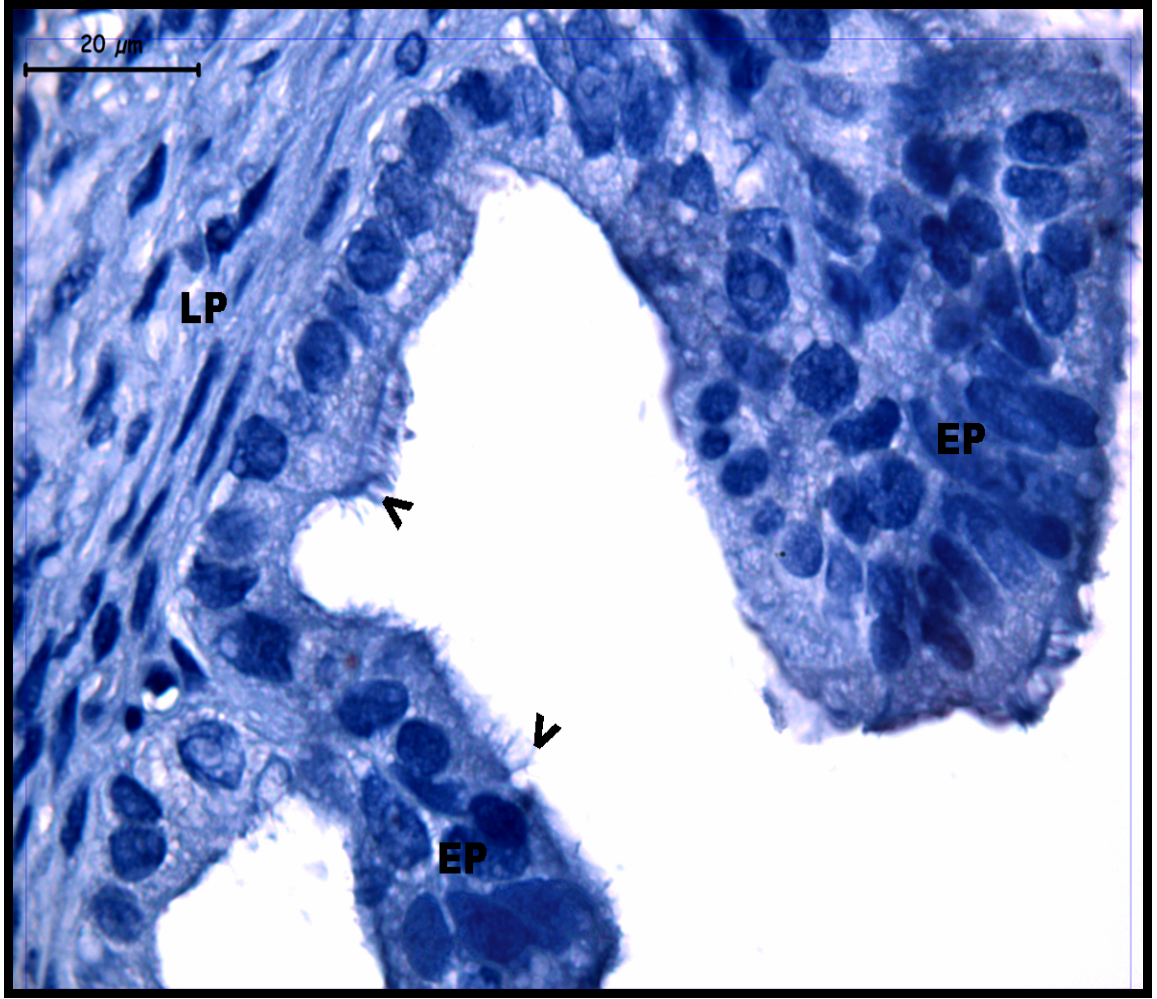
Resim 23: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24 saat sonra dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (**EP**) özellikle silyalarda (<) yer yer belirgin immünreaktivite izleniyor. **LP**: Lamina propriya, →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



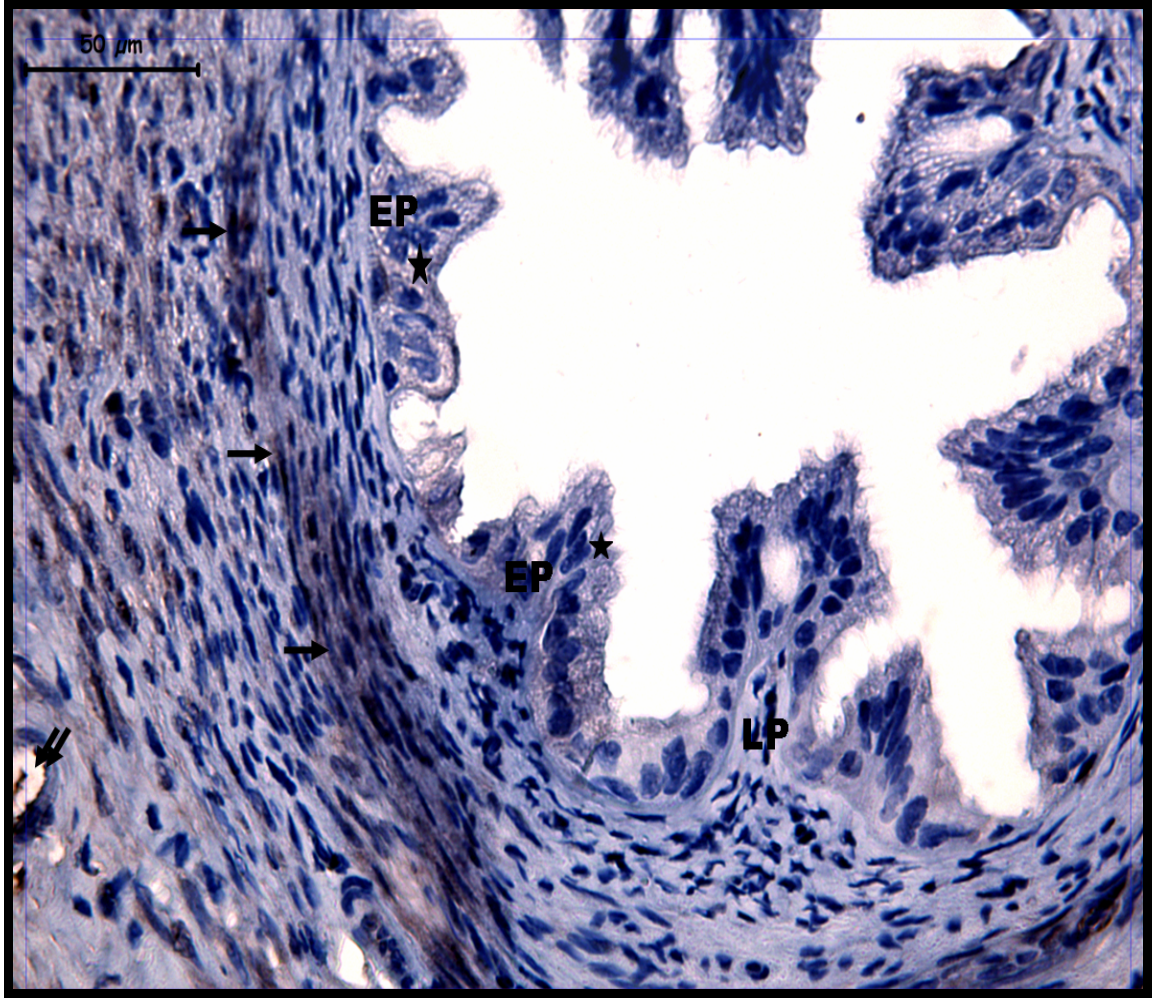
Resim 24: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24 saat sonra dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (**EP**) özellikle silyalardaki (<) tutulum dikkati çekiyor. **LP**: Lamina propriya, →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



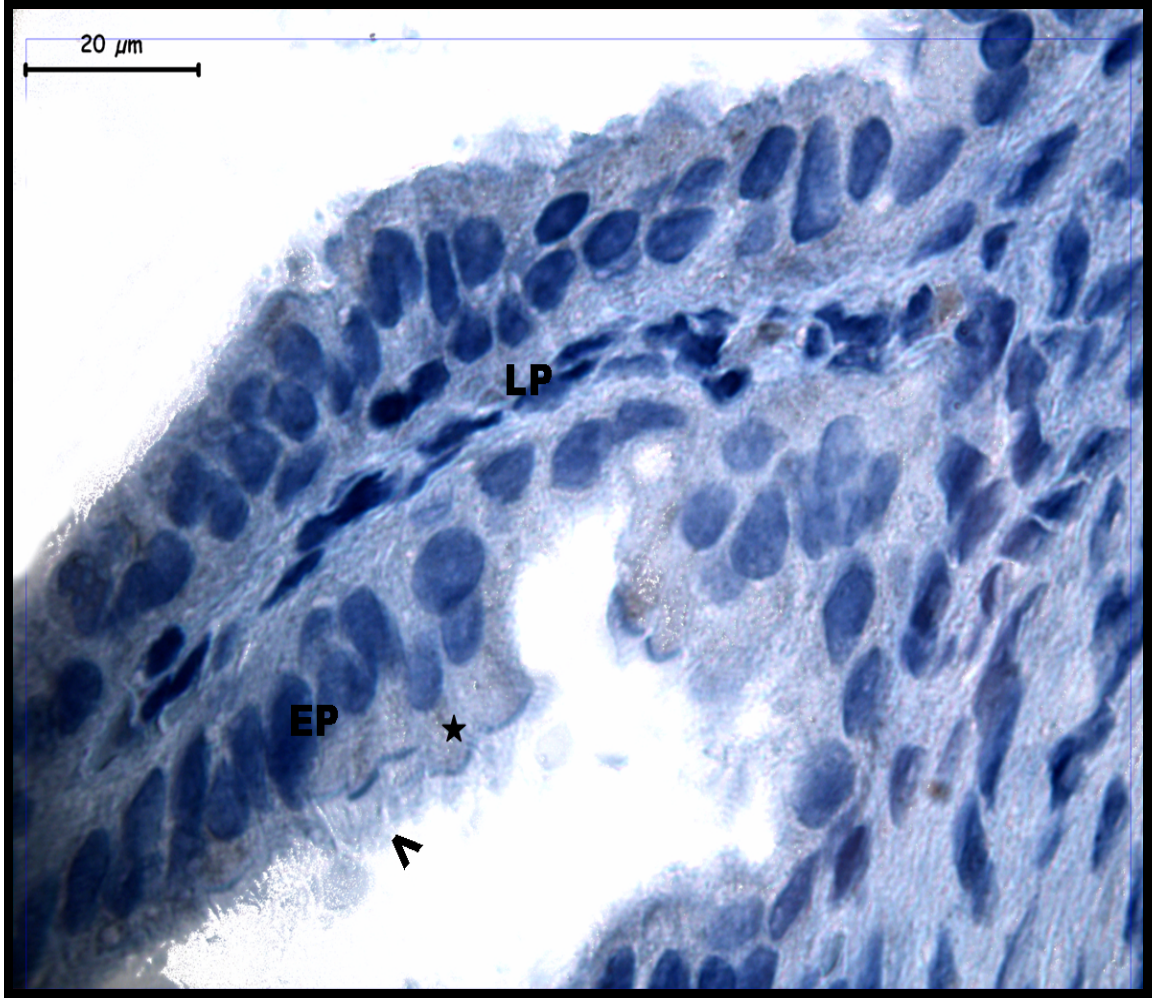
Resim 25: HSP 70 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; epitelde (**EP**) zayıf sitoplazmik (★) immünreaktivite görülüyor **LP:** Lamina propriya, →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



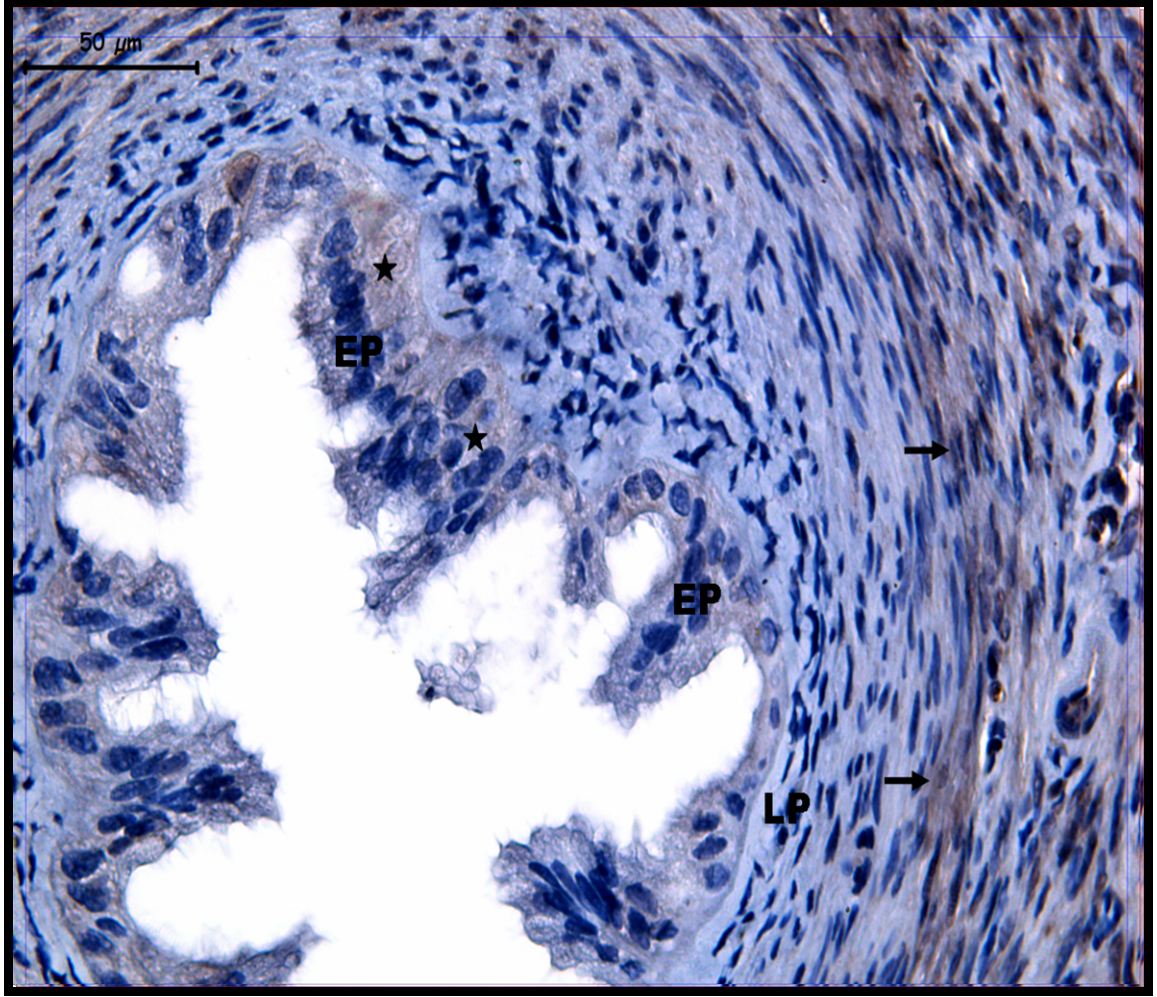
Resim 26: HSP 70 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; büyük büyültmelerde epitelde (**EP**) ve silyalarda (<) yer yer zayıf tutulum izleniyor. **LP:** Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



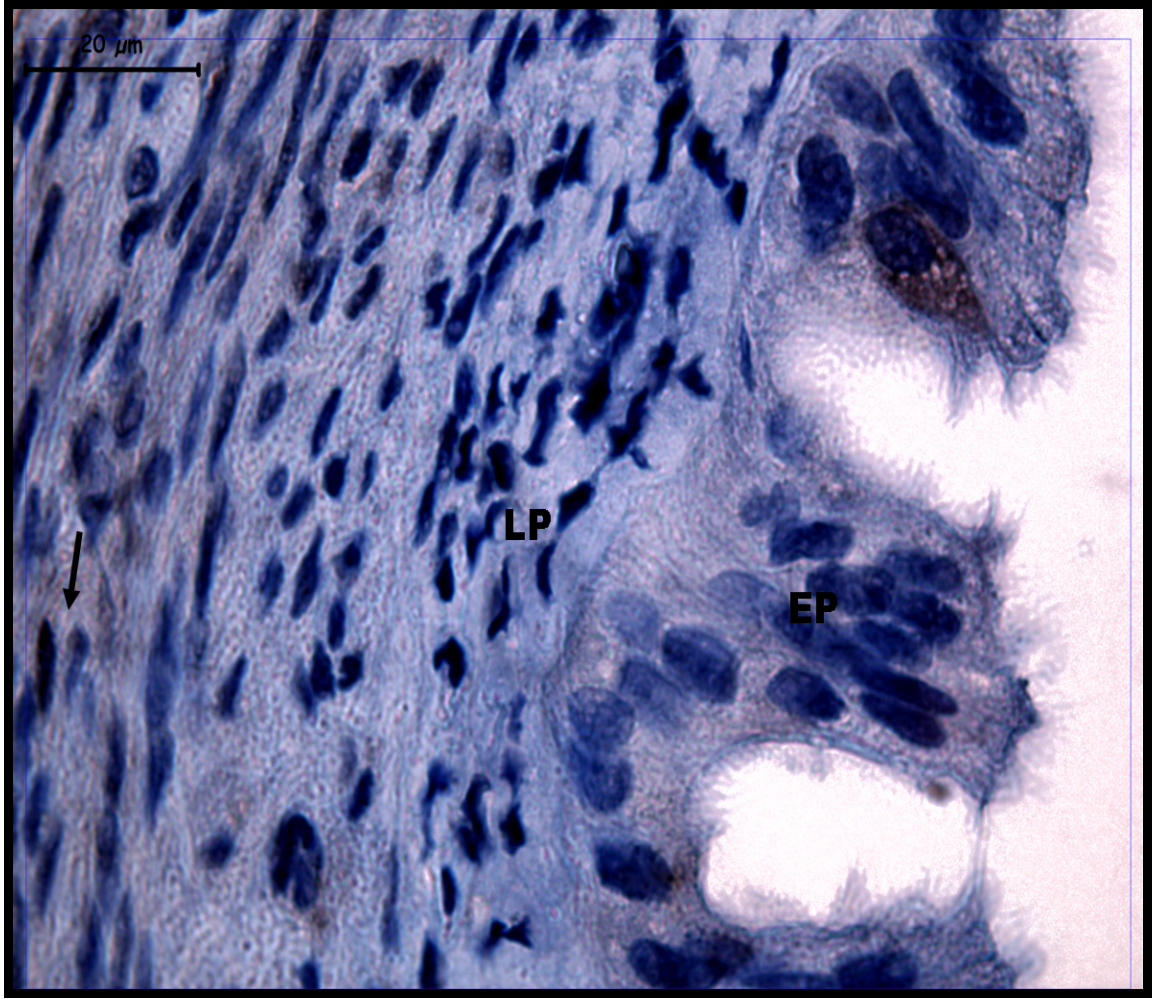
Resim 27: HSP 70 boyaması yapılan, SOD uygulanan ve 30. dakikada dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerde (EP) orta dereceli sitoplazmik tutulum izlenirken, bazı bölgelerde apikal hücre zarında kuvvetli immünreaktivite (★) görülüyor. LP: Lamina propriya →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



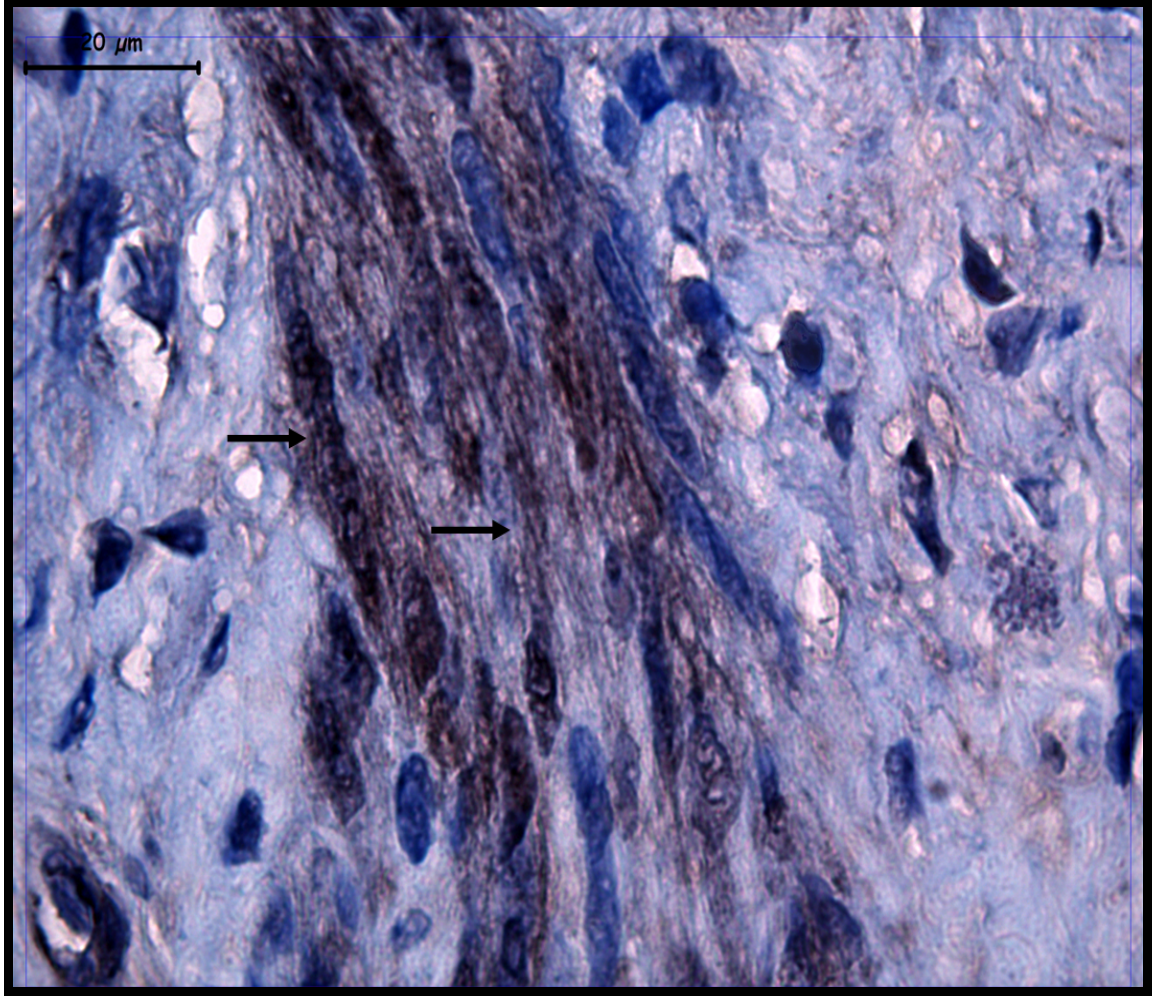
Resim 28: HSP 70 boyaması yapılan, SOD uygulanan 30. dakikada dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (EP) orta dereceli sitoplazmik tutulum, silyalardaki (★) tutulum ile birlikte görülüyor LP: Lamina propriya (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



Resim 29: HSP 70 boyaması yapılan, SOD uygulanan ve 24 saat sonra dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (EP) orta dereceli sitoplazmik tutulum (★) görülüyor. LP: Lamina propriya, →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 400).



Resim 30: HSP 70 boyaması yapılan, SOD uygulanan ve 24 saat sonra dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; epiteldeki (EP) sitoplazmik tutulum; LP: Lamina propriya, →: Kas dokusu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).



Resim 31: HSP 70 boyaması yapılan, SOD uygulanan ve 24 saat sonra dokuları alınan gruba ait tuba uterina dokusunda; kas dokusundaki (→) kuvvetli immünreaktivite dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X 1000).

5. TARTIŞMA

Hipertermi, tüm vücut sistemleri ve organlar üzerinde değişikliklere neden olabilmektedir. Hiperterminin santral sinir sistemini etkileyerek öğrenme süreci ve bellek ile ilgili bazı yitimlere yol açabildiği gösterilmiştir.¹⁴⁹

Hipertermi sürecinde hücrelerdeki planlı ölüm oranında artış olduğu, tedaviye başlama zamanının ve hipertermide kalış süresinin bu durumu etkilediği bildirilmiştir.^{150,151}

Hiperterminin apoptozisi artırdığı ve hipertermi süresince bu olayın artarak sürdüğü belirlenmiştir.¹⁵⁰

Son çalışmalar iskemiye izleyerek görülen hücre ölümünün ısıya bağımlı olarak artış ya da azalış gösterebileceğini ortaya koymaktadır.¹⁵¹

Hiperterminin aynı zamanda genital sistem üzerine de olumsuz etkileri bulunmaktadır.

Tuba uterinaller döllenmenin gerçekleştiği yerlerdir ve ısıya karşı çok duyarlıdır.

Kaynaklarda hiperterminin genital sistem üzerine olan etkileri ve bunun sonuçları ile ilgili çalışmalar bulunmasına karşın, hiperterminin doğrudan tuba uterinaller üzerine olan etkileri ve bu etkilerin önlenmesine yönelik yapısal araştırmalar saptanmamıştır.

Araştırmalarda domuz ve tavşan tuba uterinalarında spermiyumların biriktikleri bölgeler ile döllenmenin olduğu yerler arasında küçük ısı farklılıklarının bulunduğu bildirilmiştir.

Bahat ve arkadaşları ovulasyona bağlı olan bu sıcaklık farkının zaman bağımlılığını ortaya koymak için yaptıkları çalışmada ısı farklılığının bu bölgelerden birindeki sıcaklık yükselmesiyle ya da diğer bölgedeki ısı yitimiyle mi oluştuğunu araştırmışlar. Spermiyumların biriktiği bölgelerdeki (utero-tubal kavşak yakınındaki istmus bölgesi) ve döllenme yerindeki sıcaklıklar, ovulasyon öncesi, sırası ve sonrasında ölçülmüştür. Ovulasyon öncesi, döllenme ve spermiyum birikim bölgeleri arasındaki ısı farkı 0.8 ± 0.2 °C olmuştur. Bu fark ovulasyon sırasında yükselmiş ve ovulasyon sonrası 1.6 ± 0.1 °C' ye ulaşmıştır. Sıcaklık farkı ovulasyon sırasında spermiyum birikimi bölgesindeki ısı azalmasıyla artmıştır. Bu sıcaklık farkının zamana bağımlı olduğu bulunmuştur. Soğuk bölgeden sıcak bölgeye doğru spermiyum termotaksisinin in vivo ve in vitro fertilizasyon için doğal spermiyum seçme mekanizması olduğu düşünülmüştür.¹⁵¹

Hunter ve Nichol spermiyumların birikim evresinde ovulasyon öncesi domuz tuba uterinasının istmus ve ampulla bölgeleri arasındaki sıcaklık gradiyentini incelemişlerdir. 20 deneğin her birinin tuba uterinasının proksimal ampulla bölgesiyle distal istmus bölgesi arasında küçük ancak yoğun sıcaklık farkı olduğu saptanmıştır. Bunlardan eşleşmemiş olan 10 tanesinde istmus ampullaya karşın 0.43 °C soğuk bulunmuştur. Eşleşmiş 10 denekde ise istmus 0.69 °C soğuk olmuştur. Yeni ovüle olmuş 12 denekde ise istmus bölgesi ampullaya karşın sadece 0.1 °C soğuk bulunmuştur. Araştırmacılar ovulasyon öncesi izlenen sıcaklık farkının tuba uterina kan ve lenf damarının dağılımı ve aktiviteleriyle ilişki olabileceğini düşünmüşlerdir.¹⁵²

Ozawa ve arkadaşları ısı stresine etkin kalmış farelerin 2 hücreli embriyonlarında Cdc 2 aktivitesini ve tuba uterinanın redoks durumunu araştırmışlardır. Tuba uterina ve zigotlar önce 35 °C ısı stresine etkin bırakılmış, daha sonra 12 saat süreyle %60 nisbi nem uygulanmıştır. Kontrol grubunda iki blastomerli evreden morula evresine geçiş yüksek oranda bulunmuştur. Isı stresine etkin bırakılan grup ise iki hücreli evre aşamasını geçememiştir. Isı stresine etkin kalmış deneklerde hidrojen-peroksit düzeyi artmıştır. Araştırmacılar, maternal ısı stresinin tuba uterinalarda oksidatif stresi geliştirdiğini ve maternal ısı stresine etkin kalmış embriyonlarda gelişimle ilgili yetenek yitiminin 2 hücreli evrede Cdc 2 aktivitesinde olan bozuklukla ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Isı stresinin tuba uterinalarda oksidatif stresi tetiklemesi, uygulama yapılan deneklerde embriyon ölümlerinin nedenini de açıklamaktadır.¹⁵³

Matsuzuka ve arkadaşları ısı stresine etkin kalmış farelerde tuba uterinadaki redoks durumuyla erken embriyonik ölüm arasındaki bağlantıyı araştırmışlar. İlk deneyde gebe olmayan fareler 35 °C sıcaklıkta ve %60 nisbi nemde 12, 24, ve 36 saat süresince ısıya etkin bırakılmışlar ve maternal redoks durumu tuba uterinada reaktif oksijen türleri (ROS), serbest radikal temizleyici aktivitesi (FRSA) ölçülerek doğrulanmıştır. 2. deneyde zigotlar döllenme gününde 12 saat ısıya etkin bırakılmış farelerden alınmış ve gelişimle ilgili yetenekleri 2 hücre aşamasında DNA hasar yoğunluğuyla birlikte değerlendirilmiştir. Tuba uterinadaki ROS düzeyi ısı stresine etkin kalmış farelerde önemli ölçüde artmıştır ve bu artış ısı stresinin süresine bağlı bulunmuştur. Maternal ısı stresi morula evresine değin gelişmiş zigot sayılarını, blastosist ve blastosistlerin toplam hücre sayısını çok azaltmıştır. Maternal ısıya etkin kalmış 2 hücre aşamasında olan embriyonlarda DNA hasarı önemli derecede yüksek bulunmuştur. Isı stresinin fare tuba uterinasında ROS üretimini geliştirdiği ve redoks durumuyla oksidasyonun yer değiştirdiği görülmüştür. Aynı zamanda ısı stresi erken embriyonik ölümlere neden olmuş ve 2 hücre

aşamasında DNA hasarını artırarak blastosistin toplam hücre sayısını azaltmıştır. Bu bulgulardan araştırmacılar, ısı stresinin ısıya etkin kalmış deneklerde oksidatif stresin oluşmasına aracılık ederek erken embriyonik ölümlere neden olduğunu ve yüksek ısının sağlığa doğrudan zararlı etkileri olduğunu saptamışlardır.¹⁵⁴

Ryan keçilerde yaptığı bir çalışmada kontrol grubuna (38°C) karşın yüksek ısının (43 °C) kısa süreli uygulanmasının embriyo gelişimini uyardığını bildirmiştir. Bu sonuçlardan araştırmacı kısa süreli (10-30 dak) yüksek sıcaklığa (40 °C ve üzeri) etkin kalmanın alçak sıcaklıkta kronik strese karşın daha az zararlı olduğu sonucuna varmıştır.¹⁵⁷

Ozawa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada maternal ısı stresine etkin kalan embriyonlarda hücre içi oksidatif stresin, hidrojen-peroksit düzeyinin arttığını, GSH düzeyinin azaldığını ve ısı stresinde tuba uterinada ROS üretiminin arttığını belirlemişlerdir.^{154,157,158}

Jousan ve Hansen yaptıkları bir çalışmada inek embriyonlarında 41 °C sıcaklıkta 16 blastomerli evrede apoptotik hücre sayısında artım, toplam hücre sayısında ise azalma olduğunu bildirmişlerdir.¹⁵⁹

Oosit ve implantasyon öncesi embriyonlar sıcaklığa karşı çok duyarlıdır. Edward ve Hansen yaptıkları bir çalışmada 2 hücreli ve 4-8 hücreli evrede olan embriyonların 12 saat süreyle 41°C sıcaklığa etkin kalmaları durumunda blastosist sayısının azaldığı belirlenmiştir. Aynı sıcaklığa etkin kalmış morula evresindeki embriyonlarda ise aynı sonuç saptanmamıştır.¹⁶⁰

Yoshikawa tavşanlarda antitümöral olarak uygulanmış hipertermide ROS'un etkisini araştırmıştır. Tavşanlardaki tümör gelişimi

hipertermiyle tedavi edilmiştir. Hipertermi sonrası ROS'un yarattığı lipid peroksidasyonu artmıştır. ROS üretimini baskılamak için ROS temizleyicileri olan SOD ve CAT kullanılmıştır. Bu antioksidanlar ROS üretimini önemli ölçüde azaltmışlardır. ¹⁶¹

Bilodeau ve Tasic yaptıkları çalışmada tuba uterinada bulunan ROS' un spermiyum işlevlerine zararlı ve yararlı etkilerini araştırmışlardır. Sığırlarda hidrojen-peroksid in vitro ortamda spermiyum hareketliliğini engellemiştir. ^{161,163}

Mammoto ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise ROS' un farelerde spermiyum-oosit penetrasyonunu azalttığı ve spermiyum-yumurta kaynaşmasını bloke ettiği bildirilmiştir. ¹⁶⁴

Aitken ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ROS' un düşük düzeylerinin spermiyumların zona pellusidaya bağlanmasına kolaylık sağladığını ve bunun antioksidanlar tarafından baskılandığını gözlemlemişlerdir. ¹⁶⁵

Lapointe ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada inek tuba uterinasında östrus döngüsü süresince temel antioksidanlar olan glutatin-peroksidaz (GPx), superoksid-dismutaz (Cu,ZnSOD) ve katalaz'ın mRNA ekspresyonu ve enzimatik aktiviteleri incelenmiştir. İstmusda yüksek düzeyde GPx-3, ampulla ve infundibulumda ise GPx-1 ve GPX-2 ekspresse olmuştur. Katalaz, Cu,ZnSOD mRNA'ları tuba uterina boyunca tutulmuştur. GPx ve katalaz östrus döngüsünün ortasında (10-12.gün) ve sonunda (18-20.gün) yüksek düzeyde ekspresse olunmuşlardır. SOD ekspresyonu ise tuba uterinada tüm östrus döngüsü süresince sabit kalmıştır. Başarılı bir döllenme ve implantasyonda bu antioksidanların fizyolojik rollerinin önemli olduğu vurgulanmıştır. ¹⁶⁶

Bizim çalışmamızda da hipertermiye etkin bırakılan deneklerde, superoksit dismutazın olası koruyucu etkilerinin apoptotik sürece etkisinin olup olmadığını belirlemek ereğiyle yapılan Kaspaz boyamalarında, özellikle hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+Katalaz+SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta caspase 3 immünreaktivitesinin diğer gruplara karşın çok olduğu görülmüştür. İmmünreaktivitenin apikal hücre zarında ve kuvvetli olduğu belirlenmiştir. Kas hücrelerinde de orta dereceli kaspaz 3 tutulumu dikkati çekmiştir. Kontrol grubu ve hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+Katalaz+SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alındığı gruptaki tutulumların ise birbirine eşdeğer olması ilgiyi çekmiştir. Her iki grupta da immünreaktivitenin özellikle epitel hücrelerinin apikalinde ve silyalarda belirgin olduğu saptanmıştır.

Kaspaz 8 tutulumunun tüm gruplarda zayıf olmasına karşın, Kaspaz 9 immünoreaktivitesinin daha belirgin olduğu saptanmıştır. Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+Katalaz+SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta; kaspaz 9 immünoreaktivitesinin tüm epitel hücrelerinde yaygın olduğu, ancak apikal hücre zarı ve apikal sitoplazmada daha da yoğun tutulduğu ilgiyi çekmiştir. Düz kas ve bağ dokusu hücrelerinde de orta dereceli kaspaz 9 tutulumu ayırt edilmiştir.

Büyükbaş hayvanlarda tuba uterina proteinleri olan HSP 60 ve GRP 78'in spermiyumları bağladığı bilinmektedir. Katerina Laşanse ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bunun insan sperminin döllenme yeteneğini kazanmasıyla ilgisinin olup olmadığı araştırılmıştır. İnsan spermiyumu kapasitasyon koşullarında rekombinat HSP 60 ve GRP 78'in varlığında ya da yokluğunda inkübe edilmiştir. 4. inkübasyonda bu proteinlerin spermiyum akrozomal bütünlüğüne, hareketliliğine, protein fosforizin içeriğine ve serbest hücre içi potasyum yoğunluğuna etkileri

değerlendirilmiştir. Her iki şaperon uterus ve tuba uterina'nın epitel hücrelerinde saptanmış ve spermiyumu bağladıkları da gösterilmiştir. Ekzojen HSP 60 ve GRP 78 ile inkübasyon ise spermiyumun yaşama yeteneğini, hareketliliğini ya da akrozomal bütünlüğünü etkilememiştir. Her iki şaperon, spermiyum hücre içi potasyum yoğunluğunu önemli derecede artırmıştır. Bu bulgular doğrultusunda, bu iki proteinin insan spermiyumunun hücre içi sinyal yolunda ve kapasitasyonunda etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.¹⁶⁷

J. Wollenhaupt ve S. Dieterle, klamidyası ve tubal oklüzyonlu salfinjiti olan hastalarda sıcaklık proteinleri olan HSP 60 ve HSP 70'e karşı oluşan humoral immun yanıtı araştırmışlardır. Klamidyalı tubal oklüzyonu ve kronik salfinjiti olan kadınlarda tubal oklüzyonsuz infertil kadınlara karşın HSP60 ve HSP 70'e karşı oluşan serum İgA antikorlarının varlığının daha yüksek olmuştur. HSP'lere karşı oluşan bu antikorların varlığı kronik salfinjit ya da tubal oklüzyonun patogeneziyle ilgili olan immun yanıtı etkileyebildiğini belirtmişlerdir.¹⁶⁸

R.E.Lloyd ve arkadaşları koyun tuba uterinasının hangi bileşenlerle koç spermiyumunun yaşam yeteneklerini artırdığını araştırmışlardır. Tuba uterina proteinlerinden olan HSP 70 kDa protein 8 (HSPA8) koç spermiyumlarının kalıntısına eklenmiştir. Koinkubasyon süresince bu proteinin koç spermiyumlarının yaşam yeteneklerine doza bağımlı yararlı etkileri olmuştur. FA-s APM' in yüksek, orta ve düşük yoğunlukları spermiyum yaşam yeteneklerini proteinsiz ortama karşın daha iyi sürdürmüştür. HSPA 8 'le koinkübe edilen spermiyumların yaşam yetenekleri proteinsiz ortama karşın yüksek olmuştur. Bunun aksine HSPA 8 antikoruyla tedavi, apikal plazma membran proteinlerinin (APM) koç spermiyumunun yaşam yeteneğini sürdürmek gücünü önemli derecede azaltmıştır. sAPM yoğunluğunun artması spermiyum yeteneğine daha yararlı etki göstermiştir. Bu bulgular HSPA 8' in koyun tuba uterinasının

koç spermiyumlarının yaşam yeteneklerini sürdüren aktif bileşeni olduğunu kanıtlamıştır. ¹⁶⁹

Anu K. Pekki yaptığı çalışmada tavuk tuba uterinasında progesteron reseptörünün ve HSP 90' nın yerleşimlerini araştırmıştır. Progesteron, epitel hücrelerin çekirdeğinde serbest olarak yerleşmiştir. HSP 90, içerisinde küçük kesecikler olan agregatlar gibi sitoplazmada birikmiştir. Hücrenin apikal sitoplazmasında bu protein Golgi kompleksinde belirlenmiştir. ¹⁷⁰

Boilard ve arkadaşları tuba uterininin epitel hücrelerinde GRP 78 ve HSP 60 proteinlerinin yerleşimini ve bu proteinlerin spermiyumlarla olan ilişkisini araştırmışlar. Spermiyumların tuba uterinada dölleninceye değin canlılıklarını korumalarında rolü olan tuba uterina etkenlerini saptamak için spermiyumları tuba uterininin epitel hücrelerinden izole etmiş ve apikal membranlarıyla birlikte 30 dak süreyle preinkübe etmişlerdir. Bunu izleyerek apikal membran yokluğunda da 12 saat süreyle inkübasyon uygulanmıştır. Spermiyum yaşama yeteneği, hareketliliği ve akrozomal membran bütünlüğü preinkübasyonda apikal membran yokluğunda inkübe edilmişlere karşın artmıştır. Preinkübasyonda kullanılan tuba uterina etkenleri, GRP 78 ve HSP60 sperm hücrelerine sıkıca bağlanarak pozitif etki göstermiştir. Sonuç olarak araştırmacılar bu proteinlerin tuba uterininin epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde yerleştiğini ve spermiyumlara bağlanarak onların canlılığını korumalarına yardım ettiğini kanıtlamışlardır. ¹⁷¹

Makareviç ve arkadaşları in vitro ortamda implantasyon öncesi tavşan embriyonlarını kısa süreli-6 saat 41.5-42.5 °C sıcaklığa etkin bırakarak bunun etkisini araştırmışlardır. Zigotlar tuba uterinden pronüklear evrede (19 hpc) alınmış, standart sıcaklıkta (37.5°C) kültüre edilmiş ve morula evresine (72 hpc) değin bekletilmiştir. Bunu izleyerek

embriyonlar 2 gruba ayrılmış, hipertermik (41.5 ya da 42.5 °C) ya da standart sıcaklıkta (37.5 °C) her biri 6 saat kültüre edilmiş, tüm gece (16-20 saat) 37.5 °C sıcaklıkta inkübe edilmiş ve daha sonraki gelişim evreleri için değerlendirilmiştir. Apoptozis, proliferasyon ve HSP 70' in varlığına bakılmıştır. 41.5 °C sıcaklıkta hipertermi embriyo gelişimini önemli ölçüde etkilememiştir. 41 °C sıcaklığa etkin kalmış granüloza hücrelerinde ve 41.5 °C ısıya uğramış embriyonlarda HSP 70 saptanmıştır. Sıcaklığın 42.5 °C 'a yükseltilmesi embriyo gelişimini büyük bir tehlikeye atmıştır. Embriyolar morula ya da erken blastosist evresinde duraksamışlar, kontrol grubuna karşın apoptozis oranında artım ve toplam hücre sayısında azalma görülmüştür. Bu grupta HSP 70 belirlenmemiştir. Bu değin yüksek ısının embriyolara olan etkisi büyük olasılıkla onların HSP 70 sentezleme yeteneklerindeki kayıpla ilintili bulunmuştur. Bu da hücre iskelet değişikliğine ve apoptozisin gelişimine neden olmuştur.¹⁷²

M.L. Mariani ve arkadaşları yeni doğan gelişim, östrus döngüsü ve erken gebelik zamanı fare tuba uterinasında immünohistokimyasal yöntemlerle HSP 25, HSP 70 ve östrojen reseptörü α 'nın ekspresyonunu araştırmışlardır. Erken gelişim sırasında her iki HSP tuba uterina hücreleri farklılaştığı zaman ekspresse olmuştur. Erişkin tuba uterinasında HSP 70, HSP 25'den daha fazla ifade olunmuştur. Diöstrus zamanı epitel hücrelerinde HSP 70'in ekspresyonu en yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda HSP 70'in infundibulum ve ampulla bölgesindeki hormonal değişikliklere daha çok yanıt verdiği belirlenmiştir. Mezotel hücrelerinde güçlü bir şekilde HSP 70 immünoboyanması görülmüştür. Bu proteinin immünboyanması yetişkin tuba uterinasında yaygın bulunmuştur. Diöstrusda ampulla ve infundibulumda HSP 70 pozitif hücre oranında önemli artış saptanmamıştır. Stroma ve kas hücrelerinde HSP 70 için zayıf pozitiflik izlenmiştir. Gebelik zamanı ise tüm işlevsel bölgelerde immün reaktivite gözlemlenmiştir. Gebe farenin tuba uterinasında HSP 70 pozitif hücre oranı gebe olmayanlara karşın çok

bulunmuştur. Bu bulgulardan HSP 70'in östrus döngüsüyle düzenlenen tuba uterina proteini olduğu, bu proteinin östrus döngüsünün özgün evreleri için protein belirteci olduğu ve büyük olasılıkla gebelikle ilgili hormonlar tarafından düzenlendiği sonucuna varılmıştır.¹⁷³

M.L.Mariani ve arkadaşları tarafından erişkin farelerde depresif bozukluklar oluşturmak için kronik stres uygulayarak bunun tuba uterinada HSP 70 ve östrojen reseptörü α ekspresyonunda değişikliklere neden olup olmayacağı immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Kronik stres oluşturmak için farelere 10 dakika süreyle 45 °C sıcaklık uygulanmıştır. Kontrol sıçanlarda HSP 70 istmus ve ampulla bölgesinin epitel hücrelerinde belirlenmiştir. Kontrol farelerin istmusunda HSP 70 epitel hücrelerinin sitoplazmasında daha çok eksprese olunmuştur. Stres uygulanmış erişkin farelerde ise östrus zamanı HSP 70 ekspresyonu yüksek bulunmuştur. Ancak yeni doğan gelişim sürecinde stres altında yetişkinliğe erişmiş deneklerde önemli değişiklikler görülmemiştir. Yeni doğan stresi, erişkin farelerde ya da stressiz koşullarda çiftleşmiş farelerde fertilitiyi etkilememiştir. Bu bulgulara göre araştırmacılar yeni doğanda uygulanan kronik stressin erişkinlikte kronik stresin neden olduğu östrus döngüsü bozukluğunu azalttığını ve yeni doğan stresli deneklerin seksüel başarımının kontrol hayvanlara karşın daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır.¹⁷³

Malayer ve arkadaşları, Brahman ve Holstein ineklerinden alınıp kültüre edilmiş endometriyum ve tuba uterinalarda protein sentezi ve salgılama farklılıkları ve bu dokuların in vitro ısı stresine olan tepkilerini incelemişler. Her iki cinste 43°C ısıyla inkübasyonda kontralateral bölgelerden alınmış tuba uterinalardan salgılanan makromoleküllerin çözülmesinde artım olmuştur. Brahman ineklerinde her iki tuba uterinalarda sıcaklığın 43 °C olması zardan geçemeyen 3H etiketli makromoleküllerin salgılanmasını artırmıştır. Holstein ineklerinde ise

ovulasyonun gerçekleşmesiyle tuba uterinada ısı yükselmesi olmuş ve salgılama durmuştur. Melez ineklerden alınan dokularda zardan geçemeyen makromoleküllerin salgılanması bölge ve sıcaklık etkileşimi göstermişlerdir. Kontralateral bölgeden alınmış dokuda sıcaklığa tepki olarak salgılama artmıştır. Aynı taraftan alınmış dokularsa sıcaklık artımından etkilenmemişlerdir. Sıcaklık uygulandıktan 2.5 saat sonra her iki cins ve melez ineklerde HSP 70 ekspresse olunmuştur. Kontrol grubunda ise bu protein ifade olunmamıştır. Isıya etkin kalmış dokularda 3-3.5 saat sonra HSP 70 miktarı artmıştır. Ancak sıcaklık uygulamasından 24 saat sonra alınmış dokularda HSP 70 ekspresyonu azalmıştır. Araştırmacılar bunu dokuların süre geçtikçe sıcaklığa alışmalarıyla açıklamışlar.¹⁷⁴

Mirkers ve Doggett HSP 72'nin sıcaklığın neden olduğu embriyotoksisite için potansiyel belirteç olduğunu bildirmişlerdir. 41 °C, 42 °C (15 dak) ve 43 °C (2.5 dak) sıcaklığa etkin kalmış embriyolarda HSP 72 belirlenmiştir. Ancak bu protein embriyonlar 40 °C ve aşağı sıcaklıklara etkin kaldıklarında izlenmemiştir. Embriyonlar hipertermik koşullardan alındıktan 24-48 saat sonra ise HSP72 saptanmıştır.¹⁷⁵

Yueh-Tsu King ve arkadaşları hipertermiye etkin kalmış farelerde HSP 70 ve antioksidan enzim aktivitesini incelemişlerdir. Öldürücü olmayan sıcaklık uygulanmış (30 dak. 41 °C) farelerde HSP 70 sentezlenmiştir. Kontrol grubuna karşın HSP 70 düzeyi oldukça artmıştır. 30 dakikalık hipertermiden 48 saat sonra HSP 70 salgılanması %88.2 oranında yükselmiştir. 15 dak sıcaklığa etkin bırakılmış hayvanlarda bu oran %72.2 , 45 dakika etkin kalan farelerde ise kontrol grubundan hiç bir farkı olmayan %63.5 olmuştur. 48 saat sonra hayvanlarda hepatik antioksidan enzim aktiviteleri – SOD, Katalaz, GPx düzeyleri önemli ölçüde değişmemiştir. Bu bulgular doğrultusunda araştırmacılar

hayvanların yüksek ısıya karşı direnmelerine HSP 70'in antioksidanlardan daha çok yardımcı olduğunu belirtmişlerdir. ¹⁷⁶

Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda yapılan HSP 70 immünboyamalarında, epitel hücrelerinde sitoplazmik düzeyde ve zayıf dereceli HSP 70 immünreaktivitesi görülmüştür. Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+Katalaz+SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı grupta ise tutulumun epitel hücrelerinde bazı bölgelerde apikal hücre zarında kuvvetli olduğu izlenmiştir. Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+Katalaz+SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alındığı grupta; HSP 70 immünreaktivitesinin doku genelinde hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alındığı gruba benzer olduğu görülmüştür. Ancak bazı kas hücrelerinde zayıf immünreaktivite belirlenirken, bazılarında son derece kuvvetli HSP 70 immünreaktivitesi dikkati çekmiştir.

6. SONUÇ

Hipertermi uygulamasında SOD' un strese koşut etkisinin değerlendirilmesi amacıyla, başlatıcı kaspazlardan Kaspaz 8 ve 9 ile ilerletici kaspazlardan Kaspaz 3 proteinlerinin tutulumu incelendiğinde; Kaspaz 9 reaktivitesinin doku genelinde daha özgün olduğu saptandı. İmmünoreaktivitenin özellikle silli hücrelerde apikal hücre zarı, apikal sitoplazma ve silyalar düzeyinde olduğu görüldü. Hipertermi uygulamasına koşut olarak kas tabakasında da tutulum arttığı gözlemlendi. Kaspaz 9 tutulumunun belirginliği, hiperterminin dış yolak üzerinden apoptozisi uyarmış olabileceği kanısını uyandırdı. Ancak Kaspaz 3 tutulumunun hipertermi ile çok belirgin artmadığı, dolayısıyla hiperterminin ileri apoptozise neden olmadığı düşünöldü. Tüm kaspazlar için SOD uygulamasının süreye koşut tutulumu azalttığı gözlemlendi.

HSP 70 tutulumunun ise doku genelinde hem epitel hem kas tabakasında olduğu, SOD uygulaması ile tutulumun süreye koşut arttığı belirlendi. Bu bulgu, HSP 70'in koruyucu özellik sergilediğinin bir göstergesi olarak kabul edildi.

Sonuç olarak apoptotik programın merkezi bileşenleri olan kaspazların aktivasyonu ile, hiperterminin özellikle epitel hücrelerinde dış yoldan apoptozisi başlattığı yargısına varıldı. Yer yer salgı yapan hücrelerin de etkilenmesine koşut olarak ovarian siklusun bozulmuş olabileceği düşünöldü. Doku genelinde oluşan apoptozisin dış yoldan geręekleřmiř olabileceği yargısına varıldı. Ancak SOD uygulamasının süreye koşut apoptozisi baskıladığı, bunun da artan HSP 70'in koruyucu etkisi aracılığıyla geręekleřmiř olabileceği sonucuna varıldı.

7. ÖZET

Hipertermi vücut sıcaklığının anormal derecede yükselmesi olarak tanımlanır. Vücut sıcaklığı 41°C ya da daha üst bir değere yükseldiğinde ortaya çıkar ve ısı denetim düzeneklerinin bozulmasına yol açabilir. Hipertermi birçok dokuda hasara neden olmaktadır. Tuba uterinada sıcaklığın artması silli hücrelerin apoptozisine, epitel hücrelerinde oksidatif stres gelişimine, erken embriyonik ölümlere neden olur. Süperoksit dismutaz (SOD) ise serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırarak, oksidatif stresi engelleyebilen ve apoptotik süreci geri döndürebileceği düşünülen antioksidan bir maddedir.

Bu çalışmada; hipertermi ile oluşturulan ısı stresinin ve stres öncesinde kullanılan süperoksit dismutazın, tuba uterina üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkilerinin apoptotik ve oksidatif stres belirteçleri kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada kullanılan 18 adet Wistar-albino cinsi dişi sıçan, her grupta 6 denek olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu olarak belirlenen birinci gruptaki deneklerin tuba uterinaları, sıcaklığı 22 °C'ye ayarlanmış havuzda 20 dakika süre ile tutulmuş ve 24 saat sonra kesilerek tuba uterina dokuları alınmıştır. İkinci ve üçüncü gruptaki denekler ise; hiperterminin oluşturulması amacıyla, sıcaklığı 42 °C' ye ayarlanmış havuzda 20 dakika bekletildikten sonra sırasıyla 30.dakika ve 24.saatte tuba uterina dokuları alınmıştır. Hipertermi uygulaması yapılan gruplara, uygulamadan 1 saat önce NaCl+Katalaz+SOD enjeksiyonu yapılmıştır. Alınan dokular alışılagelmiş ışık mikroskop izleme yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar oluşturulmuştur. Hiperterminin neden olduğu apoptozise, sitozolik bir antioksidan olan süperoksit dismutazın (SOD) koruyucu ve tedavi edici etkilerinin belirlenebilmesi ereğiyle Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9 ve HSP 70 primer antikorları kullanılarak indirekt

immünohistokimyasal yöntemler uygulanmıştır. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirilerek fotoğraflanmıştır.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda; başlatıcı kaspazlardan Kaspaz 8 ve 9 ile ilerletici kaspazlardan Kaspaz 3 proteinlerinin tutulumu incelendiğinde, Kaspaz 9 tutulumunun daha belirgin olduğu saptanmıştır. İmmünoreaktivitenin özellikle epitelde, hücre sitoplazmasında ve silyalarda hipertermi uygulamasına koşut arttığı izlenmiştir. Kaspaz 3 tutulumunun hipertermi ile çok belirgin artmadığı gözlenmiştir. Tüm kaspazlar için SOD uygulamasının süreye koşut tutulumu azalttığı gözlenmiştir. HSP 70 tutulumunun genelde epitel hücrelerinde sitoplazmik düzeyde ve orta dereceli olduğu, SOD uygulaması ile tutulumun süreye koşut arttığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak apoptotik programın merkezi bileşenleri olan kaspazların aktivasyonu ile, hiperterminin özellikle epitel hücrelerinde dış yoldan apoptozisi başlattığı yargısına varılmıştır. Yer yer salgı yapan hücrelerin de etkilenmesine koşut olarak ovarian siklusun bozulmuş olabileceği düşünülmüştür. Doku genelinde oluşan apoptozisin dış yoldan gerçekleşmiş olabileceği yargısına varılmıştır. Ancak SOD uygulamasının süreye koşut apoptozisi baskıladığı, bunun da artan HSP 70'in koruyucu etkisi aracılığıyla gerçekleşmiş olabileceği sonucuna varılmıştır.

8. SUMMARY

Hyperthermia is defined as the rise of body temperature abnormal. When body temperature rises to a 41 °C or higher value occurs and may lead to impairment of temperature regulation mechanisms. Hyperthermia is caused by damage to various tissues. The increase of temperature in fallopian tube caused apoptosis of ciliated cells, oxidative stress in the development of epithelial cells and early embryonic death. Superoxide dismutase (SOD) however eliminating the oxygen free radicals, which can prevent oxidative stress and apoptotic process could return is considered an antioxidant substances.

In this study; was used to determine stress-induced hyperthermia of heat stress and used before the superoxide dismutase, protective and therapeutic effects on the fallopian tube of the apoptotic and oxidative stress markers.

18 Wistar albino rats which is used in this study divided in three groups. Each group contains 6 rats. Rats fallopian tubes in first group (control group) were water bathed at 22 °C. After 24 hours fallopian tubes of same rats were cut and tissues were taken away. Rats in second and third group are exposed to 42 °C for 20 minutes and in turn at 30. min and 24. hours fallopian tube tissues also taken away. First group had been injected NaCl+SOD+Katalaz before hypertermia. Tissues which were obtained, compose paraffin blocks which were created by passing methods of light microscopy methods. Hyperthermia which caused apoptosis, was performed using indirect immunohistochemical methods by cytosolic antioxidant with superoxide dismutase (SOD) a protective and therapeutic effects in determining target Caspase 3, Caspase 8, Caspase 9, and HSP 70 primary antibody. Sections being evaluated in the Leica

DM 4000 (Germany) computer-aided imaging system, with the Leica Q Vin 3 program, and photographed.

After assesment of activator caspase 8, 9, effector 3, we detected that caspase 9 ise more markedly. After the treatment of hyperthermia immunoreactivity specially increased in epithelium, cell cytoplasma and cilium. But increasing of caspase 3 expression was not evident in hyperthermia. Consequently we detected that SOD decrease caspase positive cells. We detected the weak expression of HSP 70 in epithelium cells and expression increased with SOD treatment.

As a result of the central components of apoptotic programs activation of caspases, hyperthermia, especially in epithelial cells from non-apoptotic pathway is initiated by the judiciary reached. Secretory cells in places in which to affect the ovarian cycle in parallel might have been corrupted. External pathways of apoptosis in tissue from which it has been tried may have occurred. But SOD suppresses apoptosis parallel to the application period, it also increased the protective effect of HSP 70 may have realized it was concluded through.

9. KAYNAKLAR

1. Tabak F. Ateş Patogenezi, Ateş Tipleri, Erişkinde Ateş Yönetimi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Ateşli Hastaya Yaklaşım. Sempozyum. 2006; 53: 27-36.
2. Sherwood L. Human Physiology. Fifth edition , Thomson brooks/cole, 2004. 660-662.
3. Vydra N, Malusecka E. et. al. Spermatocyte-specific Expression of Constitutively Active Heat Shock Factor 1 Induces HSP70 Resistant Apoptosis in Male Germ Cells. Cells Death and Differentiation. 2006; 13: 212-222.
4. Yaman K. Fizyoloji, 3.Baskı, VİPAŞ. A.Ş, Bursa,1999; 524-526.
5. Khadir A, Verreault J. et al. İnhibition of Antioxidants and Hyperthermia Enhance Bleomycik- İnduce Cytotoxicity and Lipid Peroxidation in Chinese Hamster Ovary Cells. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1999; 370:(2)163-175.
6. Eddy EM. Role of Heat Shock Protein HSP 70-2 in Spermatogenesis. Reviews of Reproduction. 1999,4; 23-30.
7. Fiorenza MT, Mangia F. Hyperthermia Spesifically İnhibits Bivalent Chromosome Disjunction in Maturing Mouse Oocytes. Biology of Reproduction. 1992; 46: 658-664.
8. Sharma HS, Ali SF. Acute Administration of 3,4- Methylene-di oxymethamphetamine İnduces Profound Hyperthermia, Blood-Brain Barrier Disruption, Brain Edema Formation, and Cell Injury An

Experimental Study in Rats and Mice Using Biochemical and Morphologic Approaches. Acad. Sci. 2008; 1139: 242-258.

9. IND, T., Female Repruductive System, Grays Anatomi, Standring, S., 39 th edition, Elsevier, Toronto, (2005).

10. Lee JF, Wang D, et al. Oxidative and Nitrosative Mediators in Hepatic Injury Caused by Whole Body Hyperthermia in Rats. J. Physiol. 2008; (3) 30:51 196.

11. Köse M, Tekeli T. İneklerde Sıcaklık Stresinin Döl Verimine Olumsuz Etkileri ve bu Etkileri Azaltmak için Uygulanan Bazı Yöntemler. Hayvancılık Araştırma Degisi, 2006; 16,1: 19-25.

12. Ranawat EM, et al. Decreased Glutathione Levels Potentiate the Apoptotic Efficacy of Selenium: Possible Involvement of P38 and JNK MAPKs-in vitro Studies. Mol Cell Biochem 2008; 309: 21-32.

13. Lue Y, Amiya P, et al. Testicular Heat Exposure Enhances the suppression of Spermatogenesis by Testosterone in Rats: The "Two-Hit" Approach to Male Contraceptive Development. Endocrinology. 2000; 141(4): 1414-1424.

14. Willmer P, Stone G, Johnston I. Environmental Physiology of Animals. 2. Baskı. UK: Blackwell Publishing. 2005; 112-170.

15. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji. Başaklar A. C (Çev), 9. Baskı. Ankara: Palme Yayınları; 2005.

16. Moore LK, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Çev) 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002.

17. Lin PC, Bhatnagar KP, Nettleton GS, Nakajima ST. Female Genital Anomalies Affecting Reproduction. *Fertility and Sterility*. 2002; 78 (5): 899-912.
18. Dueck A, Poenaru D, Jamieson MA, Kamal Ik. Unilateral Ovarian Agenesis and Fallopian Tube Maldescent. *Pediatr Surg* 2001; 17; 228-29.
19. Vydra N, Malusecka E, et al. Spermatocyte-specific Expression of Constitutively Active Heat Shock Factor 1 Induces HSP70 Resistant Apoptosis in Male Germ Cells. *Cells Death and Differentiation*. 2006; 13: 212-222.
20. Snell RS. *Clinical Embryology for Medical Students*, Second Edition, Little Brown and Company Boston/ Toronto. 1975; 215-222.
21. Fix JD, Dudek RW. *Embryology, Board Review Series*, USA. 1995; 172-174.
22. Coşgun A, Aras D. *Anatomi Histoloji Embriyoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, 1998; 288-290.
23. Haegel P. *Illustrated Human Embryology, Organogenesis*. 1972; 2: 30-95.
24. Konishi I. Development of Ciliated Cells in the Human Fetal Oviduct: An Ultrastructural Study, *the Anatomical Record*. 1987; 219: 60-68.
25. Pansky B. *Review of Medical Embryology*, Mc Millan Publishing Co. Inc. New York. 1982; 272-276.

26. Snell RS. Clinical Embryology for Medical Students, 3rd Ed. Little Brown and Company, Toronto. 1983; 219-221.
27. Gövsa Gökman F. Sistematik Anatomi, İzmir: İzmir Güven Kitabevi; 2003; 569-571.
28. Aktümsek A, Anatomi ve Fizyoloji (İnsan Biyolojisi) Ankara: Nobel Tıp Kitabevi; 2001; 446-448.
29. Metay Hacettepe Anatomi ve Histoloji Ders Notları, İzmir: Metay Medikal Yayıncılık; 1992;132-134.
30. Schumacher GH, Marur T. Repetitorium Anatomiefür Zahnmediziner (Çev) Anatomi, Nobel Tıp Kitabevleri; 2003; 336-337.
31. Ozan H. Anatomi, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004; 314-317.
32. Cumhur M. Temel Anatomi, Ankara: Metu Press Yayınları; 2001; 282-284.
33. Keith L, Moore LK. Clinically Oriented Anatomy (Çev) Kliniğe Yönelik Anatomi, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri; 2007; 383-385.
34. Wynsbergbe DV, Noback CR. Human Anatomy and Physiology, Third Edition; Mc Graw-Hill; 1995; 953-955.
35. Yıldırım M. İnsan Anatomisi, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri; 2006; 169-171.
36. Arıncı K, Ekhan A. Anatomi, 3. baskı, 1. cilt; Ankara; Güneş Yayınevi; 2001; 339-340.

37. Snell RS. Klinik Anatomi, 6.Baskı, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri; 2004; 329-331.
38. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006, 455-458.
39. Eroschenko VP. Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, (Çev) 9. Baskı, Palme Yayıncılık; Ankara. 2001; 309-313.
40. Junqueira CL, Carneiro J, Kelley OR. Basic Histology (Çev) Seventh Ed. Barış Kitabevi; İstanbul.1993; 517-548.
41. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, İlgaz C. Özel Histoloji. 2.Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 2007.
42. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology text&atlas, Eleventh Edition, USA. 2005; 442-444.
43. Ross MH, Pawlina W. Histology A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology, Fifth Edition; 2006; 788-790.
44. Gartner LP, Hiatt JL. Color Text Book, Second Edition, A Harcourt Health Sciences Company. 2001; 470-474.
45. Ovalle WK, Nahirney PC, et al. Netter's Essential Histology, (Çev) Güneş Tıp Kitabevleri; 2009; 409-412.
46. Fawcett DW. A textbook of histology, Twelfth Edition, Chapman&Hall, London: 1994; 831-834.

47. Evirgen O, Tekelioğlu M, et al. İnsan Tuba Uterina Ampulla ve Fimbriya Bölgeleri Mukoza Epitelinde Menstruel Siklus Süresince Meydana Gelen Ultrastrüktürel Değişiklikler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 1997; 50(4):181-185.
48. İnan VS, Vatansever HS, et al. İnsan Tuba Uterina Epitelinin Morfometrik ve Ultrastrüktürel Olarak Değerlendirilmesi. T Klin J Med Sci 2000; 20: 347-355.
49. Verhage HG, Bareither ML, Jaffe RC, Akbar M. Cyclic Changes in Ciliation, Secretion and Cell Height of the Oviductal Epithelium in Women. Am. J. Anat. 1979; 156: 505-12.
50. Jansen RDS. Cyclic Changes in the Human Fallopian Tube Isthmus and Their Functional Importance. Am J. Obstet Gynecol.1980; 136: 292-308.
51. Jock K. Findlay. Molecular Biology of the Female Reproductive System. 1994; 309.
52. Bjorkman N, Fredricsson B. Ultrastructural Features of the Human Oviduct Epithelium, İnt. J.Fertil; 1962; 7(3): 259-266.
53. Borell U, Nillsson O, Wersall J, Westman A. Electron Microscope Studies of the Epithelium of the Rabbit Fallopian Tube. Under Different Hormonal Influences, Acta. Obst. Et. Gynec. 1956; 35: 35-42.
54. Verhage HG, Bareither MI, Jaffe RC and Akbar M. Cyclic Changes in Ciliation Secretion and Cell Height of the Oviductal Epithelium in Women. Am. J. Anat. 1979; 156: 505-522.

55. Eroshenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası (Çev), 9.Baskıdan Çeviri. Ankara; Palme Yayıncılık; 2001; 301-320.
56. Honore LH. Pathology of the Fallopian Tube in: Haines and Taylor. Obstetrical and Gynaecological Pathology; Third Edition, Churchill Livingstone; 1987; 479-486.
57. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Demir R (Çev), 1. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006; 560-577.
58. Verhage HG, Fazleabas AT, Donnelly K. The in vitro Synthesis and Release of Proteins by the Human Oviduct. Endocrinology; 1988; 122: 1639-45.
59. Robert M. Berne. Physiology (Çev), 5.Baskı, İstanbul; Güneş Tıp Kitabevleri; 2008; 961-962.
60. Guyton CA, Hall EJ. Tıbbi Fizyoloji. (Çev) 11.Baskı, ABD, Elsevier Saunders. 2006; 1016-1018.
61. Guyton CA, Hall EJ. Tıbbi Fizyoloji. (Çev), 11.Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2007; 1027-1029.
62. Fox SI. Human Physiology. Eight edition. Mc. Graw.Hill; 2004; 666-668.
63. Yakar K. Fizyoloji. 5. Baskı. Ankara; Nobel Yayın Dağıtım; 2003; 244-247.
64. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 17.Baskı. Ankara;2008; 1127-1132.

65. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji (Çev) 16. Baskı; Adana; Barış Kitabevi;1995; 488-490
66. Noyan A, Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji, Meteksan Basım Yayım ve Dağıtım 10.Baskı, Ankara; 1998.
67. Koz M, Ersöz G, Gelir E, Fizyoloji ders kitabı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 2003.
68. Ünal M, Sıcak ve Soğuk Ortamda Egzersiz, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, İstanbul: 2002; 65: 4.
69. Ganong WF. Medical Physiology, Chapter 14, Çev; Doğu A, İstanbul: 1995.
70. Akgün N, Egzersiz fizyolojisi, Ege Üniversitesi Basım evi, 4.Baskı, 2.cilt, İzmir: 1993.
71. Günay M, Cicioğlu İ. Spor Fizyolojisi. 1. Baskı, Gazi Kitabevi, Ankara: 2001; 267-281.
72. Günay M, Cicioğlu İ, Kara E. Egzersize Metabolik ve Isı Adaptasyonu. Baran Ofset Baskı Gazi Kitabevi, Ankara: 2006; 93-113.
73. Lennon DLF, Strathan FV. et al. Effects of Acute Moderate Intensity Exercise on Carnitine Metabolism in Males and Females, Journal Applied Physiology, 1983; 55: 789-795.
74. Fox, Bowers, Foss. Beden Eğitimi ve Sporun Fizyolojik Temelleri, (Çev) Bağırhan Yayımevi, Ankara: 1999; 381-386

75. Yıldız A, Arzuman P Sıcak Ortamda Egzersiz. İstanbul Tıp Fakültesi , 2007.
76. Kazanis İ, Bazas E, et al. Neuroprotective Effects of Insuline Like Growth Factor I Following a Penetrating Brain Injury in Rats. Brain Research. 2003, 991; 34-45.
77. Gilbert ME, Cain DP, A Single Neonatal Pentylene-tetrazol or Hyperthermia Convulsion Increases Kindling Susceptibility in the Adult Rat. Brain Res, 1985; 354: 169-180.
78. De Rensis F, Scaramuzzi RJ, Heat Stress and Seasonal Effects on Reproduction in the Dairy Cow. Theriogenology, 2003; 60: 1139-51.
79. Roth Z, Mewaldan R, et al. Delayed Effects of Heat Stress on Steroid Production in Medium-size and Preovulatory Bovine Follicles. Reproduction, 2001; 121:745-51.
80. De Rensis F, Marconi D, et al. Fertility in Postpartum Dairy Cows in Winter or Summer Following Estrous Synchronization and Fixed Time A.I. After the Induction of an LH Surge With GnRH or HCG. Theriogenology, 2002, 58: 1675-87.
81. Gwazdauskas FC, Thatcher WW et al. Hormonal Pattern During Heat Stress Following PCF 2 α -tham Salt Induced Luteal Regression in Heifers. Theriogenology, 1981;16: 271-85.
82. Jeffrey J, Turner T, et al. Peptide and Nonpeptide Reactive Oxygen Scavengers Provide Rescue of the Testis After Torsion. Journal of Andrology, 2002; 23(3): 400-9.

83. Helliwell B, Guttridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. Second Edition. Oxford; Clarendon Press;1995.
84. Droge W, Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.* 2002; 82; 47-95.
85. Berlin JA, Colditz GA. A Meta-analysis of Physical Activity in the Prevention of Coronary Heart Disease. *Am J Epidemiol.* 1990;132: 612-28.
86. Özgöçmen S. Romatizmal Hastalıklarda Oksidatif Stresin Rolü. *Türk Fiz. Tıp Rehab. Derg;* 2007; 53(2): 33-5.
87. Kökoğlu E. Serbest Radikal Reaksiyonlar için Kanserdeki Rolü. *Klinik Gelişim;* 1998;11; 358-64.
88. Sen CK. Antioxidant and Redox Regulation of Cellular Signaling Introduction. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 2001; 33: 368-70.
89. Tamer L, Polat G, Eskandarı G, Ercan B. Serbest Radikaller. *MEÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2000; 1; 52-8.
90. Valentine JS, Wertz DI, Lyons TJ, Lion LI, Goto Jİ, Gralla EB. The Darkside of Dioxygen Biochemistry. *Curr Opin Chem Biol.* 1998; 2: 253-62.
91. Abdullahi M, Bahreini M, Oghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zarafariet K. Increasing Intracellular Camp and Cgmp In Hibits Cadmium Induced Oxidative Stress in Rat Submandibular Saliva. *Comp. Biochem. Physiol, C.* 2003; 135: 331-6.

92. Uysal M. Serbest Radikaller, Lipit Peroksidleri ve Organizmadaki Prooksidan-antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. Klinik Gelişim. 1998; 11; 336-41.
93. Armstrong N, Welsman J. Children in Sports and Exercise: Bioenergetics and Anaerobic Exercise. Br J Phys Educ. 1997; 28: 3-6.
94. Yalçın AS. Antioksidanlar. Klinik Gelişim; 1998; 11: 342-46.
95. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi; 2004; 15: 91-6.
96. Montgomery R, Dryer R, Conway T, Spector A. Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım. 6. Baskıdan Çeviri. Ankara; Palme Yayıncılık. 2000.
97. Powers SK, Ji LI, Leenuwenburgh C. Exercise Training-induced Alterations in Skeletal Muscle Antioxidant Capacity. Med Sci Sports Exerc. 1999; 31: 987-97.
98. Günay M, Tamer K, Cicioğlu İ. Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü, Gazi Kitabevi. Ankara; 2006.
99. Schlesinger MJ. Heat Shock Proteins. J.Biol Chem 1990; 265: 121-11.
100. Mosser BD, Caron AW. The Chaperone Function of HSP70 is Required for Protection Against Stress Induced Apoptosis. Mol Cell Biol. 2000; 20: 7146.
101. Georgopoulos C, Welch WI. Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones. Annu Rev Cell Biol. 1993; 9: 601-634.

102. Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoules C. The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperons. New York. Cold Spring Harbor. 1994; 23: 234.
103. Ellis RJ, Van Der Vies SM. Molecular Chaperones. Annu Rev Cell Biol. 1991; 60: 321-347.
104. Wu B, Hunt C, Morimoto RI. Structure and Expression of the Human Gene Encoding Major Heat Shock Protein HSP 70. Mol Cell Biol. 1985; 5: 330-341.
105. Ritossa F. A New Puffing Pattern Induced by Temperature Shock and DNP in Drosophila. Experientia; 1962; 17: 571-573.
106. Gerner EW and Schneider MJ. Induced Thermal Resistance in Hela Cells. Nature London; 1975; 256: 500-502.
107. Schlesinger ML, Ashburner M and Tissieres A. Heat Shock: From Bacteric to Man. New york; Cold Spring Harbor Laboratory Pres 1982; 13: 426-32.
108. Welch WJ. Mammalian Stress Response: Cell Physiology, Structure Function of Stress Proteins and Implications From Edicine and Disease. Physiol. Rev 1992; 72: 1063-1081.
109. Kappe G, Franck E, Verschunre P, Boelens WC. The Human Genome Encodes 10 alpha-crystallin-Related Heat Shock Proteins: Hsp B1-10. Cell Stres Chaperones; 2003; 8: 53-61.

110. Mariani ML, Sonto M, et al. Constitutive Expression in the Rat Oviduct During Neonatal Development, The Oestrous Cycle and Early Pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*; 2000;120: 217-223.
111. Mariani ML, Ciocca DR, et al. Effect of Neonatal Chronic Stress on Expression of HSP 70 and Oestrogen Receptor α in the Rat Oviduct During Development and the Oestrous Cycle. *Reproduction*; 2003;126: 801-808.
112. Sauk JJ. Stress Proteins in Development and Disease. *Oral Biology and Medicine*. 2010; 235-245.
113. Melody S, Clark-Keiron PP, et al. Antarctic Marine Molluscs do have an HSP 70 Heat Shock Response. *Cell Stress and Chaperones*. 2008; 13: 39-49.
114. Douglas P, Easton, Yoshiyuki Kaneko, et al. The HSP 110 and GRP 170 Stress Proteins: Newly Recognized Relatives of the HSP 70s. *Cell Stress & Chaperones*. 2000; 5(4): 276-290.
115. Pockley AG, Stuart K, et al. Prokaryotic and Eukaryotic Heat Shock Proteins in Infectious Disease. *Springer Science Proteins* 4, DOI 10. 1007 1978-90-481-2976-8-1.
116. Calderwood SK, Sherman MY, et al. Heat Shock Proteins in Cancer. *Heat Shock Proteins*. Vol:2, Springer. 2007.
117. Nicholson PW, Ali A, et al. Identification and Inhibition of the ICE ICED-3 Protease Necessary for Mammalian Apoptosis. 1995; 376: 37-43.

118. Rotanda J, Nicholsan DW, et al. Nature Structural Biology 3. 1996, 619-625.
119. O' Shanghnessy JA, Cowan KH, et al. Human Gene Therapy. Retroviral Mediated Transfer of the Human Multidrug Resistance Gene (MDR-1) into Hematopoietic Stem Cells During Autologous Transplantation After Intensive Chemotherapy for Metastatic Breast cancer. 1994; 5: 891-911.
120. Boldin MP, Goncharov TM, et al. Involvement of MACH, a Novel MORT1/FADD- Interacting Protease, in Fas / APO-1 and TNF Receptor- Induced Cell Death, Cell, 1996; 85: 803-815.
121. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, et al. FADD a Novel Death Domain Containing Protein, Interacts With the Death Domain of Fas and Initiates Apoptosis. Cell, 1993; 81: 505-512.
122. Thornberry NA and Lazebnik Y. Caspases: Enemies within, Science, 1998; 281: 1312-1316.
123. Otsu K, Sato K, et al. An Abortive Apoptotic Pathway Induced by Singlet Oxygen is due to the Suppression of Caspase Activation. Biochem. J. 2005; 389:197-206.
124. Amore A and Coppo R. Role of Apoptosis in Pathogenesis and Progression of renal disease. Nephron; 2000; 86: 99-104.
125. Hetts SW. To Die or not to Die An Overview of Apoptosis and its Role in Disease. JAMA; 1998; 279: 300-7.

126. D' Amelio M, et al. The Apoptosome: Emerging Insights and New Potential Targets for Drug Design. *Pharm Res*, 2008; 25(4): 740-751.
127. Davoodi J, et al. Neuronal Apoptosis-inhibitory Protein does not Interact with Smac and Requires ATP to Bind Caspase-9. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 40622-40628.
128. Denault JB and Salvasen GS. Caspases: Keys in the Ignition of Cell Death. *Chem Rev.* 2002; 102: 4489-4499.
129. Dencult JB and Salvesen GS. Caspases. *Current Protocols in Protein Science*. USA: John Wileys & Sons; 1997.
130. Akşit H. Veark. Apoptozis. *YYÜ Vet Fak Derg*, 2008; 19(1): 56-63.
131. Chang HY and Yang X. Proteases for Cell Suicide: Function and Regulation of Caspases. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000; 64(4): 821-846.
132. Alberts B. *Molecular Biology of the Cell*. Fourth Edition, New York, USA; Garland Science; 2002.
133. Elmore S. Apoptosis: a Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 2007; 35: 495-516.
134. Graf D, et al. Caspases and Receptor Cleavage. *Arch Biochem Biophys.* 2007; 462: 162-170.
135. Grabe NA. Context Spesific Identification of Transcription Factor Binding Sites. *In Silico Biol.* 2002; 2: 2-15.

136. Greenlee RT, et al. Cancer Statistics. *Cancer J Clin* 2000; 50(1): 7-33.
137. Goodman JE, et al. Exploring SNP-SNP Interactions and Colon Cancer Risk Using Polymorphism Interaction Analysis. *Int. J. Cancer* 2006; 118(7): 1790-1797.
138. Hirano A, et al. Two Novel Single-nucleotide Polymorphism of the Caspases-9 (CASP 9) Gene in the Japanese Population. *Genes. Immun.* 2001; 2: 117-118.
139. Hlavaty T, et al Polymorphisms in Apoptosis Genes Predict Responce to Infliximeb Therapy in Luminal and Fistulizing Crohn's Disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 22: 613-626.
140. Johnson A, et al. Caspase Mediated Apoptosis in the Vertebrate Ovary. *Reproduction.* 2002; 124: 19-27.
141. Kerr JF, et al. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *Br J Cancer.* 1972; 26: 239-257.
142. Lowe SW. Apoptosis in Cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21(3): 485-495.
143. Lavrik IN. Caspases: Pharmacological Manipulation of Cell Death. *J. Clin Inves.* 2005; 115(10): 2665-2672.
144. Renatus M et al. Dimer Formation Drives the Activation of the Cell Death Protease Caspase-9. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001; 98: 14250-14255.

145. Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. T.Klin Tıp Bilimleri 2003; 23: 499-508.
146. Wei Y, et al. The Structures of Caspase-1, -3, -7 and -8 Reveal the Basic for Substrate and Inhibitor Selectivity. Chem Biol 2000; 7: 423-432.
147. Yıldırım A, et al. Moleküler Biyoloji Protein Sentezi ve Yıkımı. İstanbul; Nobel Yayınevi; 2007.
148. Philchenkov A, et al. Caspases and Cancer: Mechanisms of Inactivation and New Treatment Modalities. Exp Oncol 2004; 26 (2): 82-97.
Tartışma:
149. Kazanis İ, Bazas E, et al. Neuroprotective effects of insulin like growth factor I following a penetrating brain injury in rats. Brain Research 2003; 991: 34-45.
150. Gilbert ME, Cain DP. A single neonatal pentylenetetrazol or hyperthermia convulsion increases kindling susceptibility in the adult rat. Brain Res 1985; 354: 169-80.
151. Morrison AJ, Rush SJ, et al. Heat shock transcription factors and the HSP 70 induction response in Brain and Kidney of the hyperthermic rat during postnatal development. J. Neurochem 2000; 75: 363-372.
152. Bahat A, Eisenbach M, et al. Periovulatory increase in temperature difference within the rabbit oviduct. Human Reproduction. Vol.20, No 8. 2005; 2118-2121.

153. Hunter RH, Nichol R. A preovulatory temperature gradient between the isthmus and ampulla of pig oviducts during the phase of sperm storage. *J. Reprod. Fert.* 77; 1986; 599-606.
154. Ozawa M, Matsuzuka T, et al. Redox status of the Oviduct and Cdc 2 activity in 2-Cell Stage Embryos in Heat - Stressed Mice. *Biology of Reproduction* 71, 2004; 291-296.
155. Matsuzuka T, Ozawa M, et al. Redox Status of the Oviduct and Cdc Lachanse C, Bailey JL, et al. Expression of HSP 60 and GRP 78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. *Human Reproduction* Vol. 22, 2007, 2606-2614.
156. Matsuzuka T, Ozawa M, et al. Effects of Heat Stress on the Redox Status in the Oviduct and Early Embryonic Development in Mice. *Journal of Reproduction and Development*, Vol.51, No.2; 2005; 281-287.
157. Ryan DP, Blakewood EG, et al. Effect of heat-stress in bovine embryo development in vitro. *J Anim Sci* 70: 1992; 3490-3497.
158. Ozawa M, Hirabayashi M, et al. Developmental competence and oxidative state of mouse zygotes heat-stressed maternally or in vitro. *Reproduction*, 124: 2002; 683-689.
159. Matsuzuka T, Ozawa M, et al. Developmental competence and glutathione content of maternally heat stressed mouse oocytes and zygotes. *Anim Sci J*, 75: 2004; 2004; 117-124.
160. Jousan FD, Hansen PJ. Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. *Biol Reprod* 71: 2004; 1665-1670.

161. Edwards JL, Hansen PJ. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Mol Reprod Dev* 46: 1997; 138-145.
162. Yoshikawa T, Kokura S, et al. The role of active oxygen species and lipid peroxidation in the antitumor effect of hyperthermia. *Cancer Res*, 53: 1993; 2326-2329.
163. Totic J. Mechanism of hydrogen peroxide formation by spermatozoa and the role of amino-acids in sperm motility. *Nature*, 1947; 159(4042):544.
164. Bioledau JF, Chatterjee S, et al. Levels of antioxidant defenses are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Mol Reprod Dev* 2000; 55: 282-288.
165. Mammoto A, Masumoto N, et al. Reactive oxygen species block sperm-egg fusion via oxidation of sperm sulfhydryl proteins in mice. *Biol Reprod* 1996; 55: 1063-1068.
166. Aitken RJ, Clarkson JS, et al. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod* 1989, 41: 183-197.
167. Lapointe J, Biolodeu JF. Antioxidant Defenses Are Modulated in the Cow Oviduct During the estrous Cycle. *Biology of Reproduction* 68, 2003; 1157-1164.
168. Lachance C, Janice LB, et al. Grp 78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. *Human Reproduction* Vol.22, No. 10, 2007; 2606-2614.

169. Dieterle S, Wollenhaupt J. Humoral immune response to the chlamydial heat shock proteins HSP 60 and HSP 70 in chlamydia-associated chronic salpingitis with tubal occlusion. *Human Reproduction* vol. 2, 1996; 1352-1356.
170. Lloyd RE, Elliott MA, et al. Effects of oviductal proteins, including heat shock 70 kDa protein 8, on survival of ram spermatozoa over 48 h in vitro. *Reproduction, Fertility and Development*, 2009; 21, 408-418.
171. Pekki A. Different Immunoelectron Microscopic locations of Progesterone Receptor and HSP 90 in chick oviduct epithelial cells. *Vol.39. No.8. 1991; 1095-1101.*
172. Boilard M, Moreno CR, et al. Localization of the Chaperone Proteins GRP 78 and HSP 60 on the Luminal Surface of Bovine Oviduct Epithelial Cells and Their Association with Spermatozoa. *Biology of Reproduction* 7, 2004; 1879-1889.
173. Makarevich AV, Olexikova L, et al. The effect of Hyperthermia in vitro on Vitality of Rabbit preimplantation Embryos. *Physiol Res.* 56: 2007; 789-796.
174. Mariani ML, Souto M. Effect of neonatal chronic stress on expression of HSP 70 and oestrogen receptor α in the rat oviduct during development and the oestrous cycle. *Reproduction* 126, 2003; 801-808.
175. Malayer JR, Hansen PJ Differences between Brahman and Holstein cows in heat-shock induced alterations of protein synthesis and secretion by oviducts and uterine endometrium. *J. Anim.Sci.* 1990;68: 266-280.

176. Mirkers PE, Cornel LM, et al. Heat shock protein 70 (HSP 70) protects post-implantation murine embryos from the embryolethal effects of hyperthermia. *Dev Dyn* 214: 1999;159-170.
177. King YT, Lin CS, et al. Whole-body hyperthermia-induced thermotolerance is associated with the induction of heat shock protein 70 in mice. *The Journal of Experimental Biology* 205, 2002; 273-278.

10. EKLER



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/134-17547
KONU:

26/10/2009

Sayın

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-09.085 kod numaralı ve “*Deneyisel Hipertermide SOD Uygulamasının Gametogenezise Olası Koruyucu Etkisi:İmmünohistokimyasal ve Elektron Mikroskopik Bir Çalışma*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-09.085 and entitled “*Possible Protective Effects of SOD Administration on Gametogenesis in Experimental Hyperthermi: an Immunohistochemical and Ultrastructural Study*” is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

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

11. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, tezimin hazırlanması, düzenlenmesi ve deneylerim süresince değerli bilgilerini paylaşan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Deniz Erdoğan başta olmak üzere, anlayışlı yaklaşımları ile beni yönlendiren tez danışmanım Prof. Dr. Celal Ilgaz'a ve eğitimimde katkıları olan Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na, Prof. Dr. M. Tahir Hatipoğlu'na, yardım ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Gülnur Take ve Doç. Dr. Çiğdem Elmas' a;

Tezimin deney aşamasını birlikte yürüttüğüm ve özellikle çok büyük emekleri geçen Arş. Gör. Güleser Göktaş'a ve Arş. Gör. Fatma Helvacıoğlu'na ve tüm dönem arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Sadece tez çalışmalarımda değil, Türkiye'deki 3 yıllık hayatımın her aşamasında yanımda olarak anlayış ve sabrını esirgemedi, her konuda bana yardım gösteren, destekleyen canım teyzem Doç. Dr. Necibe Nesibova'ya, benden uzakta olsalar da desteklerini hiç esirgemeyen, sevgi ve anlayışlarını daima yanımda hissettiğim, canım annem Nezire Guluzade ve sevgili babam Ferman Guluzade'ye, attığım her adımda beni cesaretlendiren sevgili abim Elkan Guluzade ve eşi Aynure Guluzade'ye, yoğun çalışmalarımın sona ermesiyle duyduğum zaman bütün yorgunluğumu unutturan biricik yeğenim Aysu'ya sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Gülşen Guluzade
Haziran 2010-ANKARA

12. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Küba'da, Santa-Klara'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Azerbaycan'da, Bakü'de 146 numaralı orta öğretim okulunda tamamladım. 2003 yılında kazandığım Bakü Devlet Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden 2007 yılında mezun oldum. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım.