



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KRONİK İMMOBİLİZASYON STRESİNDE
VİTAMİN E’NİN KORUYUCU ETKİSİNİN FARE ADRENAL BEZİNDE
ARAŞTIRILMASI**

FIRAT AŞIR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. YUSUF NERGİZ

DİYARBAKIR

2018



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KRONİK İMMOBİLİZASYON STRESİNDE
VİTAMİN E’NİN KORUYUCU ETKİSİNİN FARE ADRENAL BEZİNDE
ARAŞTIRILMASI**

FIRAT AŞIR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. YUSUF NERGİZ

DİYARBAKIR

2018

TEZ ONAYI

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı** yüksek lisans öğrencisi **Fırat AŞIR**'ın hazırladığı “**Kronik immobilizasyon stresinde vitamin E’nin koruyucu etkisinin fare adrenal bezinde araştırılması**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.
....../....../2018

Danışman: **Prof. Dr. Yusuf NERGİZ**

Jüri üyeleri

İmza

Jüri başkanı

Üye

Üye

Üye

Üye

Tarih:/.../201...

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun **21/12/2017 tarih ve 19/5 sayılı kararıyla** onaylanmıştır.

....../....../2018

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

16/03/2018

Fırat Aşır

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Yine çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren Histoloji ve Embriyoloji'nin diğer öğretim üyeleri Prof. Dr. Murat AKKUS'a, Prof. Dr. Engin DEVECİ'ye, Doç. Dr. Ayfer AKTAŞ'a, Doç. Dr. Sevda SÖKER'e, Doç. Dr. Selçuk Tunik'e, Doç. Dr. Cenap EKİNCİ'ye, Uğur ŞEKER'e ve Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Emre UYAR'a,

Gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım kıymetli kardeşlerim Gökhan GÜNAY'a ve Fırat ŞAHİN'e,

Değerli iş arkadaşım Dr. Ayşegül PALA'ya,

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve varlıklarını her zaman hissettiğim, maddi manevi her açıdan desteklerini esirgemeyen değerli tüm aile bireylerime teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
RESİMLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
TÜRKÇE ÖZET	1
ABSTRACT.....	3
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2 GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 Stresin Tarihçesi ve Tanımı.....	7
2.1.1 Sempatik sinir sistemi	8
2.1.2 Hipotalamus-pituar-adrenal aksı	9
2.1.3 Stres yanıtını yönetme	12
2.2 Vitamin E'nin Tarihçesi.....	12
2.2.1 Vitamin E'nin kimyası	13
2.2.2 Vitamin E kaynakları.....	15
2.2.3 Metabolizma ve depolama	15
2.2.4 Vitamin E eksikliği	15
2.2.5 Vitamin E'nin antioksidan etkisi	16
2.3 Adrenal Bez ve Tarihçesi	17
2.3.1 Adrenal bezin histolojik yapısı.....	18
2.3.2 Adrenal bezin fonksiyonları.....	19
2.3.3 Fare adrenal bezinin türüne özgü özellikleri.....	21
2.3.4 Adrenal bezin büyümesinin ve fonksiyonun düzenlenmesi.....	22
3 GEREÇ ve YÖNTEM.....	22
3.1 Deney Hayvanları Temini	23
3.2 Deney Düzenegi	23
3.3 Psikofarmakolojik Testler	24

3.3.1	Açık alan testi	24
3.3.2	Yükseltilmiş artı-labirent testi:	25
3.3.3	Zorunlu yüzme testi:	26
3.4	Morfometrik Ölçümler	27
3.5	Histolojik Takip	27
3.5.1	Hematoksilen-Eozin boyama protokolü	27
3.5.2	Mallory Azan boyama kiti protokolü	28
3.6	İstatistiksel Analiz	28
4	BULGULAR	29
4.1	Psikofarmakolojik Bulgular	29
4.2	Histopatolojik Bulgular	29
4.2.1	Kontrol grubu histopatolojik bulguları	29
4.2.2	Vitamin E grubu histopatolojik bulguları	32
4.2.3	Stres grubu histopatolojik bulguları	35
4.2.4	Vitamin E+stres grubu histopatolojik bulguları	40
4.3	Morfometrik Sonuçlar ve İstatiksel Analiz	42
4.3.1	Farelerin total vücut ağırlıkları	42
4.3.2	Adrenal korteks kalınlığı	43
4.3.3	Kapsüla Kalınlığı	44
5	TARTIŞMA	46
6	SONUÇ	53
7	KAYNAKLAR	54
8	ÖZGEÇMİŞ	67
9	EKLER	68
9.1	Etik kurul kararı	68
10	ORJİNALLİK RAPORU	69

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
ANDRO	: Androstenedion
ANOVA	: Varyans Analizi
AVP	: Arjinin Vazopressin
BNST	: Stria Terminalisin Yatak Çekirdekleri
CORT	: Kortikosteron
CRF	: Kortikotropin Bırakıcı Faktör
CRH	: Kortikotropin Bırakıcı Hormon
CRH-R1	: CRH Reseptör Tip 1
DHEA	: Dehidroepiandrosteron
DHEA-S	: Dehidroepiandrosteron Sulfat
DUHADEK	: Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu
DUSAM	: Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama Ve Araştırma Merkezi
GAS	: Genel Adaptasyon Sendromu
GC	: Glukokortikoid
GH	: Büyüme Hormonu
GR	: Glukokortikoid
GRE	: Glukokortikoid Cevap Elemanları
H-E	: Hematoksilen-Eozin
HPA	: Hipotalamik-Pituar-Adrenal
HSP	: Isı Şoku Proteini
İ.C.V.	: İntraserebroventriküler
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Hormon
K	: Korteks
LC	: Locus Coeruleus
M	: Medulla
MR	: Mineralokortikoid
NA	: Noradrenalin
PFC	: Prefrontal Korteks
PIP	: Fosfatidilinozitol
PVN	: Paraventriküler Çekirdek
PY	: Periferik Yağ
S	: Sinüzoidler
SNS	: Sempatik Sinir Sistemi
TH	: Tirozin Hidroksilaz
ZF	: Zona Fasikülata
ZG	: Zona Glomeruloza
ZR	: Zona Retikularis

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Kemirgenlerdeki nöroendokrin stres cevabında hipokampus ve hipotalamik-hipofizyal-adrenal aksın (HPA) çalışmasını gösteren şema. Beyin sapından ve daha yüksek beyin bölgelerinden hipotalamusun paraventriküler çekirdeğin (PVN) aktivasyonu kortikotropin-bırakıcı hormonun (CRH) ve arjinin vazopresinin (AVP) medyan eminenseye salınımını başlatır. Hipofizyal CRH ve AVP adrenokortikotropik hormonunun (ACTH) kan akımına salmak için beraber hareket ederler. ACTH kortikosteronun sekresyonu için adrenal korteksi uyarır ve bunun karşılığında beyin glukokortikoid (GR) ve mineralokortikoid (MR) reseptörlerine bağlanıp HPA aksının aktivitesini negatif geri besleme mekanizmasıyla kontrol eder ve böylece homeostasiyi normal haline getirir (19).	8
Şekil 2: HPA aksı. PFC ve amigdala HPA aksı üzerinde BNST aracılığı ile dolaylı olarak (noktalı oklar) etkilere sahiptirler. CRH hipotalamustan salınır ve anteriör hipofizdeki reseptörüne ulaşp ACTH'ı salar. ACTH dolaşım yoluyla adrenal beze ulaşp glukokortikoid sekresyonunu uyarır. Glukokortikoidler beyin dahil birçok farklı organ üzerinde etkilerini gösterirler. Negatif geri besleme döngüsü pitüar, hipotalamus ve de hipokampüse ulaşır. Artı ve eksi işaretler sırasıyla uyarmayı ve durdurmayı gösterir (22).	10
Şekil 3: Alfa-tokoferolun kimyasal yapısı (44).	13
Şekil 4: Alfatokoferol antioksidan ilişkisi (70).	17
Şekil 5: İnsan adrenal korteksinde steroidogenez. Resimde üzerine kırmızı çarpı atılmış oklar fareler tarafından kullanılamayan yolları temsil ediyor. Resim Keagen ve Hammer'dan alınmıştır (88).	20
Şekil 6: Farelerin deney öncesi ve deney sonrası total vücut ağırlıklarının grafiksel gösterimi.	43
Şekil 7: Deney grupları adrenal korteks kalınlığının istatistiksel analizi.	44
Şekil 8: Deney grupları adrenal kapsula kalınlığının grafiksel gösterimi.	45

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Fare adrenal bezinin enine kesiti (87).	19
Resim 2: Açık alan testi.	25
Resim 3: Yükseltilmiş artı testi.	26
Resim 4: Zorunlu yüzme testi.	27
Resim 5: Kontrol grubu fare sürrenal kesintisinde korteks (K) ve medullanın (M) normal histolojik görünümü (H-E, Bar: 100 µm).	30
Resim 6: Kontrol grubu fare sürrenal kesitinin korteks (K) ve medullanın (M) büyük büyütmedeki görünümü (H-E, Bar: 50 µm).	30
Resim 7: Kontrol grubu adrenal korteksin normal zonasyonu izlenmektedir. Zona glomeruloza (ZG), zona fasikülata (ZF), zona retikularis (ZR), periferik yağ (PY), (H-E, Bar: 20 µm).	31
Resim 8: Kontrol grubu adrenal korteks zonasyonu durumu ve kısmen medulla izlenmektedir. Zona glomeruloza (ZG), zona fasikülata (ZF), zona retikularis (ZR), medulla (M) ve periferik yağ (PY), (Azan, Bar: 50 µm).	31
Resim 9: Kontrol grubu adrenal korteks (K) ve kısmen medulla (M) görünümü, (H-E, Bar: 50 µm).	32
Resim 10: Vitamin E grubu adrenal korteks bölgelerinden zona glomeruloza (ZG), zona fasikülata (ZF), zona retikularis (ZR) ve medulla (M) izlenmektedir (H-E, Bar: 50 µm).	32
Resim 11: Vitamin E grubu sürrenal kesitinde korteks (K), medulla (M) ve periferik yağ dokusu (PY) izlenmektedir (H-E, Bar: 100 µm).	33
Resim 12: Vitamin E grubu sürrenal kesiti. Kapsüla (ince ok) ve adrenal korteks (K) normal histolojik yapıda incelenmektedir. (Azan, Bar: 50 µm).	33
Resim 13: Vitamin E grubu adrenal korteksi normal yapıda izlenmektedir. (Azan, Bar: 50 µm).	34
Resim 14: Vitamin E grubu sürrenal kesiti. Büyük büyütmede periferik yağ (PY), kapsüla (ince ok), korteks (K) ve sinüzoidler (s) ve medullanın (M) normal histolojik görünümü (Azan, Bar: 20 µm).	34
Resim 15: Stres grubu sürrenal kesitinde adrenal kortekste (K) atrofi. (H.E, Bar: 20 µm).	35
Resim 16: Stres grubu sürrenal kesitinde medullar damarlarda dilatasyon (asteriks). (Azan, Bar: 50 µm).	36
Resim 17: Stres grubu sürrenal kortekste atrofinin yanı sıra medullada (M) hipertrofi izlenmektedir. (Azan, Bar: 50 µm).	36
Resim 18: Stres grubu adrenal kortekste açık (ok başı) ve koyu (kalın ok) bölgeler izlenmektedir. (H-E, Bar: 50 µm).	37
Resim 19: Stres grubu adreno kortikomedullar bölgede hemoraji (yıldız) (Azan, Bar: 20 µm).	37
Resim 20: Stres grubu adrenal medullar damarlarda dilatasyon (Azan, Bar: 20 µm).	38
Resim 21: Stres grubu adrenal kapsüllada (ince ok) incelme (Azan, Bar: 50 µm).	38
Resim 22: Stres grubu adrenal kortikomedullar bölgede kollajen artışına bağlı interstisyel fibrozis (kıvrık ok) (Azan, Bar: 20 µm).	39
Resim 23: Stres grubu adrenal kortikomedullar bölgede interstisyel fibrozis (kıvrık ok) yanı sıra zona retikulariste (ZR) hücre artışına bağlı hipertrofi izlenmektedir (Azan, Bar: 20 µm).	39

Resim 24: Vitamin E + Stres grubu sürrenal kesitinden minimal düzeyde interstisyel fibrozis (ok başı), kapsüla (ince ok), korteks (K) ve medullanın (M) normale yakın olduğu izlenmektedir (Azan, Bar: 50 µm).	40
Resim 25: Vitamin E + Stres grubu sürrenal kesitinde kortikomedullar bölgede kısmi interstisyel fibrozis (çifte ok) ve medullar damarda tromboz (üçgen) ve periferik yağ dokusu (PF) görülüyor (Azan, Bar: 100 µm).	41
Resim 26: Vitamin E + Stres grubu adrenal korteks sinüzoidlerinde (s) dilatasyon (Azan, Bar: 20 µm).	41
Resim 27: Vitamin E + Stres grubu adrenal bezin normale yakın histolojik görünümü (H-E, Bar: 100 µm).	42



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Deneyde kullanılan gruptaki farelere verilen serum fizyolojik ve vitamin E'nin oranını göstermektedir.	24
Tablo 2: Farelerin deney öncesi ve deney sonrası total vücut ağırlıklarının istatistiksel analizi.	43
Tablo 3: Deney grupları adrenal korteks kalınlığının istatistiksel analizi.....	44
Tablo 4: Deney grupları adrenal kapsül kalınlığının istatistiksel analizi.	45



TÜRKÇE ÖZET

Kronik immobilizasyon stresinde Vitamin E'nin koruyucu etkisinin fare adrenal bezinde araştırılması

Öğrencinin adı ve soyadı: Fırat AŞIR

Danışman: Prof. Dr. Yusuf NERGİZ

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Amaç: Kronik immobilizasyon stresinde vitamin E'nin etkilerinin fare sürrenallerinde araştırılması ve stres sonrası davranışsal değişimlerini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: 10 haftalık 30 gram 28 adet BALB/C erkek fareler yedişerli 4 gruba bölündü.

Kontrol grubuna 7 gün süreyle 0.1ml serum fizyolojik, **Vitamin E grubuna** ise 30 mg/kg/gün E vitamini orogastrik verildi.

Stres grubunda fareler dar alanda hareketsiz kalacak şekilde kafese konuldu. Bu işlem 6 saat/7 gün uygulandı. **Vitamin E+stres grubuna** ise aynı prosedürle immobilizasyon stresinden 1 saat önce 30 mg/kg/gün dozunda vitamin E orogastrik yoldan verildi.

Yedinci günün sonunda tüm hayvanlara açık alan, yükseltilmiş-artı labirent ve zorunlu yüzme testleri uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edilip sol sürrenaller Bouinde fikse edildi. Rutin doku takibinden sonra 5 mikrometrelik kesitlere hematoksilin-eozin ve azan boyama yapıldı. Preparatlar değerlendirilerek fotomikrografları alındı.

Bulgular: Stres grubunda hematoksilin-eozin kesitlerinde, adrenal kortekste atrofi, özellikle zona fasikülatada; medullada hipertrofi saptandı. Bazı kesitlerde adrenal kortekste yağ damlacıkları içeren açık ve içermeyen koyu bölgeler seçilmekteydi. Zona glomerulozada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında nispi bir azalma ile birlikte granuloza hücrelerinin hipertrofik ve kondanse çekirdekler içerdiği izlendi. Korteks ve medullada kapiller dilatasyon, damar duvarında incelme ve hemoraji izlendi. Azan boyası kesitlerinde kapsulada incelme, korteks ve medullada minimal düzeyde interstisyel fibrozis, kortikomedullar bölgede kollajen artışına bağlı yoğun fibrozis

saptandı. İmmobilizasyon stresinden önce vitamin E verilen farelerin sürrenal kesitlerinde; stres grubuna göre histopatolojik bulguların büyük çapta düzeldiği ancak kortikal sinüzoidlerde dilatasyon ve interstisyel fibrozisin kısmen devam ettiği gözlemlendi.

Sonuç: İmmobilizasyon stresinin fare adrenal bezinde morfolometrik ve histopatolojik değişikliklere neden olduğu ve olumsuz etkilerin vitamin E uygulamasıyla büyük çapta önlenebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Fare, adrenal bez, psikofarmakolojik testler, stres, ışık mikroskobu.



ABSTRACT

Investigation of the protective effect of vitamin E on mice adrenal gland in chronic immobilization stress.

Student's name and surname: Fırat AŞIR

Advisor: Prof. Dr. Yusuf NERGİZ

Department: Histology and Embryology

Aim: To investigate protective effect of vitamin E on mice adrenal gland in chronic immobilization stress and to examine post-stress behavioral changes.

Materials and Methods: 28 male 10-weeks-old BALB/C mice weighing 30 grams were divided into 4 groups.

For 7 days, 0.1ml saline was administered to **control group** and **stress group**. For immobilization, mice were placed in a cage so as to remain stationary in narrow area for 6 hours/7 days. For **vitamin E** and **Vitamin E+stress groups**, 30 mg/kg/day vitamin E was administered orogastrically 1 hour before immobilization.

At end of seventh day all animals were subjected to open-field, elevated-plus labyrinth and forced-swimming tests. Left adrenal glands were dissected and fixed in Bouin solution. 5µm paraffin sections were stained with hematoxylin-eosin and Azan. Slides were evaluated and photomicrographed.

Results: In hematoxylin-eosin sections of stress group, cortical atrophy, medullary hypertrophy, cortical open areas with- and dark areas lack of lipid droplets were evident. Zona glomerulosa had cells with hypertrophic and condensed nuclei and reduced size compared to control group. Cortical and medullary dilated capillaries, thinned vascular walls and hemorrhage were observed. In Azan sections; thinned capsule, lowered interstitial fibrosis in cortex and medulla, and intense corticomedullary fibrosis were detected. When compared to stress group, groups administered vitamin E showed histopathologic appearances were mostly resolved but dilatation and interstitial fibrosis were partially continued in cortical sinusoids.

Conclusion: Immobilization stress caused some morphometric and histopathologic changes in mouse adrenal gland and these adverse effects could be largely prevented by vitamin E administration.

Key words: Mouse, adrenal gland, psychopharmacological tests, stress, light microscopy.



1 GİRİŞ VE AMAÇ

Stres organizmanın fizyolojik homeostasisini bozmaya yönelik her türlü stresojenik uyarıcılara karşı verdiği yanıt olarak tanımlanır. Günlük hayatımızda hayvan modellerinde stresojenik uyarıcılara sıcaklık, soğukluk, fiziksel kısıtlamalar, kalabalık, gürültü, immobilizasyon veya bağlama örnek verilebilir (1, 2). İnsanlar olarak stresli durumlarla sürekli karşılaşırız; uçağa son dakikada yetişmek, sınavları geçmeye çalışmak, yılan veya köpekle karşılaşmak, topluluk önünde konuşurken zorlanmak, verilen işi yetiştirmek gibi. Bu tür durumlara vücudumuz iki şekilde yanıt vermeye çalışır: birincisi sempatik sinir sistemi ile vücuda adrenalin ve noradrenalin pompalamak, ikincisi son ürünü kortikostereoid olan hipotalamik-pitüvar-adrenal (HPA) aks. Her iki sistem vücudun strese karşı savaşında rol alır (1, 2).

Köpekten korkan biri köpek görünce tüm dikkatini köpeğe verir, enerji beyin ve kaslara akar, diğer sistemler durma noktasına gelir. Buna karşın, işe mesai saatinin son dakikasında yetişen birinde stresin azalması ve rahatlama gözlenebilir. Basit iki örnek günlük hayatta hepimiz için olmasa da çoğumuz için geçerli bir durum. Uzun süreli bakarsak, bu gibi durumlar sık sık yaşandığı için bu sistemdeki değişimin etkileri büyük olabilir. Stres süresince organizmanın kararlılığını devam ettirmesi için hipotalamik-pitüvar-adrenokortikal ve sempatoadrenomedullar sistem rol alır ve her iki sistemde de adrenal bez son karar verici merkezdir (3).

Adrenal bez, medulla ve korteksinden salgılanan hormonlar (adrenalin/noradrenalin ve kortikal steroidler) aracılığı ile vücudun değişik stres uyarıcılarına karşı cevap verdiği temel organdır. Korteksi kabaca özetlersek dıştan medullaya doğru zona glomeruloza (çoğunlukla mineralokortikoidler), ortada zona fasikülata (glukokortikoidler) ve en içteki zona retikularis (androjenler). Her ne kadar üç zon da adrenokortikotropik hormon (ACTH) stimülasyonundan etkilense de uzun dönemde bu trofik hormon hareketi için esas hedef zona fasikülata ve buradan üretilen kortikosteron (CORT) hormonu ya da bilinen adıyla stres hormondur (4, 5).

Vitamin E yağda çözünen bileşiklere verilen genel terim olup ilk defa 1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilmiştir (6). Sağlık açısından antioksidan özelliğinden dolayı oldukça yararlıdır ve yağ içeren yiyeceklerde bulunur. Bu tür

yağda çözünen bileşikler hayvan ve insanların yağ dokularında depolanabilir ve günlük olarak tüketilemezler (7). Terminolojisine baktığımızda, vitamin E'nin grubu tokokromanoller olarak adlandırılır ve bunlarda kendi arasında tokoferoller ve tokotrienoller olarak ikiye ayrılır. Tokoferoller ve tokotrienoller bitkiler tarafından homojentisik asitten sentezlenirler ve doğada doğal olarak alfa, beta, gamma ve delta olmak üzere toplam 8 formu bulunur. Alfa ve gama tokoferol formu serum ve kırmızı kan hücrelerinde bulunmakla beraber alfa tokoferol en yüksek miktarda bulunur (8). Vitamin E yağlar oksidasyona uğrarken serbest radikal reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen türlerini üretmeyi durduran bir antioksidandır (9). Vitamin E organel zarlarında ve hücrede lokalize olur ve böylece sayıca miktarı çok az olsa bile (2200 lipit molekülü başına bir vitamin E) etkisini yüksek gösterir (10). Lipid peroksidasyonunda ilk savunma mekanizmasını oluşturarak hücre zarını serbest radikal saldırılardan korur. Çalışmalarda vitamin E'nin formlarından çoğunlukla alfa tokoferolün bu görevi üstlendiği görülmüştür (11).

Bu çalışmanın amacı; kronik immobilizasyon stresinde vitamin E'nin koruyucu etkisinin fare adrenal bezinde araştırılması ve stres sonrası farelerin davranışsal değişimlerini incelemektir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Stresin Tarihçesi ve Tanımı

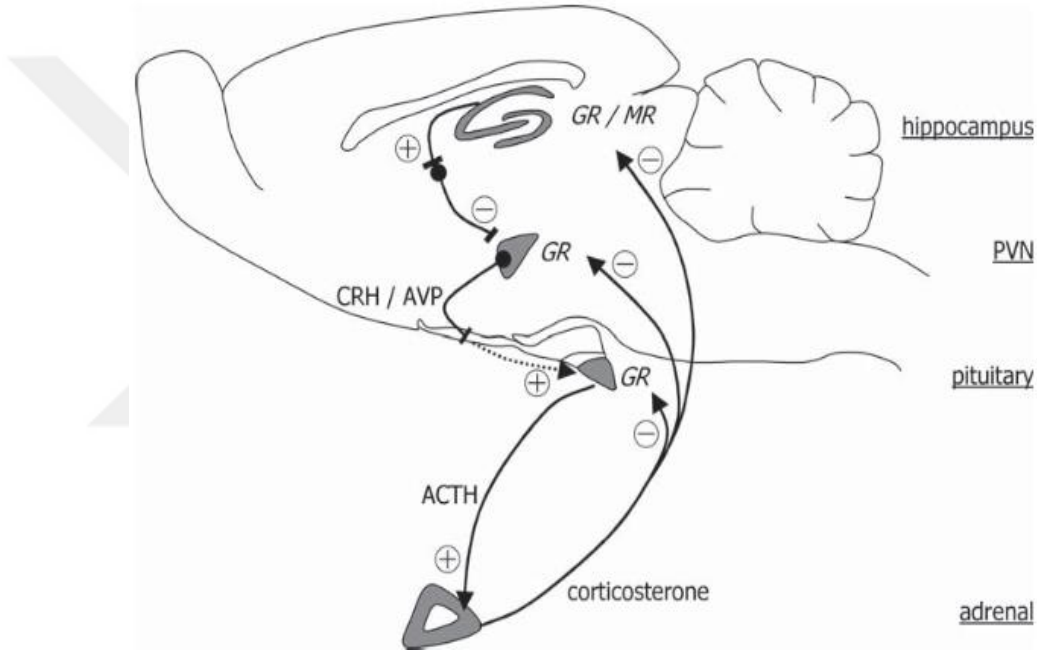
Walter Canon stres terimini kullanmadan organizma üzerinde çevresel uyarıcıları ilk kullandı. 1932 yılında, Harvard Üniversitesinde fizyolojist olan Canon ilk defa hayvan iç dengesini tanımlamak için homeostasi kelimesini kullanmıştır (12). Kaç veya savaş terimi ilk defa onun tarafından ortaya atılmıştır. Canon hayvanları zor şartlar altında bırakarak strese karşı mücadelede kaç veya savaş durumunu incelemek istedi; böylece hayvanlarda sempatik sinir sistemi (SNS) aktivasyonu olduğunu ve hastalığın homeostasi dengesinin bozulduğundan kaynaklandığını tespit etti (13).

Stres terimi aslında biyomedikal alanda ilk defa “bozulan homeostasideki biyolojik fenomen” şeklinde tanımlanmıştır (14). Fizikçi Hans Selye stres terimini, zararlı ajanların organizma üzerindeki etkilerini tanımlamak için biyomedikal araştırmalara koymuştur (15). Stres kelimesinin etimolojisine baktığımızda mekanik kökenli olup deforme olabilen vücudun üzerindeki basınç ölçümü olarak ifade edilebilir (16).

İç veya dış çevre kaynaklı strese karşı mücadelede organizma kendisini koruyabilmek ve devamlılığını sağlamak için bir dizi fizyolojik ve davranışsal cevaplarla stres yanıtı geliştirir. Organizmanın homeostasisi bozulduğu zaman vücutta iki majör sistem devreye girer; ilki otonom sinir sisteminin SNS’si ve ondan salgılanan noradrenalin (NA) ve adrenalin, diğeri ise hipotalamik-pitüvar-adrenal (HPA) aksı ve son salgıları olan glukokortikoidler (GC). Her iki sistemde strese karşı fizyolojik değişikliklerle adaptif bir yanıt geliştirir. Örneğin; glukoneogenez, lipoliz ve glikoliz gibi reaksiyonlar sonucu enerjiyi taşır, solunumun ve kan dolaşımının yeniden dağıtımını artırır, uyanıklılığı ve fokuslanmayı artırırken immün sistem, üreme sistemi ve ayrıca sindirim sistemi gibi vejetatif sistemleri inhibe eder. Bir stres uyarıcıya maruz kalındığında vücutta ilk tepki SNS tarafından oluşturulur. NA ve adrenalin saniyeler içinde bırakılır. HPA-aksının GC’leri salgılaması dakikaları bulur ama ilk stresten yaklaşık 15-30 dakika sonra salgı miktarı ‘peak’ yapar ve etkisinin azalması için de daha fazla zamana ihtiyaç duyar. Stres uyarıcı çeşidine göre, stres yoğunluğuna göre ve nasıl algılandığına göre beynin farklı bölgeleri aktive olur ve farklı davranışsal ve nöroendokrin yanıt geliştirilebilir (17, 18). Aşağıdaki başlıklarda iki sistem daha detaylı açıklanmıştır.

2.1.1 Sempatik sinir sistemi

Stres sonucu beyin katokolaminerjik nöronları ve adrenal medulla gibi vücudun farklı bölgelerinden NA ve adrenalalin olarak adlandırılan katekolaminler salgılanır. NA ve adrenalalin salınımı stres uyarıcıya karşı verilen en hızlı yanıtlardır. Hem NA hem de adrenalalin etkilerini farklı dokular üzerinde gösterebilir. Stresin kardiyavasküler sistem üzerindeki etkileri en çok çalışılan ve en çok bilinen sistemdir. Stresin etkileri kan akımını ve basıncını artırır. Beyinde, stresin indüklediği NA salınımının prefrontal korteks (PFC) yardımıyla da uyanıklılığı ve tetikte kalmayı arttırmadan sorumlu olduğu gösterilmiştir (Şekil 1) (19).



Şekil 1: Kemirgenlerdeki nöroendokrin stres cevabında hipokampus ve hipotalamik-pituar-adrenal aksın (HPA) çalışmasını gösteren şema. Beyin sapından ve daha yüksek beyin bölgelerindeki hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinin (PVN) aktivasyonu kortikotropin-bırakıcı hormonun (CRH) ve arjinin vazopresinin (AVP) medyan eminenseye salınımını başlatır. Hipofizyal CRH ve AVP adrenokortikotropik hormonunu (ACTH) kan akımına salmak için beraber hareket ederler. ACTH kortikosteron sekresyonu için adrenal korteksi uyarır ve bunun karşılığında beyin glukokortikoid (GR) ve mineralokortikoid (MR) reseptörlerine bağlanıp HPA aksının aktivitesini negatif geri besleme mekanizmasıyla kontrol eder ve böylece homeostasiyi normal haline getirir (19).

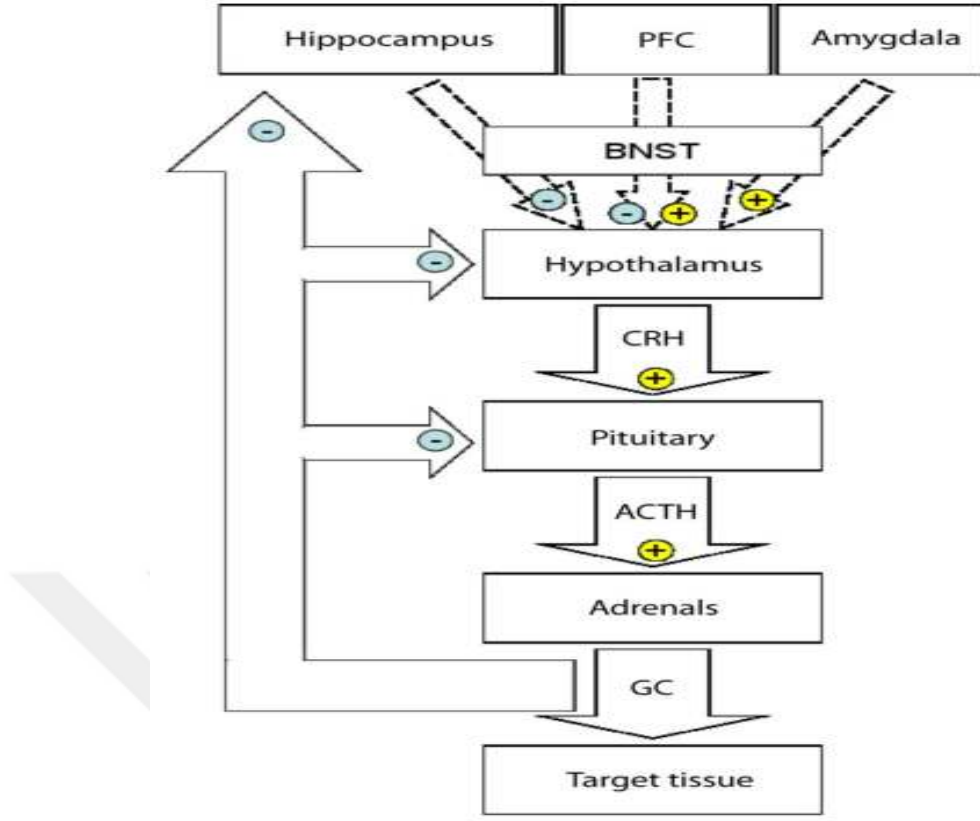
Locus coeruleus (LC; A6 bölgesi) beyindeki NA kaynağının ana bölgesidir. Bu bölge primat beyinlerinde üretilen NA'nın yaklaşık %70'ini üretir. Sıçanda LC yaklaşık 3000 nöron içerirken bu sayı insanda yaklaşık 24000'dir (20). Bu nöronlar uzantılarını tüm merkezi sinir sistemi boyunca uzatır.

İmmobilizasyon stresinin c-fos ekspresyonunu ve tirozin hidroksilaz (TH) aktivitesini ve onun protein seviyelerinin değerlendirilmesi sonucu LC bölgesinde nöronal aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir. TH, katekolamin sentezinde oran-belirleyen enzimdir. İlginçtir ki, transkripsiyon faktörleri ve MAP kinaz yolları tek veya tekrarlanan stres sürelerine bağlı olarak farklı şekillerde denetlenir (21).

Periferde, NA ve adrenalin adrenal medulladan sentezlenirler (yaklaşık olarak %20 NA ve %80 adrenalin) ve kromafin hücrelerinde salgılanıp hedef organları üzerinde hormon olarak etki ederler. Adrenalinden farklı olarak NA, SNS’de nörotransmitter madde olarak majör rol alır. Burada NA “kaç veya savaş” yanıtında post-ganglionik sinir terminallerinden salınır.

2.1.2 Hipotalamus-pitüvar-adrenal aksı

Yukarda bahsettiğimiz SNS stresli durumlarda mücadelede rol alan ilk sistemdi. Bu sisteme ek olarak “kaç veya savaş” yanıtında rol alan ikinci mekanizma HPA aksı aktive edilir (Şekil 2). Stres uyarıcısına yanıt olarak beynin farklı bölgeleri aktive olur ve sonuç olarak kortikotropin bırakıcı hormon (CRH; CRF-kortikotropin bırakıcı faktör olarak bilinir) salınır. CRH hipofizden, özellikle paraventriküler çekirdekten (PVN), median eminenseye oradan da hipofizyal portal sistem yoluyla hipofize ulaşır. CRH burada kendi reseptörleri olan CRH reseptör tip 1 (CRH-R1) üzerine bağlanarak adrenokortikotropik hormon (ACTH) olarak bilinen bir polipeptid hormonun kana salınımına neden olur. CRH içeren nöronların çoğu aynı zamanda ön hipofiz seviyesinde CRH etkisini güçlendiren vazopressin (AVP) eksprese ederler. AVP tek başına da ACTH salınımını uyarabilir (22). Şunu belirtmek gerekir ki bu AVP içeren nöronlar PVN’nin parvoselüler bölgesinden köken alırlar ve median eminenseye kadar uzanırlar. Magnosellüler kısımdaki AVP içeren nöronlar ise hipofiz bezine uzantı yaparlar ve orada tuz-su homeostasisinden sorumludurlar (23). Dolaşım yoluyla ön hipofizden salınan ACTH böbreklerin üstünde bulunan adrenal bezlere ulaşır ve orada adrenal korteksin zona fasikulatasından GC’lerin (insanlarda kortizol ve kemirgenlerde kortikosteron [CORT]) sentezini ve salınımını uyarır. GC’ler farklı organları farklı şekillerde etkileyerek stresli durumlarda enerji dağıtımını ve kaynakları sıkı kontrol ederler (17, 18, 24).



Şekil 2: HPA aksı. PFC ve amigdala stria terminalisin yatak çekirdekleri (BNST) aracılığı ile dolaylı olarak (noktalı oklar) HPA aksı üzerinde etkilere sahiptirler. CRH hipotalamustan salınır ve anterior hipofizdeki reseptörüne ulaşır ve ACTH'ı salgılar. ACTH dolaşım yoluyla adrenal bezde ulaşır ve glukokortikoid sekresyonunu uyarır. Glukokortikoidler beyin dahil birçok farklı organ üzerinde etkilerini gösterirler. Negatif geri besleme döngüsü pitüar, hipotalamus ve de hipokampüse ulaşır. Artı ve eksi işaretler sırasıyla uyarıyı ve durdurmayı gösterir (22).

HPA aksının aktivasyonundan 30 dakika sonra GC seviyesi en yüksek konsantrasyonuna ulaşır ve stres uyarıcının kesilmesinden sonraki yaklaşık iki saat içinde bazal seviyesine iner. Dahası, kan-beyin bariyerini kolay geçen lipofilik GC'ler beyinde farklı hiyerarşik durumlarda negatif feedback düzenleyicileri olarak hareket ederler ve böylece kendi salgısını bitirebilirler. Bu da stres uyarıcının kesilmesinden sonra aktive edilmiş sistemin hızlı bir şekilde kapanıp homeostatik seviyesine dönmesini garantiler.

GC'ler sadece stres durumunda değil, aynı zamanda pulsatil yolda ya da sirkadiyan ritimde de salınabilir ve aktif periyodun başlamasından hemen önce 'peak' gösterip inaktif periyodun başlangıcına doğru da azalır. Metabolik ve davranışsal süreçlerin HPA üzerinde etkisi vardır ve bu durumun tersi de mümkündür (25, 26).

GC'ler beyinde iki farklı intrasellüler glukokortikoid reseptörlerine bağlanırlar: mineralokortikoid reseptörü (MR) ve glukokortikoid reseptör (GR). Her iki reseptör de gösterildiği gibi farklı özelliklere ve dağılıma sahip olup farklı fonksiyonlara sahiptir. MR'ın GC'lere olan yatkınlığı GR'lere olan yatkınlığından altı kat daha fazladır. Bu yüzden çoğu MR bazal seviyede GC'lerle kuşatılmıştır (MR'ın %90'ı ve GR'nin %10'u GC'lerle kuşatılmıştır), bunun aksine GR'ler sadece sirkadiyan 'peak' salınımında (örneğin uyanma) ve stresli durumlarda seviyeler yüksek olduğunda aktive olurlar (MR'lar o zaman tamamen kuşatılırlar ve GR'ler yüzde 67-74 arasında kuşatılırlar) (27). MR'ların ve GR'ların beyindeki dağılımı farklıdır. MR'lar özellikle limbik sistemde eksprese edilirken, GR'ler aksine subkortikal (örneğin PVN ve hipokampus) ve kortikal (örneğin PFC) bölgelerin yanı sıra bir de beyin kökünde eksprese edilirler (28).

GC bağlanır bağlanmaz, hsp90 ve diğer ısı şok proteinleri ('heat shock' proteinleri) gibi kaperonlar reseptörlerden ayrılırlar ve reseptör-kompleks çekirdeğe geçer. Çekirdekte reseptörler glukokortikoid cevap elemanlarına (GRE) homodimer olarak bağlanıp gen transkripsiyonunu değiştirirler (29). Reseptörler ayrıca diğer transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek dolaylı olarak transkripsiyonu düzenleyebilir ve transkripsiyon faktörlerinin çekirdeğe geçmesini ve DNA ile bağlanmasını engelleyebilirler. Bu transkripsiyonel değişikliğin görece yavaş mekanizmanın yanında, GC'lerin hareket ettiği ama görev alan reseptörlerin henüz tanımlanmadığı hızlı mekanizma da mevcuttur. Büyük ihtimalle bu reseptörler sinyal iletiminin hızını arttıran hücresel zara gömülü olan reseptör tipleri olabilir (30, 31). Beynin farklı bölgelerindeki GR'lerin güçlü ekspresyonu HPA aksının düzenlemesinde ve kontrol altına alınmasındaki önemini gösteriyor. Örneğin, hipokampus ve PFC'nin HPA aksını durdurduğu gösterilmiştir. Korku ve duyguda yüksek düzeyde rol alan beyin bölgesi amigdala stres aksının üzerinde aktivasyonel bir etki uygular (32). İlginçtir ki, yukarıda bahsettiğimiz yapıların hiçbirinin direk olarak PVN'ye bağlantısı yok. Bu yapılar stria terminalisin yatak çekirdeklerine (BNST) uzanıp orada sinyalleri dağıtır ve sinyallerin sonuçları PVN'ye yönlendirilir. BNST aktarma istasyonu gibi davranır ve hem durdurucu hem de uyarıcı etkiler gösterir (33).

2.1.3 Stres yanıtını yönetme

CRH stres yanıtını başlatmada ilk aracıdır. CRH'nin aktif formu 41-aminoasit uzunluğunda bir peptid olup ürokortinleri içeren CRF-bağımlı ailesinin ilk üyesidir (34). CRH'nin yapısı memeli türleri arasında oldukça korunmuştur ve reseptörleri CRH-R1 ve CRH-R2 beyinde fazlaca eksprese edilir. CRH-R1 ön hipofizde oldukça fazla eksprese edilir ve HPA aksı içinde CRH sinyallerini iletmadaki rolü üstlenir. CRH-R1 amigdala, hipokampus ve PVN'nin yanı sıra (ki bunlar sadece birkaçı) aynı zamanda ana integratif çekirdek olan BNST'de de eksprese edilir (35). Burada CRH sinaptik iletimi kontrol etmek için nörotransmitter olarak görev yapar. LC dahil bu alanlar CRH-içeren nöronlara sahiptir. CRH'nin CRH-R2'ye yatkınlığı CRH-R1'e olan yatkınlığından daha azdır. Her iki reseptör farklı etki gösterir; CRH-R1 aksiyon-ilişkili hareketlerin çoğuna aracılık ederken, CRH-R2 vejetatif fonksiyonlardaki stres-etkilerine aracılık eder. CRH reseptörleri 7 transmembran domainine sahip olup G-protein coupled reseptör ailesine girer ve adenilil siklazı aktive eder. PVN'de CRH geninin transkripsiyonu GC'lerle inhibe edilir (36).

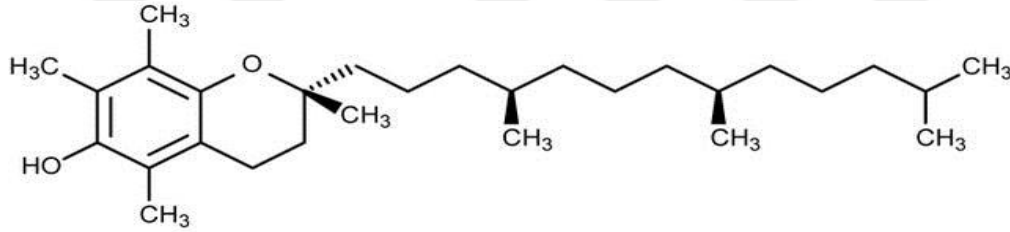
Hipotalamus hem HPA aksı ile hem de SNS ile stresöre karşı cevap vermede ana entegratif bir merkezdir. Bu durum CRH'nin intraserebroventriküler (i.c.v.) enjeksiyonu sonucu LC'deki nöronların bazal dolanma oranlarının artması ile gösterilmiştir (37). Bunun karşılığında NA da CRH'nin PVN'den salınımını uyarabilir (38). Farklı stresörler (örneğin kısıtlayıcılar ya da zorunlu yüzme testi) NA nöronlarını aktive eder (39, 40). Bu sonuçlar CRH ve NA sistemi arasında yakın bir interaksiyon olduğunu gösteriyor. Farklı çalışmalar PVN'deki CRH nöronları ile LC'deki NA nöronları arasında ters bir bağlantı olduğunu söylüyor (41-43). Ama sadece PVN LC'yi innerve eder. Amigdalanın merkezi çekirdeklerindeki CRH-içeren nöronlar da LC'ye uzantılarını gönderir. LC'nin NA nöronları hipotalamus dahil beynin değişik bölgelerine uzantılarını yollar (20, 41). A1 ve A2 gibi diğer NA bölgeleri sırasıyla BNST'ye ve PVN'ye uzantılarını yollar ve hedeflerinden sinyal alırlar. Bu bilgiler strese yanıt verme mekanizmasının çok kompleks sistemler tarafından yürütüldüğünü gösteriyor.

2.2 Vitamin E'nin Tarihçesi

Vitamin E 1922 yılında Kaliforniya Üniversitesinden Amerikalı fizikçi Herbert Evas ve asistanı Katherine Bishop tarafından keşfedilmiştir (Şekil 3) (44). Herbert ve

asistanı sıçan diyeti üzerine yaptıkları deneyde sıçanların üremeyi durdurduğu, daha sonra bitkisel yağlardan izole edilen bir madde verildiğinde sağlıklı ve güçlü döller üretebildiklerini tespit etmişler (45). Vitamin E aktif bileşikleri içerisinde barındıran bir gruba verilen addır. Vitamin E doğada 8 tane farklı formu vardır ve bu formlar da mokekülün yan zincirinin doymuş veya doymamış olmasına göre iki gruba ayrılır.

Doymuş formları tokoferoller olarak adlandırılır ve α , β , γ ve δ olarak gösterilir (46). Doymamış tokotrienoller Green ve arkadaşları ile Pennock ve arkadaşları tarafından 1960-1964 yıllarında keşfedildi (47). Tokotrienoller de tokoferoller gibi α , β , γ ve δ olmak üzere 4 farklı forma sahiptir. Tüm bu formlar arasında, α -tokoferol biyolojik olarak en aktif olanı ve en fazla yaygın olanıdır.



Şekil 3: Alfa-tokoferolün kimyasal yapısı (44).

Vitamin E'nin önemini göstermek için sayısız çalışmada farklı deneysel hayvanlar kullanılmıştır ve farklı dokularda ve hastalıklarda rolü tespit edilmeye çalışılmıştır. Sentetik antioksidanlar ensefalomalasyayı, selenyum eksüdatif diatezi, sisteyin müküler distrofiyi engelleyebilir. Bu verdiğimiz örneklerin hepsi vitamin E'nin eksikliği sonucu ortaya çıkan hastalıklar ve yeterli vitamin E alınırsa engellenebilir (45).

2.2.1 Vitamin E'nin kimyası

Fernholz ve İsveç kimyacı Karrer α -tokoferolün tam yapısını ortaya çıkarmıştır. Sure, vitamin E ismini önermiştir fakat Evans ve Bishop (48) bu ismi kullanıma sokmuştur (49). Tokoferol kelimesi Yunanca bir kelime olup *tokos*-doğum ve *pherin*-taşımak anlamına geliyor (49).

Vitamin E'nin kimyasal yapısı Fernholz tarafından keşfedilmiştir (50). Vitamin E terimi tüm tokoferoller (α , β , γ ve δ formları ile beraber) ve tüm tokotrienoller (α , β , γ ve δ formları ile beraber) kapsayan bir sözcüktür. A-tokoferolün mokeküler ağırlığı

430.69 g/mol olup, UV absorpsiyonu 72-76'lık 1 cm kuvetteki etanol içinde %1'lik solüsyon absorpsiyonuyla 292-294 nm'dir (51).

α - tokoferolün D formu hafif visköz, soluk sarı yağ şeklinde olup, suda çözünmeyen ama bitkisel yağlarda, hayvansal yağlarda ve organik çözücülerde çözünebilen bir bileşiktir. Erime noktası 2.5-3.5°C iken kaynama noktası 200-220°C'dir. Moleküler damıtma yöntemleri ile saflaştırılabilir ve maksimum 295 μ m, minimum 267 μ m absorpsiyona sahiptir. Vitamin E trimetilhidroquinon ve izofitolden neredeyse tahmini 8 eşit izomer olarak sentezlenir (45).

Vitamin E hiç stabil değildir ve beslenmedeki doymamış yağ asitlerinden ve minerallerden dolayı oksidatif yıkıma yatkındır. Esterifikasyon ile daha stabil hale gelir. Ticari formları d- α - tokoferol asetat veya dl-a- tokoferol asetat şeklindedir. Bu asetatlar tokoferolün asetik anhidrid ile reaksiyonu sonucu hazırlanır. α - tokoferol asetat jelatin boncuklarla kaplanırsa çok daha stabil bir forma geçer (45). Vitamin E'nin bir ulusal birimi 1 mg sentetik dl- α - tokoferil asetat aktivitesine, 0.735 mg d- α - tokoferil asetat aktivitesine, 0.671 ng d- α - tokoferol aktivitesine veya 0.909 mg dl- α - tokoferol aktivitesine sahiptir (52).

Tokoferoller ve tokotrienoller aynı kimyasal yapıya sahiptir; her ikisi de kroman halkasının 2. pozisyonuna bağlı uzun bir zincir ile karakterize edilebilir. Tokotrienoller tokoferollerin doymuş izoprenoid C16 yan zinciri yerine farnezile sahiptirler (53).

Tokoferoller üç tane kiral steromerkezler içerir; 2., 4. ve 8. karbondan ve böylece ihtimalen sekiz farklı stereoizomere sahip olabilir.

α - tokoferoller tek stereoizomer olan RRR- α - tokoferol şeklinde doğada bulunurken sentetik vitamin E genelde eşit miktarda ama farklı biyopotansileri olan sekiz stereoizomerin (hepsi-rasemik) karışımı şeklinde üretiliyor (54). Hayvan çalışmalarına dayanarak doğal (RRR) ve sentetik (hepsi-rasemik) α - tokoferol karşılaştırılırsa 1.36'lık bir biyopotansi oranı (doğal/sentetik) olduğu görülmüştür (55). Antioksidan özellikleri membran lipid peroksidasyonu önleme ve reaktif oksijen türlerini uzaklaştırmadaki katkılarıdır (56).

2.2.2 Vitamin E kaynakları

Tokoferoller bitkisel yağ çekirdeklerinde, bitki yapraklarında ve diğer yeşil kısımlarında, daha çok bitki hücrelerinin kloroplastlarında bulunur. Bitkilerin köklerinden ziyade yapraklarında birikirler ve soluk olgunlaşmamış yapraklar yerine koyu olgunlaşmış yapraklarında bulunur (57).

2.2.3 Metabolizma ve depolama

Vitamin E'nin absorpsiyonu emülsifikasyon, solubilizasyon, karıştırılmamış su tabakaları arası diffüzyon, enterositlerin membranı boyunca geçiş, lipoprotein partikülleri ile birleşme ve memelilerde lenf sistemi ile kuşlarda portal sistem aracılığı ile dolaşıma katılma gibi özellikleri olan hayvansal yağ absorpsiyonu ile aynıdır (58). Hem safra hem de pankreatik lipaz maksimum absorpsiyon için elzemdir. Asetat form olunca, pankreatik esteraz ilk kesime yardıma eder. α -tokoferol yağ asitleri ile absorbe olup lipid-safra-lipaz miselini oluşturur. Absorbe olan tokoferol karaciğere hayvansal yağ olarak taşınırken, bu işlem kuşlarda portal ven ile gerçekleşir. Absorbe olan tokoferol daha sonra onları karaciğere ve yağ depolarına taşıyacak olan lipoproteinlere bağlanır (59). Yenilen çoğu β , γ , δ -tokoferol safraya salgılanır veya gaita ile dışarı atılır (60).

2.2.4 Vitamin E eksikliği

Vitamin E eksikliği insanlarda çok nadiren görülse de kalıtım veya edinilmiş durumlarda vitamin absorpsiyon yeteneği bozuk olanlarda (kistik fibrozis, kısa bağırsak sendromu veya safra kanalı tıkanması), diyetinde hayvansal yağ absorbe edemeyen ve çok nadir görülen metabolizma rahatsızlığı olanlarda görülebilir. Son çalışmalar alpha-ttp'nin alfa-tokoferolun karaciğerden salınımını kontrol ettiğini ve alpha-TTP'nin yüzeyindeki bazı arjinin residularında yanlış mutasyonların insanlarda ciddi düzeyde vitamin E eksikliğine yol açtığını göstermişlerdir (61).

Yabanıl tip alpha TTP'nin arjinin fosfatidilinozitolere (PIP) bağlandığı ama arjinin mutantlarının bağlanmadığı ve hedef membrandaki PIP'lerin alpha-TTP sayesinde alpha-tokoferol'un ara-membrana taşınmasını indüklemiştir. Vitamin E eksikliğinin semptomları kas zayıflığı, görme problemleri, immune sistem değişiklikleri, uyuşukluk, yürümede zorluk, titreme ve zayıf denge ayarlamasıdır (62). Bu semptomlardan ayrıca, vitamin E eksikliği spinoserebellar ataksiya ve miyopatiler gibi nöromusküler problemlere, derin tendon refleksi olan dizatri, titreşimsel hissiyat

ve pozitif Babinski reflekslerinin kaybına neden olur (63). Kırmızı kan hücrelerindeki oksidatif hasardan kaynaklanan anemi, retinopati ve immune sistem bozukluğu da diğer görülen hastalıklardır (64).

Eğer tedavi edilmezse, vitamin E eksikliği körlük, kalp rahatsızlığı, kalıcı sinir hasarı ve düşünememeye yol açar. Bazı çalışmalarda vitamin E'nin erkeklerde kısırlığa sebep olduğu yazılmıştır (62).

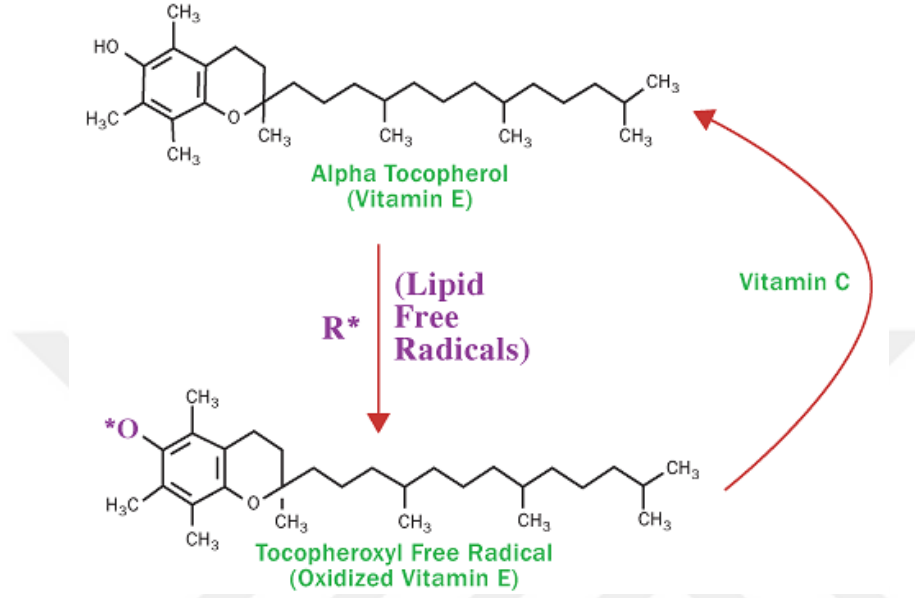
2.2.5 Vitamin E'nin antioksidan etkisi

Tokokromanoller lipofilik fenolik antioksidantların en etkili grubudur. Araştırmacılar serbest radikallerin lipid oksidasyonu ve DNA hasarına neden olmadan önce önemli hücresel bileşenlerini korumak için tokokromanoller tarafından nötralize edeceğini ileri sürmüşlerdir. Antioksidanlar serbest radikal saldırıları azaltarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kırar ve lipid onarımını ve lipid yer değişimini ile hücre zarını korurlar. Bu yolla kanser veya kalp rahatsızlıklarını önleyebilirler. Epidemiyolojik kanıtlar beslenme-kaynaklı antioksidanların (Vitamin A, C ve E gibi) insan ve hayvan sağlığını korumada önemli görev üstlendiğini göstermişlerdir (65, 66).

Çok yeni epidemiyolojik kanıtlarda plazmada vitamin E konsantrasyonu yüksek olduğu zaman kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser tiplerine yakalanma riskinin daha az olduğu gösterilmiştir. Rastgele, iki-terafı bilinmeyen, plasebo-kontrollü deneyde, tüm tokotrienol ve tokoferol formlarının karışımının DNA (oksidasyon sürecinde genelde hedef organ olarak bilinir) üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Sonuçlar vitamin E alımının DNA hasar seviyesini sağlıklı bireylerde düşürdüğünü göstermiştir. Bu gözlemler tokokromanol karışımı alımıyla DNA kırılmalarının oluşumu ve hasarında rol alan moleküler mekanizmalar arasındaki muhtemel ilişkiyi gösterebilir (67).

Vitamin E canlı sistemlerde iyi bir antioksidan olarak bilinir. Sentetik vitamin E'lerde, yani hepsi-rac- α -tokoferollerde veya dl- α -tokoferol, ihtimal olan tüm sekiz optikal α -tokoferol izomerleri eşit olarak bulunur (68, 69). Sentez, 2,3,6-trimetil-hidroquinon'un hepsi-rac-izofitolle asit-katalizörlüğünde kondensasyonu ile gerçekleşir (Şekil 4) (70).

Canlı sistemlerde, lipid peroksidasyonu sıvı faz oksidasyonu olarak bilinen bir olaydır ve hidrokarbon oksidasyonu ile aynı temel reaksiyon adımlarını içerir (71). Lipid hidroperoksidin metal iyon katalize edilmiş dekompozisyonu gibi öncü moleküllerden ilk serbest radikaller üretilir (69).



Şekil 4: Alfatokoferol antioksidan ilişkisi (70).

α -tokoferol için antioksidant aktivitesinin oran sabitleri in vitro ortamda değerlendirildiğinde α -tokoferolün bilinen en iyi zincir-kıran antioksidan olduğu ve BHT gibi ticari antioksidanlardan çok daha iyi olduğu gösterilmiştir (72, 73).

2.3 Adrenal Bez ve Tarihçesi

Farelerin adrenal bezi (suprarenal bez, sürrenal bez veya böbrek üstü bezi de denilebilir) böbreklerin üst kutupları üzerinde yer alan küçük, bir çift endokrin organdır. Sağ adrenal sol adrenal göre böbreklere daha yakın yerleşiktir (74). Bezler ovoid, dişilerde daha fazla lipid varlığından dolayı biraz daha büyük ve daha opaktır (75).

Adrenal bez strese yanıt vermede, immün fonksiyonda, kardiyovasküler regülasyon ve metabolizması gibi biyolojik süreçlerde rol alan önemli bir organdır. Adrenal bezlerin ilk olarak detaylıca tanımlanması ve resmedilmesi anatomist Bartholomeus Eustachius tarafından 1563 yılında yapıldı. Bartholomeus adrenal bezleri insanlarda bulunan bir çift organ olarak tarif etti ama fonksiyonunu tam olarak bilmiyordu (76). 1855 yılında Thomas Addison homonimöz hastalığın klinik bulgularını ilk olarak

tanımlayıp adrenal bozuklarla ilişkilendirdiğinde adrenal bezin fonksiyonları üzerinde çalışmalar arttı (77). Adrenal bezlerin önemi 1856 yılında guinea domuzlarında bilateral olarak adrenalectomi yapıp domuzların yaşayamadığı görülünce daha da arttı (78). Alman fizyolojist Arnold ilk olarak adrenal korteksteki zonları keşfeden ve görünümlerine göre zona glomeruloza, zona fasikulata ve zona retikularis olarak adlandıran kişidir (79). 20. yüzyılın başlarına kadar adrenal bezlerin ürettikleri maddeler çok fazla bilinmiyordu. 1901 yılında Takamine ve Abel birbirlerinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda epinefrin ismini verdikleri adrenal medulladan salgılanan maddeyi izole edip kristallendirmişlerdir (80). Böbrek yetmezliği olarak bilinen Addison sendromunun karşıtı olan bozukluk Addison'un tanımından neredeyse 80 yıl sonra 1932 yılında keşfedilmiştir. Harvey W. Cushing ilk olarak hiperadrenokortikizmin hipotalamik-pituar-adrenal aksın bozukluklarından kaynaklandığını göstermiştir (81). Sonraki yıllarda adrenokortikal hormonlar olan kortikosterone, deoksikortikosteron ve kortizoller de izole edilip sentezlendi (82).

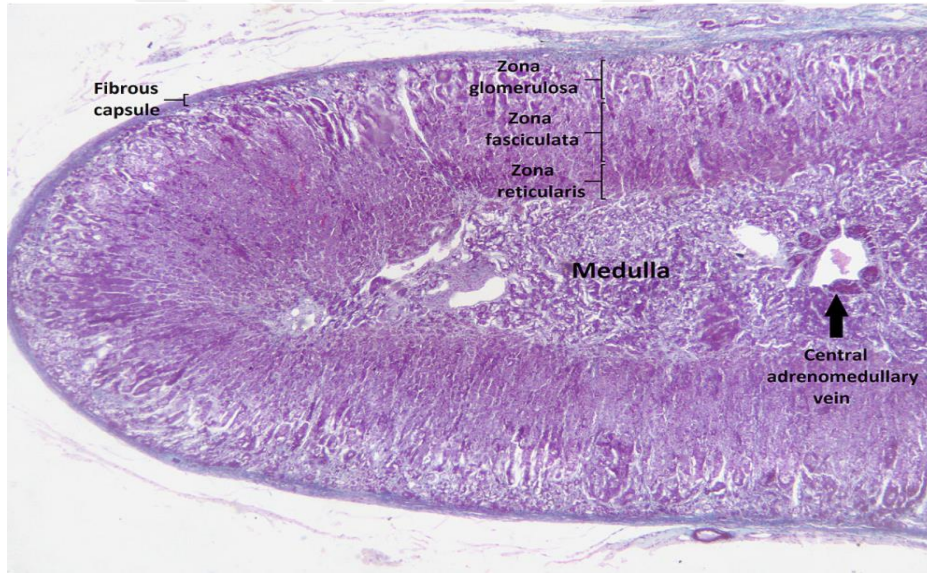
2.3.1 Adrenal bezin histolojik yapısı

Diğer canlılarda olduğu gibi farelerin adrenal bezi de korteks ve medulladan oluşur. Korteks ince bir fibröz kapsülle çevrilidir. Zona glomeruloza, zona fasikulata ve zona retikularis tabakaları farelerin adrenal korteksinde mikroskop düzeyinde ayırt edilebilir. Zona glomeruloza ayrımı zor yapılan yaylar çizen küçük hücrelerden oluşur ve fasiküler zonun kolonlarını oluşturur. Hücreler görece daha geniş çekirdekli biraz bazofilik sitoplazmaya sahiptirler. Aslında küçük kapillerle iyi damarlanmasına rağmen, histolojik kesitlerde bu hücreler kanlı olmasalar çok da ayırt edilemeyebilirler. Zona fasikulata medullaya doğru uzanır ve merkezi olarak yerleşmiş çekirdeklerden oluşan hücrelerden oluşur. Çekirdekler vesiküler olup sitoplazma eozinofiliktir (83).

Adrenal medulla sinuzoidler tarafından ayrılmış küçük düzensiz paketler şeklinde düzenlenmiş homojen polihedral hücrelerden oluşmuştur. Bu hücrelerin sitoplazmaları granüler ve kortikal hücrelerin sitoplazmalarından daha bazofiliktir ve de çekirdekler daha geniş ve merkezi yerleşiktir. Medulla genelde korteksle çevrilidir ama hilusta medulla kapsüler yüzeye kadar uzanabilir (83).

Genç farelerin adrenal bezindeki farklı bir özellik medulla bölgesini saran geçici X zonudur. X zonundaki hücrelerin sitoplazması belirgin olarak zona fasikülatadaki hücrelerin sitoplazmalarından daha bazofiliktir. X zonundaki post-partum yaklaşık 10 gün boyunca sürer ve erkeklerde seksüel olgunluk yaklaşık 5 haftalıkken hızlı bir şekilde vakuolizasyon geçirilmeden kaybolur. Dişilerde, bu zon ilk gebelikte kaybolurken, doğum yapmamış dişilerde 30 haftaya kadar kaybolmayabilir. Bu zon dişilerde erkeklerin aksine vakuolizasyon denilen olay geçirir. X zonu insanlardaki fetal korteksle analogtur (Resim 1) (84).

Nagel adrenal bezi ilk olarak birbirinden bağımsız adrenal korteks ve adrenal medulla olarak iki parça şeklinde tanımlamıştır (85). Embriyogenez esnasında, adrenal bez iki farklı germ tabakasından köken alır: adrenal korteks mezodermden ve adrenal medulla ektodermal nöral krest hücrelerinden gelişir (86).



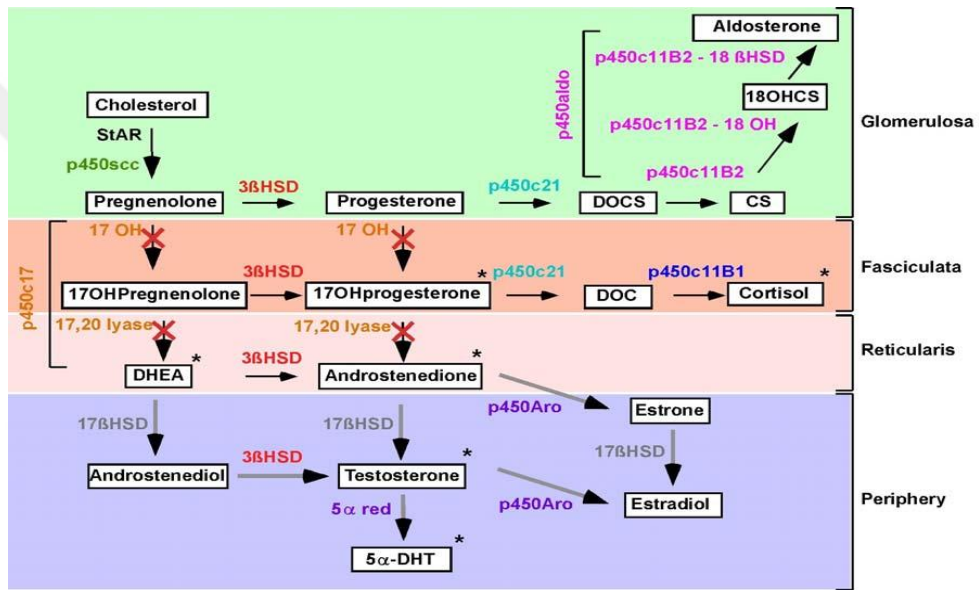
Resim 1: Fare adrenal bezinin enine kesiti (87).

2.3.2 Adrenal bezin fonksiyonları

Adrenal bez bir endokrin organ olduğundan fonksiyonunu salgıladığı hormonlar sayesinde gösterir. Sırasıyla kolesterol ve kolesterol esterler, kortikal steroidlerin ilk temel substratıdır. Kolesterol ve esterlerinin dönüşümleri ve modifikasyonu boyunca, her zonda ilgili steroid hormonlar sentezlenir.

Zona glomeruloza aldosteronun, özellikle mineralokortikoidin kaynağıdır. Aldosteron böbreğin iki ana bölgesinde görev alır: distal böbrek tübüllerinde ve toplama

kanallarında. Distal böbrek tübüllerinde aldosteron mineralokortikoidlerin reseptörlerine bağlanır. Böylece, luminal membranın potasyum ve sodyuma geçişini arttırıp Na^+/K^+ iyon pompalarını aktive ederek kana sodyum ve suyu reabsorbe ederken potasyumu ürinin içine salgılar. Aldosteron bu şekilde tuz homeostazisinin ve sıvı dengesinin önemli bir regülatörüdür. Aldosteron ve primer kontrol sistemi, yani renin-anjiyotensin sistemi, bu mekanizma ile de kan basıncını etkileme potansiyeline sahiptir. Toplama kanallarında aldosteron hidrojen ve amonyum iyonlarının sekresyonunu uyarır. Böylece, aldosteron asit/baz dengesinin majör kontrol birimidir denilebilir (89).



Şekil 5: İnsan adrenal korteksinde steroidogenez. Resimde üzerine kırmızı çarpı atılmış oklar fareler tarafından kullanılmayan yolları temsil ediyor. Resim Keagen ve Hammer'dan alınmıştır (88).

Glukokortikoidler kortizol, kortikosteron ve deoksikortikosteron zona fasikulatadan salgılanırlar. Glukokortikoid hareketleri çok farklıdır ve glukokortikoid reseptörleri memelilerde tüm çekirdekli hücrelerde bulunur (90). Glukokortikoidler isimlerini glukoz metabolizmasını etkilediklerinden dolayı almışlardır. Glukokortikoidler glukoneogenezi farklı mekanizmalar aracılığı ile etkilerler: a) glukozun ilgili enzimlerinin ekspresyonun artmasının sonucunda aminoasitlerin ve lipidlerin sentezini uyarmak, b) substrat rezervini sağlamak için aminoasitleri mobilize etmek, c) yağ veya kas dokusunda glukoz alımını durdurmak, d) yağ dokusunda yağların yıkımını (lipoliz) uyarmak. Metabolik fonksiyonlarına ek olarak, glukokortikoidler anti-

inflammatuvar ve immuno-supresif özelliklere sahip olduğundan ve enfeksiyona karşı konak savunmasında kritik olduklarından immün sistemi etkileme özelliklerine de sahiptir (91). Bu farmakolojik etki glukortikoidlerin 1930 yılındaki keşfinden beridir ilaç sanayinde kullanılıyor. Bunların terapatik uygulamaları alerjilerin, oto-immun hastalıkların ve hatta farklı kanser tiplerinin tedavisi için avantajlı bir durumdur. Glukortikoidlerin gelişen akciğerler veya gonadların gelişimini de etkiledikleri için aynı zamanda fetal yaşamı da etkilerler (92). Androjenlerin alt grubu zona retikülaris tarafından salgılanır. İki ana androjen dehidroepiandrosteron (DHEA ve sülfatlı formu DHEA-S) ve androstenedion (Andro). Her ikisi de periferde testosterona ve östradiola dönüşmede substrat olarak rol alabilir (88). Medulladan salgılanan katekolaminler epinefrin ve norepinefrin klasik akut stres hormonlarıdır ve ‘kaç veya savaş’ hormonları olarak görev yaparlar. Bu hormonlar kardiyovasküler sistemi kontrol edip (arttırılmış kardiyak sonuçları, deri ve bağırsaklarda vazokonstriksiyon, bacak kaslarında arteriyollerin vazodilasyonu) oksijen alımını artırır ve glukoz formunda enerjiyi kana sağlar. Norepinefrin ayrıca hormonal olmayan fonksiyona sahiptir ve nörotransmitter olarak görev yapabilir (93). Adrenal bezin çoklu fonksiyonları göz önüne alınırsa ilginç olacak ama bilateral tamamen adrenaloktemi edilen bir insanın da çoğu durumda yaşayabildiği ve post-adrenaloktemize hayata günlük tedavi ile iyi uyum sağlanabildiği görülmüştür (94).

2.3.3 Fare adrenal bezinin türüne özgü özellikleri

Kemirgen adrenal bezinin genel özelliği olan cinsiyete-bağlı boyut farklılığı Hatai tarafından keşfedilmiştir (95). Dişi farelerde, adrenal bezler bariz derece erkeklerinkinden daha büyüktür. (83). Son çalışmalara göre adrenal bezdeki 17 α -hidroksilaz ekspresyonu yoktur. Bu yüzden farelerdeki ve aynı zamanda kemirgenlerdeki adrenal bezlerde adrenal androjenlerin sekresyonu yoktur (88). Memelilerde, adrenal korteksin baskın steroidi kortizoldur. Farelerde 17 α -hidroksilaz ekspresyonunun olmaması kortizol sentezinin olmamasına yol açmıştır. Fare adrenal korteksinin belirgin özelliği X-zonu diye adlandırılan fetal adrenal zonun kalıntısıdır (96). X-zonunun fonksiyonel önemliliği hala belirsizdir ve tartışmaya açıktır (88, 97-99). Erkeklerde bu zonun tam olarak dejenerasyonu pubertede görülürken, dişide bu zon ilk gebeliğe kadar devam eder ve hemen sonrasında kaybolur (100).

2.3.4 Adrenal bezin büyümesinin ve fonksiyonun düzenlenmesi

Adrenal bez büyümesi ve fonksiyonu çeşitli faktörlerin kontrolü altındadır. Adrenal bezin büyümesinin ve fonksiyonun temel regülatörü hipofizyal proopimelanokortin (POMC)-türevlenen adrenokortikotropik hormon (ACTH)'dur. Ayrıca, nörotransmitterler, nöropeptidler, sitokinler ve büyüme faktörleri ağını da içeren bir dizi regülatör faktör tanımlanmıştır (4, 101, 102). Aynı zamanda, büyüme hormonu (GH)/insülin benzeri büyüme hormonu (IGF) sistemi adrenal bezin büyüme ve fonksiyonu üzerinde önemli bir rol oynar (91, 103-105). GH ve IGF-I'nin fazla ekspresyonu adrenal ağırlıkta artışa neden olurken (106, 107), IGF'in baskılanması adrenal bezin ağırlığında azalışa neden olmuştur (108, 109). Görünürde, bu regülatör ağların karmaşıklığının daha fazla aydınlatılması lazım çünkü bu ağlardaki bozulma sık sık adrenal bez neoplazilerine ve takiben hastalıklara yol açıyor.

3 GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları Temini

Bu çalışmada 28 adet erkek BALB/c cinsi fare Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DÜSAM) temin edildi. Çalışmaya başlamadan önce Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan (DÜHADEK) gerekli izin alındı (20.10.2017 tarih ve 2017/13 protoko nolu kararı). Hayvanların ortalama ağırlığı 30 gram olup 12 saat aydınlık/12 saat karanlık-sabah 8:00-akşam 8:00, 20±2°C ortamda kontrol altında tutuldu. Hayvanların su ve besine ulaşımı sağlandı.

3.2 Deney Düzenegi

Bu çalışmada 10 haftalık 30 gram ağırlığında 28 adet BALB/C cinsi erkek fare yedişerli 4 gruba bölündü. 1. grup kontrol grubu, 2. grup stres grubu, 3. grup vitamin E'nin grubu, 4. grup ise Vitamin E+stres grubu olarak etiketlendi. Vitamin E (Cat#T325-25G, Sigma, St. Louis, Missouri, ABD) zeytinyağı içinde çözündürülerek farelere orogastrik yoldan verildi. Kontrol ve stres grubuna orogastrik yoldan serum fizyolojik verildi (Tablo 1). Tüm farelerin deneye başlanmadan önce ağırlıkları kaydedildi.

Kontrol grubuna 7 gün süre boyunca sadece 0.1ml/10g hacminde orogastrik yoldan serum fizyolojik uygulaması yapıldı. Bu gruba başka herhangi bir müdahale yapılmadı.

Stres grubunda her immobilizasyon stresi işleminden 1 saat önce 7 gün süre boyunca sadece 0.1ml/10g hacminde orogastrik yoldan serum fizyolojik uygulaması yapıldı. Bu gruptaki farelere immobilizasyon stresi için boyutu kadar dar bir alanda hareketsiz kalmaları sağlanacak şekilde özel bir kafese konuldu. Bu işlem günde 6 saat 7 gün süre ile uygulandı. Bu işlemden sonra fareler 40 dakika boyunca dinlenme kafesinde kalıp tekrar normal kafeslerine alındı.

Vitamin E grubuna 7 gün boyunca 30 mg/kg/gün dozunda, 10 grama 0.1 ml hacminde vitamin E zeytin yağı içinde çözündürülerek orogastrik yoldan verildi. Bu işlemden sonra fareler 40 dakika boyunca dinlenme kafesinde kalıp tekrar normal kafeslerine alındı.

Vitamin E+stres grubuna her immobilizasyon stresi işleminden 1 saat önce 30 mg/kg/gün dozunda, 10 grama 0.1ml hacminde vitamin E orogastrik yoldan 7 gün

boyunca farelere verildi. Bu gruptaki farelere immobilizasyon stresi için boyutu kadar dar bir alanda hareketsiz kalmaları sağlanacak şekilde özel bir kafese konuldu. Bu işlem 7 gün boyunca, günde 6 saat süre ile uygulandı. Bu işlemden sonra fareler 40 dakika boyunca dinlenme kafesinde kalıp tekrar normal kafeslerine alındı.

Tablo 1: Deneyde kullanılan gruptaki farelere verilen serum fizyolojik ve vitamin E'nin oranını göstermektedir.

Grup Adı	Hayvan Sayısı	Verilen madde (ml/gram, orogastrik)	İşlem	Süre
Kontrol grubu	7	Serum fizyolojik – 0.1 ml/10 gram	-	7 gün
Stres grubu	7	Serum fizyolojik – 0.1ml/10 gram	İmmobilizasyon stresi	7 gün
Vitamin E grubu	7	Vitamin E – 0.1 ml/10 gram	-	7 gün
Vitamin E+stres grubu	7	Vitamin E – 0.1 ml/10 gram	İmmobilizasyon stresi	7 gün

3.3 Psikofarmakolojik Testler

Yedinci günün sonunda kontrol grubu hariç diğer deney gruplarına açık alan testi, yükseltilmiş-artı labirent testi ve zorunlu yüzme testi sırası ile uygulandı. Test araç gereçleri aşağıdaki gibidir:

- Yükseltilmiş artı testi (Elevated plus maze, MAY EPM01-M)
- Zorunlu yüzme testi (Forced swimming test, MAY FSTM-M)
- Açık alan testi (Open field test, MAY OP-M)
- İmmobilizasyon düzeneği
- Hassas terazi (Sartorius BP 1215)
- Santrifüj cihazı (Janetzki T5)
- Cerrahi alet seti
- Bilgisayar
- Ethovision XT 11 (Noldus Inf. Tech. Netherlands) bilgisayar programı

3.3.1 Açık alan testi

Bu test daha önce Carli ve arkadaşları ile Lemoine ve arkadaşlarının belirtildiği prosedürlere göre yapıldı (110, 111). Kısaca, 90x90x38 cm ebatlarında tahtadan yapılmış üstü açık, duvarları siyah, tabanı 1 cm lik siyah çizgilerle 17x17 cm lik 25 kareye bölünmüş beyaz boyalı bir kutuda fareler ilk olarak bir köşeye bırakıldı. Fareler dijital kamera ile işaretlenip 5 dakika süre EthoVision® uygulaması ile perifer/merkez dolaşım hareketleri gözlenerek anksiyete ve motor fonksiyon sonuçları

değerlendirildi. Perifer/merkeze giriş sayıları, farelerin bu alanlarda geçirdiği süreler ve giriş çıkış sayıları analiz edildi. Açık alan testinden sonra fareler 40 dakika boyunca dinlenme kafesine alındıktan sonra normal kafeslerine konuldu (Resim 2).



Resim 2: Açık alan testi.

3.3.2 Yükseltilmiş artı-labirent testi:

Bu test Pellow ve arkadaşlarının (112) daha önce yaptıkları çalışmaya göre uygulandı. Fareler yükseltilmiş artı-labirent denilen her biri 75 cm uzunluğundaki dört kolu olan iki kolu açık iki kolu kapalı yerden 50 cm yükseklikteki düzenek içinde EthoVision® dijital uygulaması ile 5 dakika boyunca kamera ile gözlendi. Loş ışıkta yapılan teste labirentin tabanı beyaz, iki kolu açık tutulup iki kolu opak siyah cisimle kapatıldı. Fareler merkeze konulup kapalı kol/açık uçlara yönelim hareketleri incelenip anksiyete ve motor fonksiyon sonuçları kaydedildi. Farelerin açık/kapalı uçlarda harcadığı zaman, açık/kapalı uçlara giriş sayıları incelenerek değerlendirme yapıldı (Resim 3).



Resim 3: Yükseltilmiş artı testi.

3.3.3 Zorunlu yüzme testi:

Bu test Burgin ve arkadaşlarının (113) daha önce yaptıkları çalışmaya göre uygulandı. Fareler dijital kamera ile işaretlenip 6 dakika süre ile yarıçapı 30 cm, yüksekliği 45 cm, 2/3'ü su (su sıcaklığı $23\pm1^{\circ}\text{C}$) dolu olan bir silindirde yüzdürüldü. İlk 2 dakikadan sonra, hayvan davranışlarındaki hareketli/hareketsiz zaman dilimleri EthoVision® programı ile kaydedildi ve hayvanın depresyon düzeyi değerlendirildi. Yüzme testinden sonra fareler kurumaları için 40 dakika boyunca dinlenme kafesine alındıktan sonra normal kafeslerine konuldu (Resim 4).

Zorunlu yüzme testinden sonra tüm hayvanların ağırlıkları kaydedilerek aynı saat diliminde anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen farelerin sol böbrek üstü bezleri disseke edilerek üstündeki yağ dokusu atılıp tartılarak kaydedildi.



Resim 4: Zorunlu yüzme testi.

3.4 Morfometrik Ölçümler

a) Total vücut ağırlığı: Deneye başlamadan ve deney sonrası farelerin total vücut ağırlıkları tartılarak ölçülerek kaydedildi.

b) Korteks ve medulla kalınlığı: Korteks ve medulla kalınlığı oküler mikrometre ile ölçülerek kaydedildi.

e) Kapsula kalınlığı: Azan ile boyanan adrenal bez kesitlerinde kapsula kalınlığı oküler mikrometre ile ölçülerek kaydedildi.

3.5 Histolojik Takip

Deneyden hemen sonra fareler tartıldı ve farelere deney sonrası açık alan testi, yükseltilmiş artı-labirent testi ve zorunlu yüzme testi uygulandıktan sonra sakrifiye edildiler. Işık mikroskopunda incelenmek üzere sol adrenal bezleri disseke edilerek Bouin solüsyonunda fikse edilerek parafin takibine alındı. Elde edilen parafin bloklardan rotari mikrotomuyla (Leica R52265 Germany) 5 mikrometre kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitlere hematoksilin-eozin (H-E) ve Mallory Azan (cat#04-020802, Bioptica, Milano, Italy) boyama protokolü uygulandı. Elde edilen preparatlar Zeiss imager A2 ışık mikroskopunda değerlendirilerek fotomikrografları çekildi.

3.5.1 Hematoksilin-Eozin boyama protokolü

1. Alınan kesitler ksilende 2x15 dakika bekletilerek deparafinize edilip şeffalaştırıldı.

2. Kesitler azalan alkol serilerinden sonra distile suya getirildi.
3. Çekirdek boyaması için Harris Hematoksilen solüsyonunda 7 dakika boyunca kesitler tutuldu.
4. Akarsuda 5 dakika kadar bekletildikten sonra %90'lık etil alkole kesitler daldırıldı.
5. Zıt boyama olarak kesitler %1 alkolik eozin de 2 dakika boyunca bekletildi.
6. Kesitler artan alkol serilerinde hızlı bir şekilde daldırma işleminden ksilende 2x15 dakika bekletildi.
7. Kesitler entellan ile kapatıldı.

3.5.2 Mallory Azan boyama kiti protokolü

1. Kesitler ksilende deparafinize edilip azalan alkol serilerinden geçirilip distile suya getirildi.
2. Reagent A'dan 10 damla dökülüp 10 dakika beklenildi.
3. Kesitler distile suda yıkandı.
4. Reagent B'den 10 damla dökülüp 2 dakika beklenildi.
5. Kesitler çeşme suyunda hızlıca (2-3 saniye boyunca) yıkandı ve Reagent C'den 10 damla dökülüp 5 dakika beklenildi.
6. Kesitler yıkanmadan üzerlerindeki Reagent C dökülüp direk olarak 10 damla Reagent D'den damlatılıp 1 dakika beklenildi.
7. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra artan alkol serileri boyunca hızlı bir şekilde dehidrate edildi.
8. Kesitler ksilende temizlendikten sonra entellan ile kapatıldı.

3.6 İstatistiksel Analiz

Dört farklı grubun ortalamalarını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi kullanıldı (ANOVA). Grup ortalamaları farklı bulunduğu ikişerli grup karşılaştırmaları için Post-Hoc yöntemi uygulandı.

Her bir alt grupta 30'dan az denek sayısı olduğundan Student's t testi ve ikişerli grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bu analizler SPSS 24 istatistik programıyla yapıldı.

4 BULGULAR

4.1 Psikofarmakolojik Bulgular

Açık alan testinde toplam kat edilen mesafe, hız, merkeze giriş sayıları ve merkezde geçirilen süre bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir.

Zorunlu yüzme testi'nde hareketsiz geçirilen zamanlar bakımından, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında stres grubunda anlamlı artış gözlemlenmiştir.

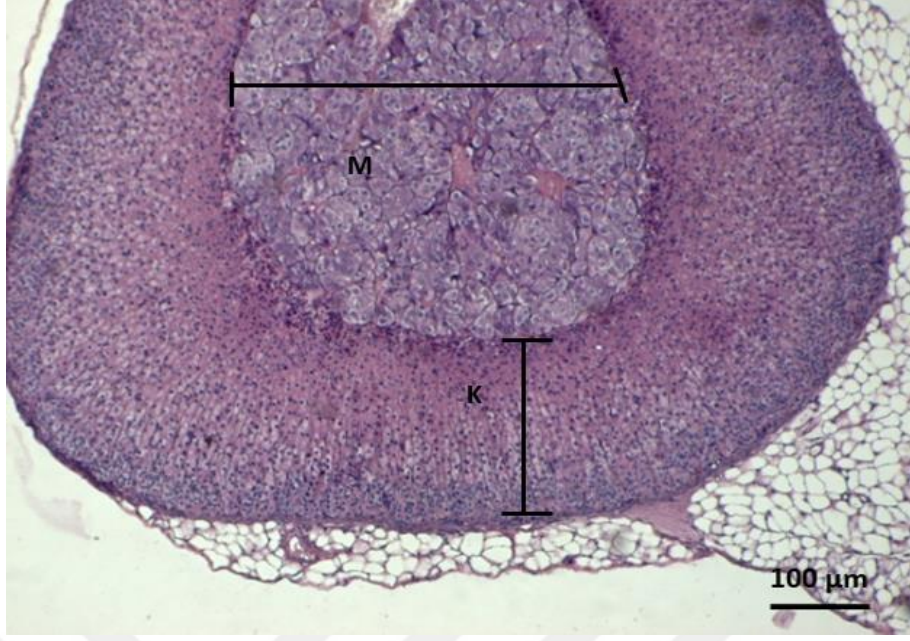
Yükseltilmiş artı labirent testi açık alana giriş sayılarının yüzdeleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir. Yükseltilmiş artı labirent testi açık alanda geçirilen süre yüzdeleri bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, stres grubunda azalma gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Yükseltilmiş artı labirent testi toplam katdedilen mesafe bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir.

4.2 Histopatolojik Bulgular

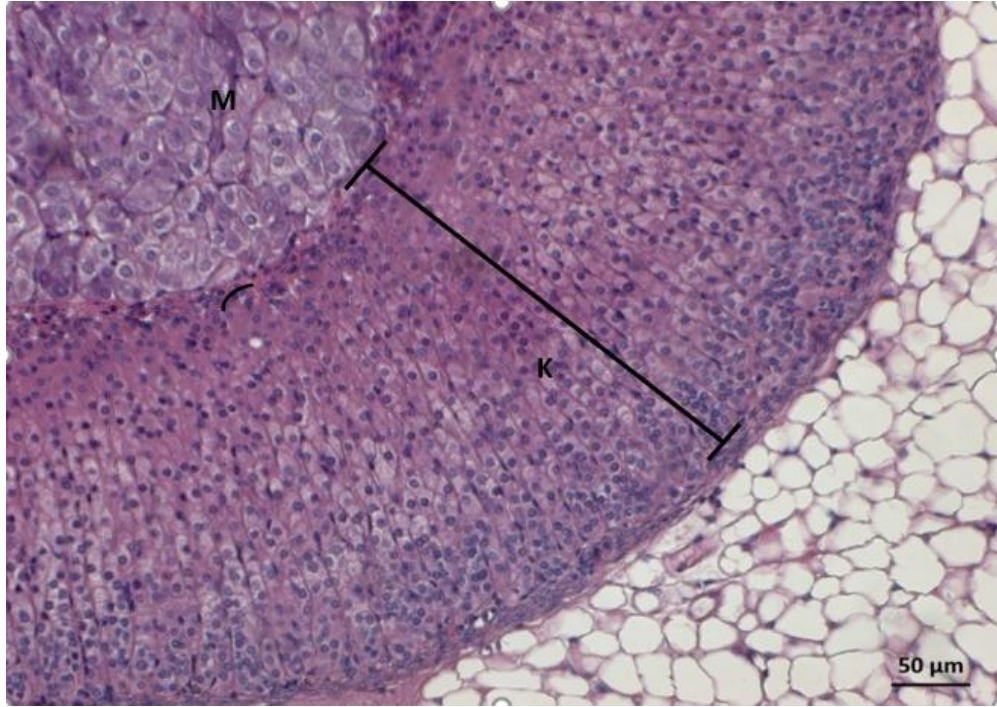
4.2.1 Kontrol grubu histopatolojik bulguları

Adrenal bezi çevreleyen fibröz bir kapsül, farklı hücre dizilimi gösteren korteksin zona glomeruloza, zona fasikülata ve zona retikulariste normal histolojik yapı izlendi. Zona glomerulozada yoğun hücre çekirdeklerinin yanı sıra dış kortikal zonda mitotik figürler kaydedildi.

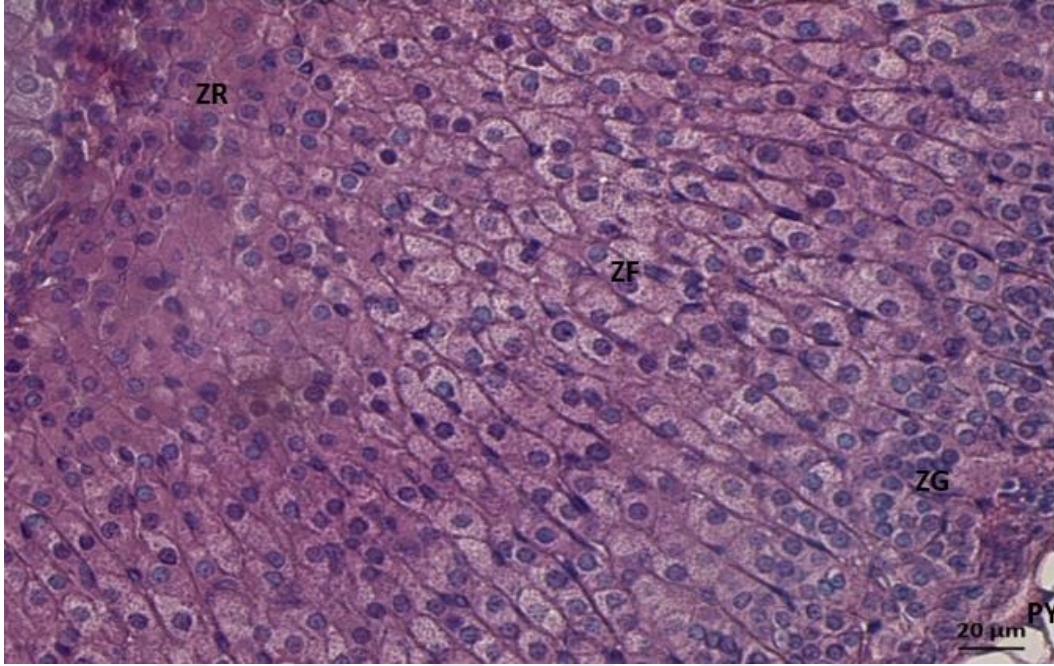
Zona fasikülatanın hücre sitoplazmalarında orta düzeyde yağ damlacıkları izlenirken, zona retikularis de normal histolojik yapıda izlendi (Resim 5-9).



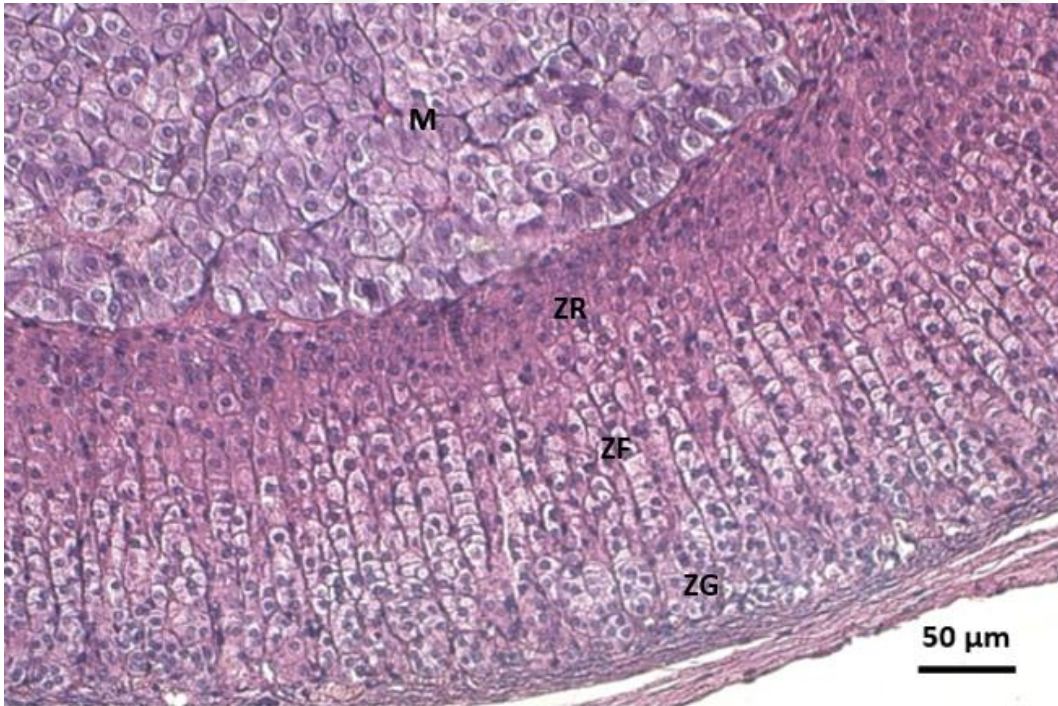
Resim 5: Kontrol grubu fare sürrenal kesintisinde korteks (K) ve medullanın (M) normal histolojik görünümü (H-E, Bar: 100 µm).



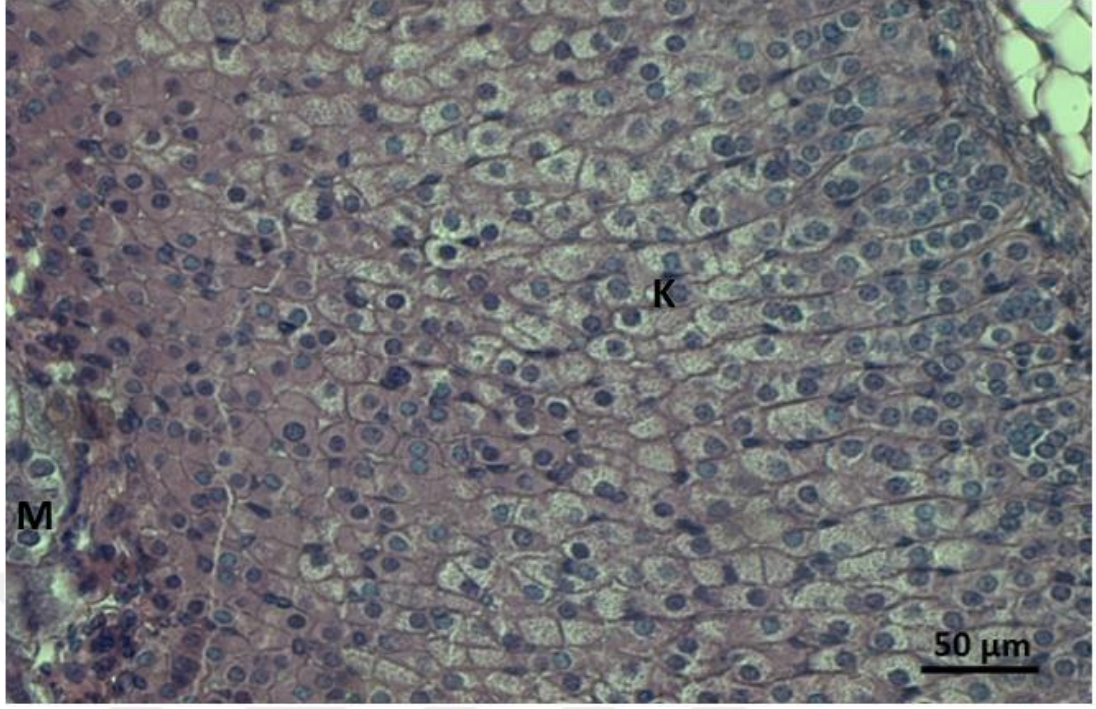
Resim 6: Kontrol grubu fare sürrenal kesitinin korteks (K) ve medullanın (M) büyük büyütmedeki görünümü (H-E, Bar: 50 µm).



Resim 7: Kontrol grubu adrenal korteksin normal zonasyonu izlenmektedir. Zona glomeruloza (ZG), zona fasikülata (ZF), zona retikularis (ZR), periferyk yağ (PY), (H-E, Bar: 20 µm).



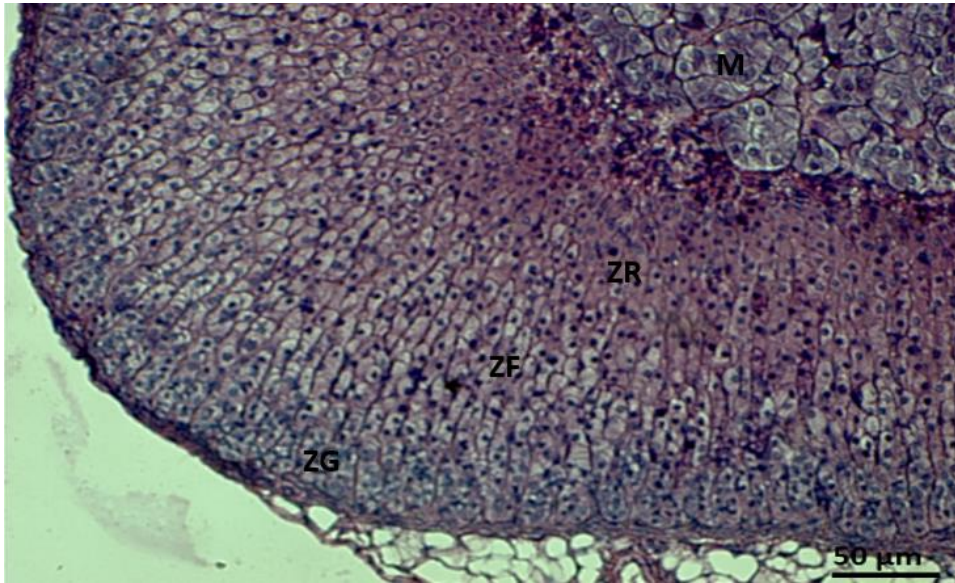
Resim 8: Kontrol grubu adrenal korteks zonasyonu durumu ve kısmen medulla izlenmektedir. Zona glomeruloza (ZG), zona fasikülata (ZF), zona retikularis (ZR), medulla (M) ve periferyk yağ (PY), (Azan, Bar: 50 µm).



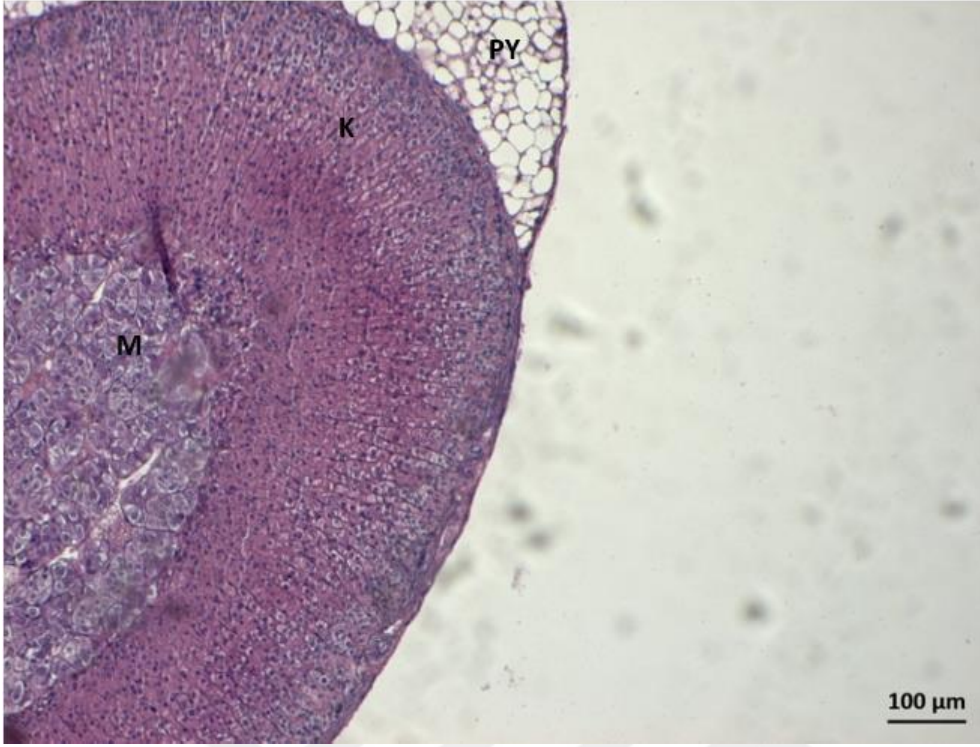
Resim 9: Kontrol grubu adrenal korteks (K) ve kısmen medulla (M) görünümü, (H-E, Bar: 50 µm).

4.2.2 Vitamin E grubu histopatolojik bulguları

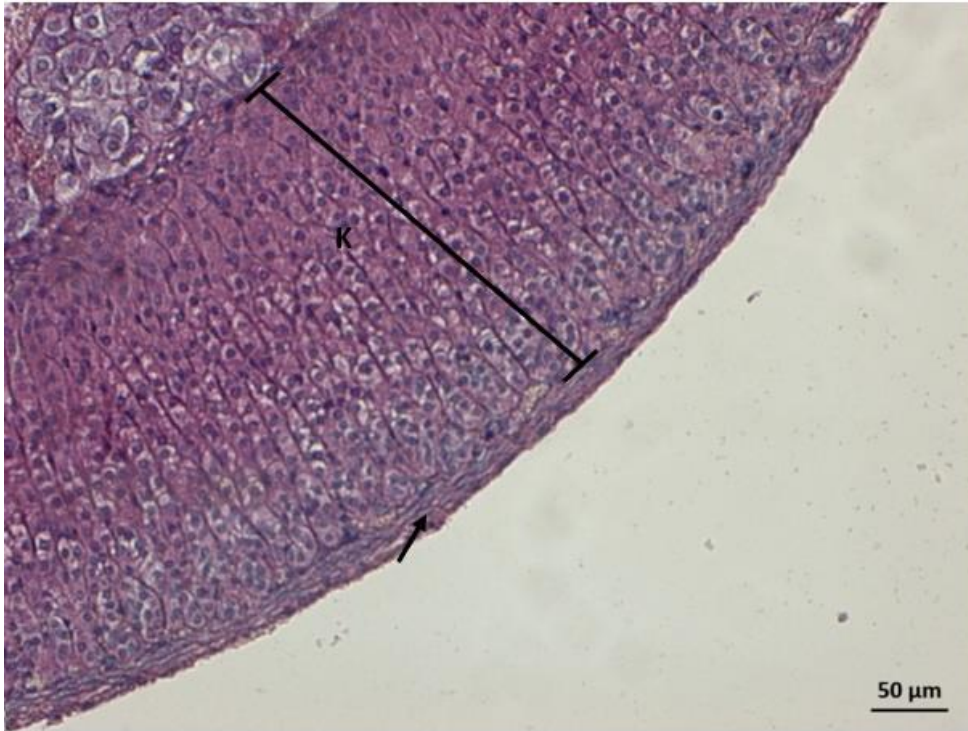
Yedi gün boyunca 30 mg/kg/gün dozunda vitamin E verilen farelerin sürrenal kesitlerinde kapsüla, korteks ve medullanın normal histolojik yapıda olduğu izlendi (Resim 10-14).



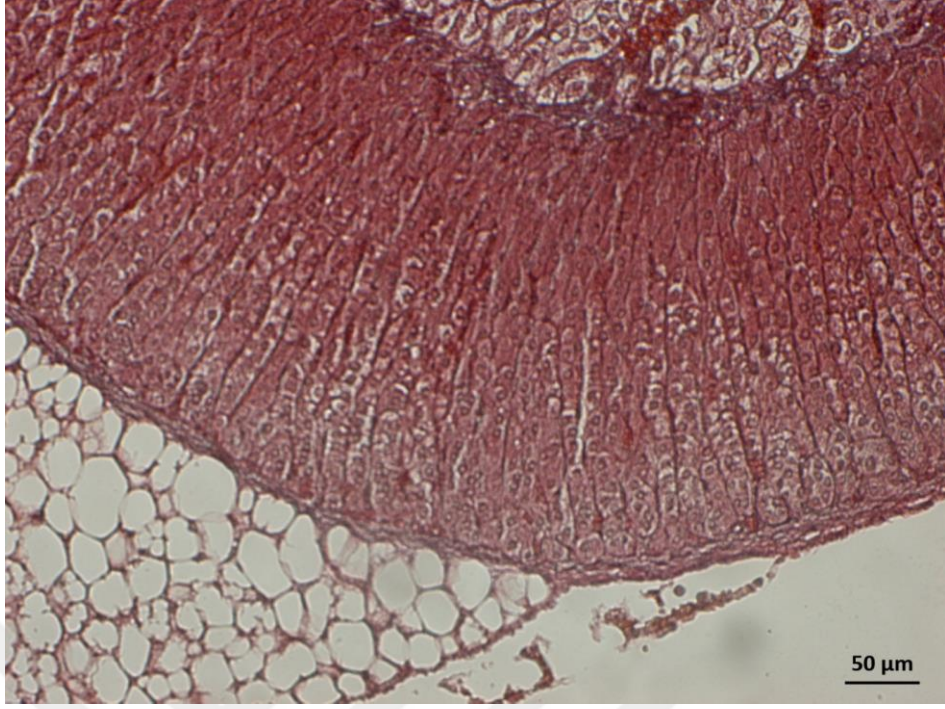
Resim 10: Vitamin E grubu adrenal korteks bölgelerinden zona glomeruloza (ZG), zona fasikülata (ZF), zona retikularis (ZR) ve medulla (M) izlenmektedir (H-E, Bar: 50 µm).



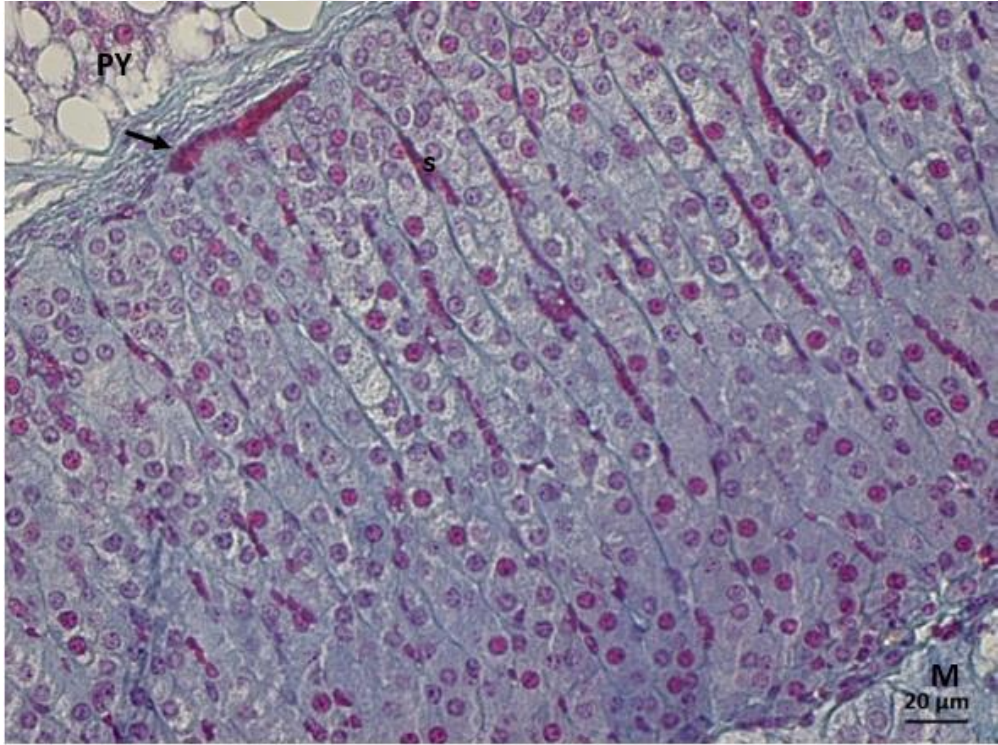
Resim 11: Vitamin E grubu sürrenal kesitinde korteks (K), medulla (M) ve periferik yağ dokusu (PY) izlenmektedir (H-E, Bar: 100 µm).



Resim 12: Vitamin E grubu sürrenal kesiti. Kapsüla (ince ok) ve adrenal korteks (K) normal histolojik yapıda incelenmektedir. (Azan, Bar: 50 µm).



Resim 13: Vitamin E grubu adrenal korteksi normal yapıda izlenmektedir. (Azan, Bar: 50 µm).



Resim 14: Vitamin E grubu sürrenal kesiti. Büyük büyütmede periferik yağ (PY), kapsüla (ince ok), korteks (K) ve sinüzoidler (s) ve medullanın (M) normal histolojik görünümü (Azan, Bar: 20 µm).

4.2.3 Stres grubu histopatolojik bulguları

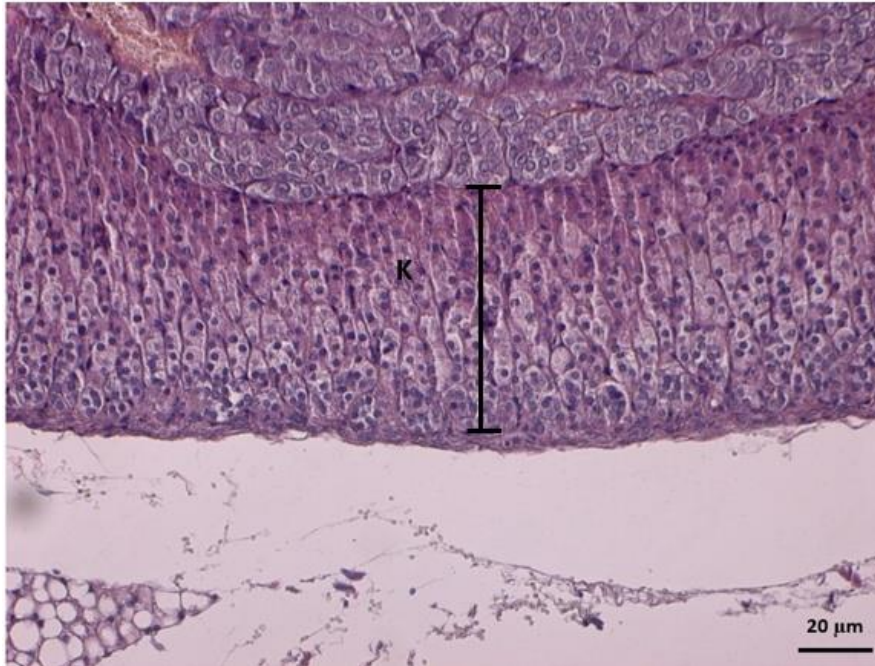
Günde 6 saat 7 gün süreyle immobilizasyon stresi uygulanan farelerin H-E ile boyanan sürrenalleri incelenmesinde ilk göze çarpan bulgu adrenal kortekste atrofi; buna karşın medullanın hipertrofi gösterdiği saptandı (Resim 15, 17). Kortekste atrofi her üç zonda görülmekle birlikte özellikle zona fasikülata belirgin olarak izlendi (Resim 16, 17).

Stres grubuna ait bazı kesitlerde adrenal kortekste açık ve koyu bölgeler seçilmekteydi. Açık bölgelerdeki hücreler yağ damlacıkları içerirken; koyu bölgelerdeki korteks hücreleri yağ damlacıklarından yoksundu (Resim 18).

Kapsülünün hemen altında zona glomeruloza tabakası kontrol grubuyla karşılaştırıldığında zona glomerulozada nispi bir azalma ile birlikte granuloza hücrelerinin hipertrofik ve kondanse çekirdekler içerdiği izlendi (Resim 19).

Genel olarak hem kortekste hem medullada kapiller dilatasyon, damar duvarında incelme ve hemoraji izlendi (Resim 16, 17, 19, 20).

Azan ile boyanan sürrenal kesitlerinde kapsülada incelme, korteks ve medullada minimal düzeyde interstisyel fibrozis izlenirken, kortikomedullar bölgede kollajen artışına bağlı yoğun fibrozis saptandı (Resim 21, 23).



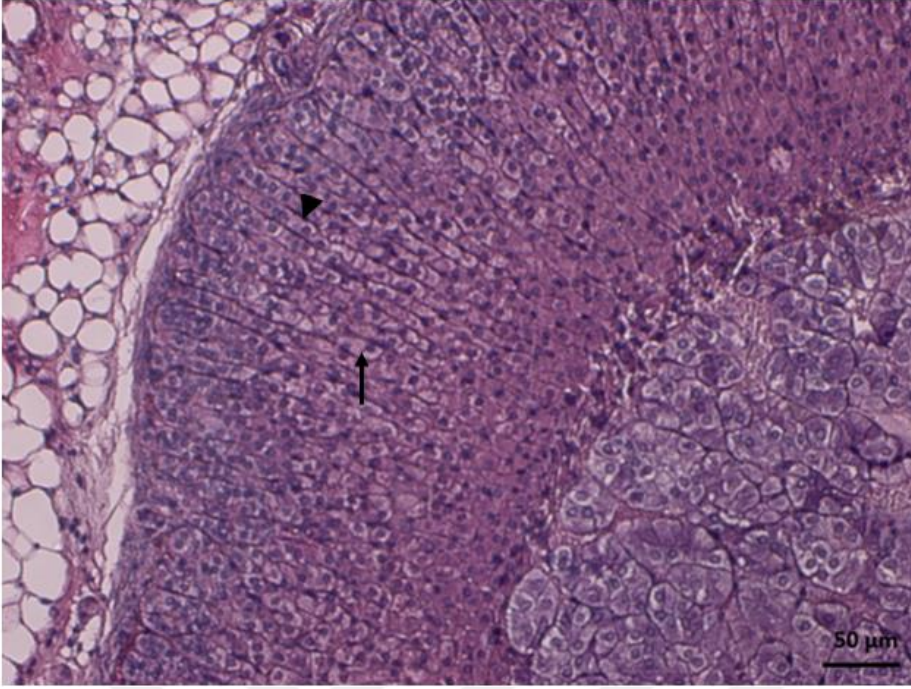
Resim 15: Stres grubu sürrenal kesitinde adrenal kortekste (K) atrofi. (H.E, Bar: 20 µm).



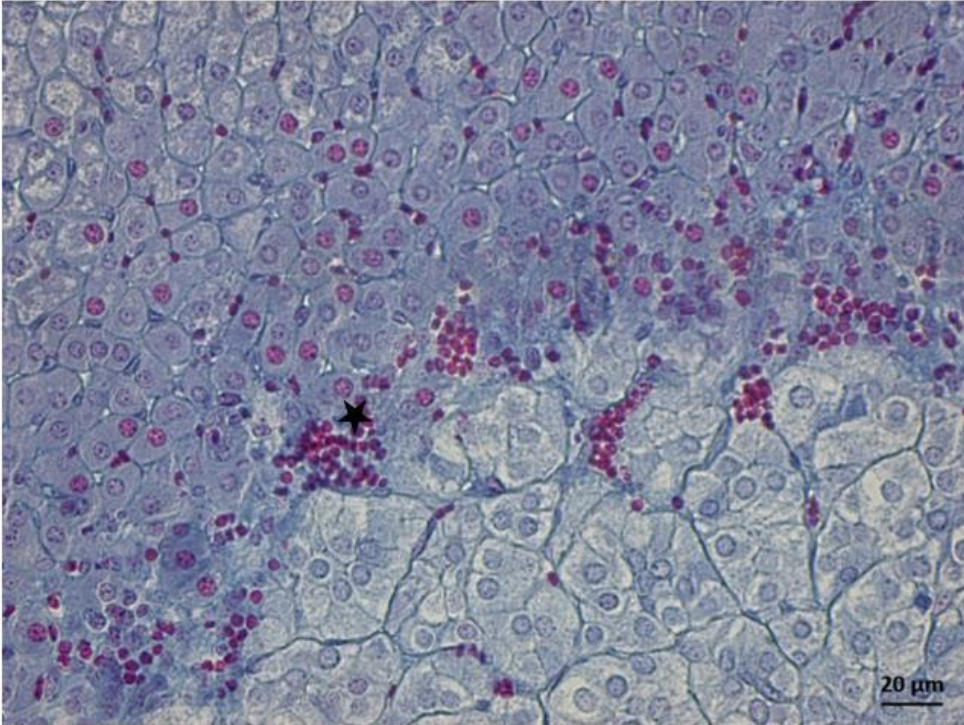
Resim 16: Stres grubu sürrenal kesitinde medullar damarlarda dilatasyon (asteriks). (Azan, Bar: 50 µm).



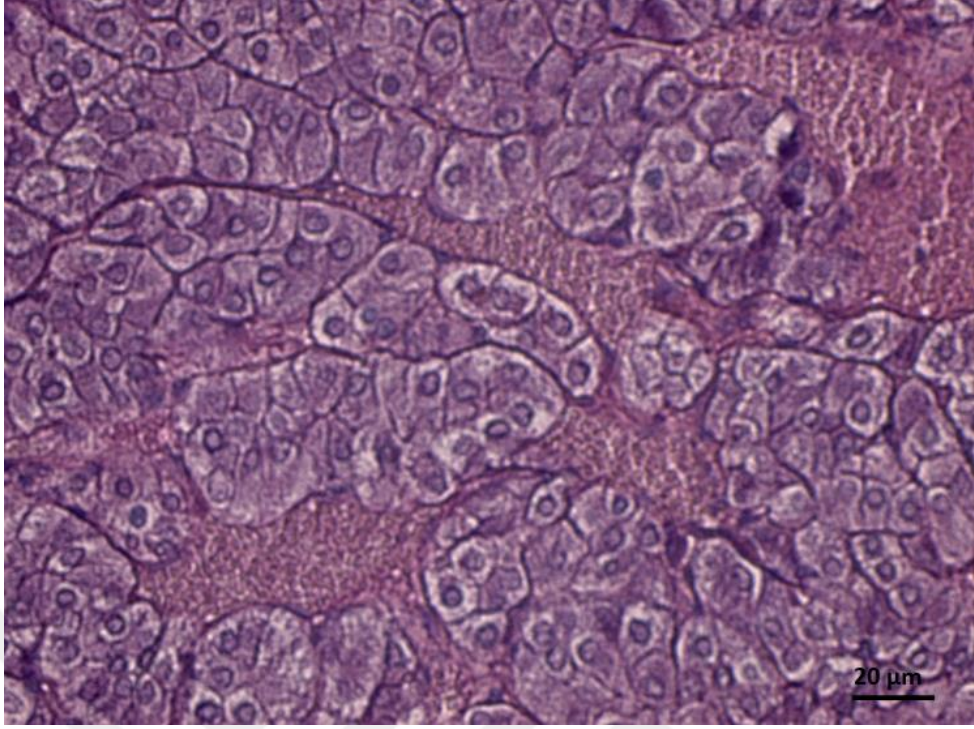
Resim 17: Stres grubu sürrenal kortekste atrofinin yanısıra medullada (M) hipertrofi izlenmektedir. (Azan, Bar: 50 µm).



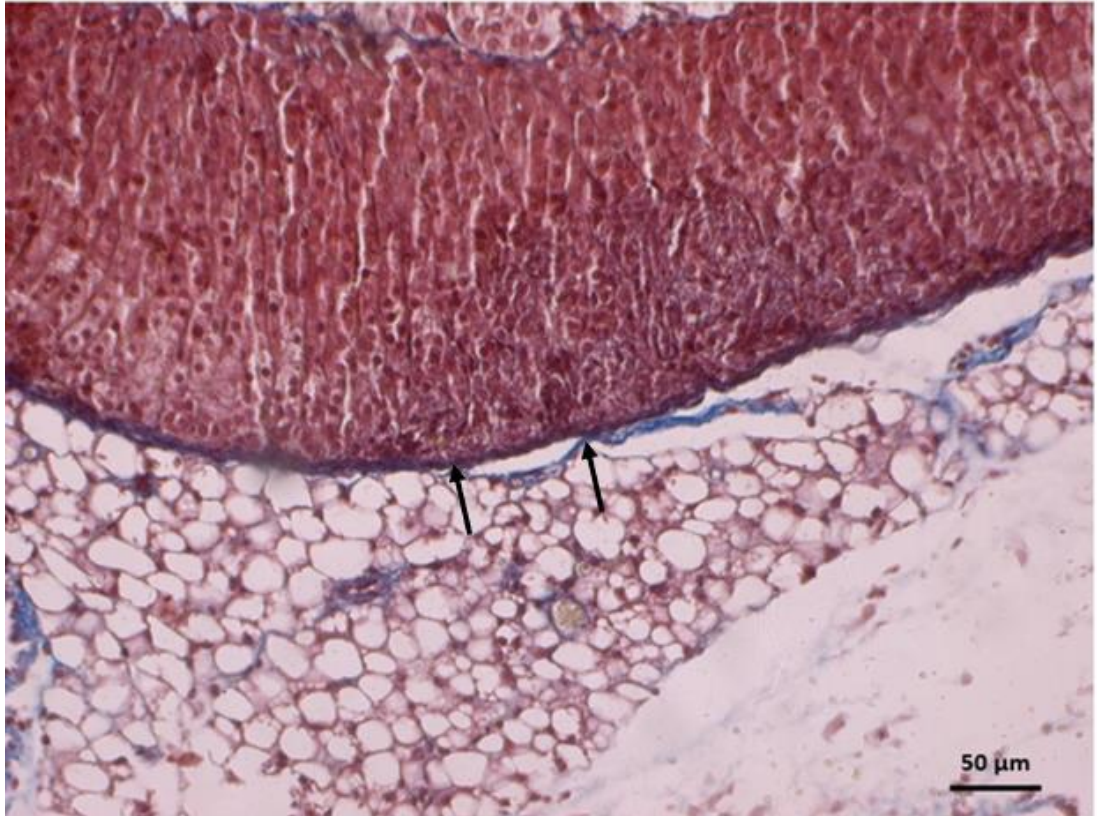
Resim 18: Stres grubu adrenal kortekste açık (ok başı) ve koyu (kalın ok) bölgeler izlenmektedir. (H-E, Bar: 50 µm).



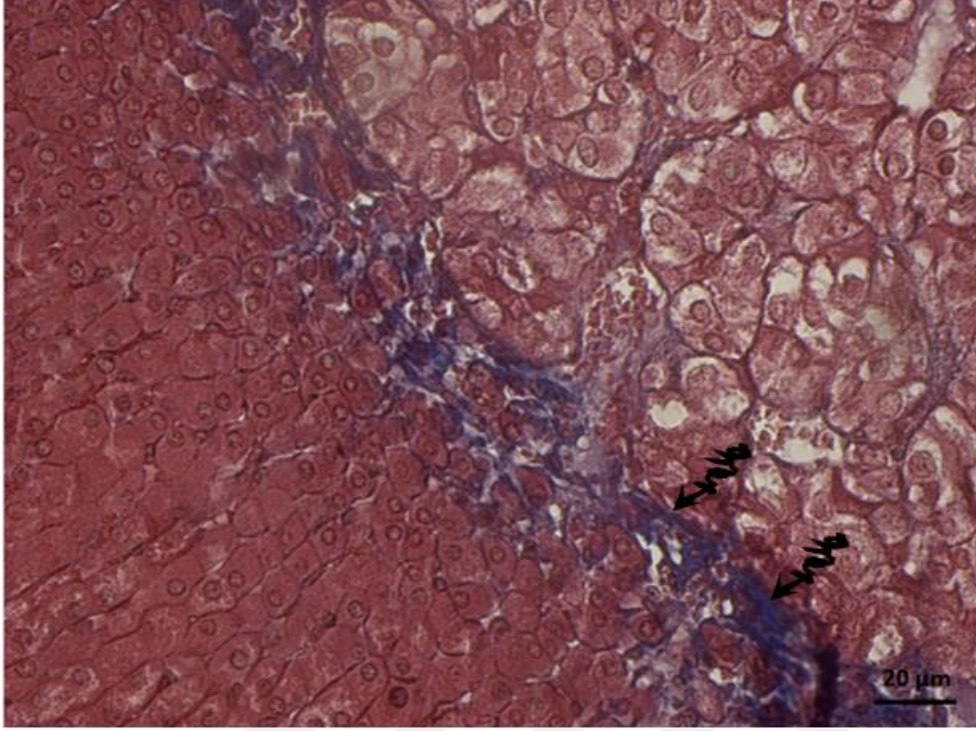
Resim 19: Stres grubu adreno kortikomedullar bölgede hemoraji (yıldız) (Azan, Bar: 20 µm).



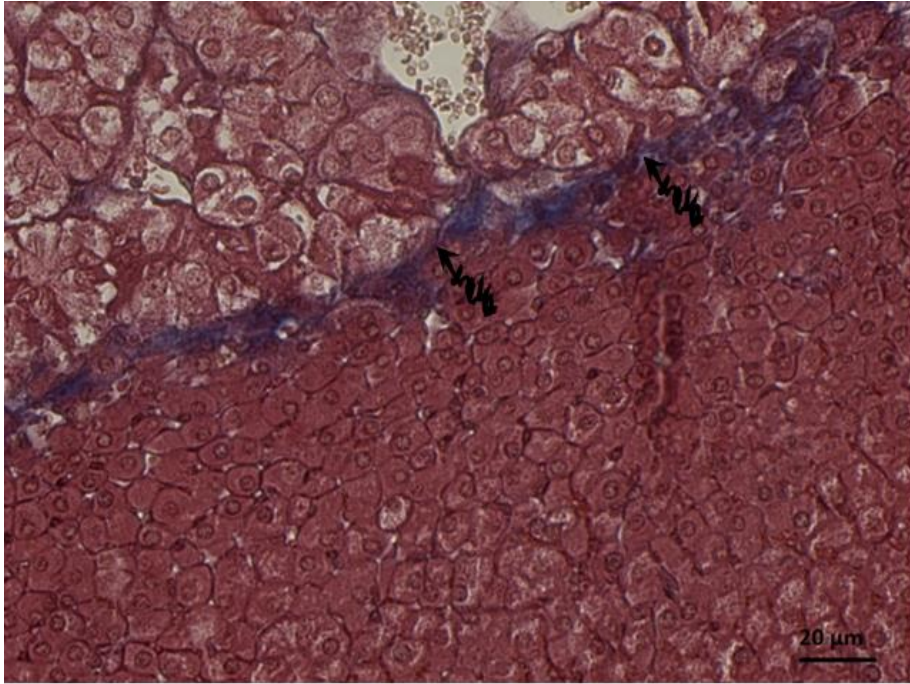
Resim 20: Stres grubu adrenal medullar damarlarda dilatasyon (Azan, Bar: 20 µm).



Resim 21: Stres grubu adrenal kapsüllada (ince ok) incelme (Azan, Bar: 50 µm).



Resim 22: Stres grubu adrenal kortikomedullar bölgede kollajen artışına bağlı interstisyel fibrozis (kıvrık ok) (Azan, Bar: 20 µm).

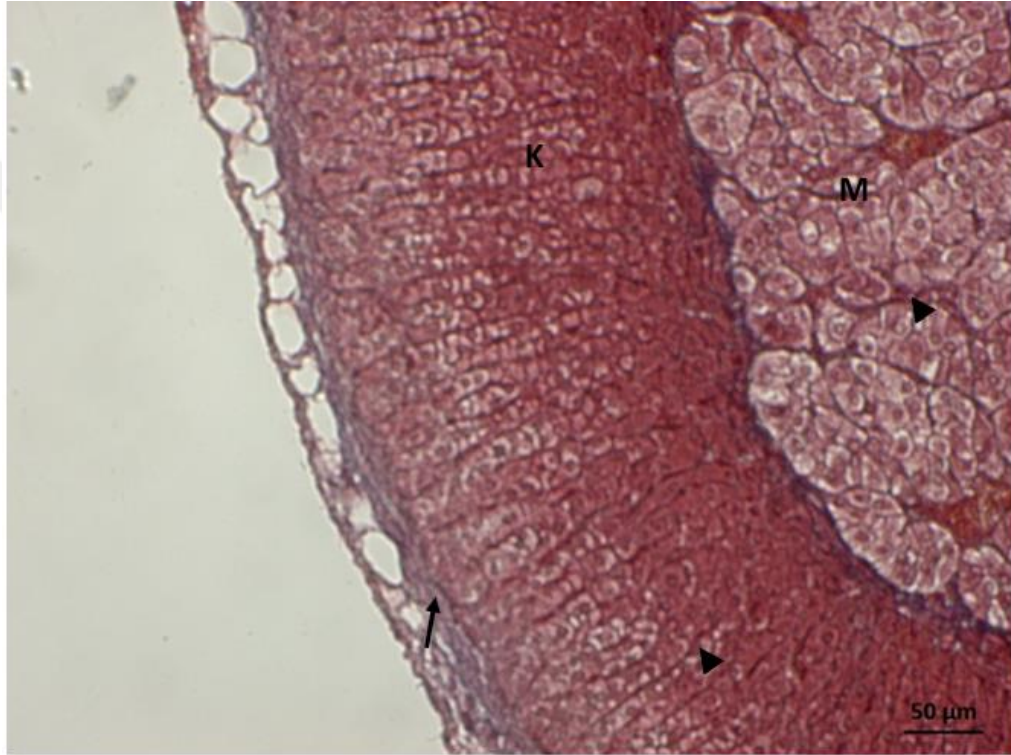


Resim 23: Stres grubu adrenal kortikomedullar bölgede interstisyel fibrozis (kıvrık ok) yanı sıra zona retiküleriste (ZR) hücre artışına bağlı hipertrofi izlenmektedir (Azan, Bar: 20 µm).

4.2.4 Vitamin E+stres grubu histopatolojik bulguları

İmmobilizasyon stresi işleminden önce vitamin E verilen farelerin sürrenal kesitlerinde; genel olarak stres grubuna göre histopatolojik bulguların büyük çapta düzeldiği, ancak interstisyel fibrozisin kısmen devam ettiği gözlemlendi (Resim 24, 25). Ayrıca kortikal sinüzoidlerde dilatasyonun devam ettiği görüldü (Resim 26).

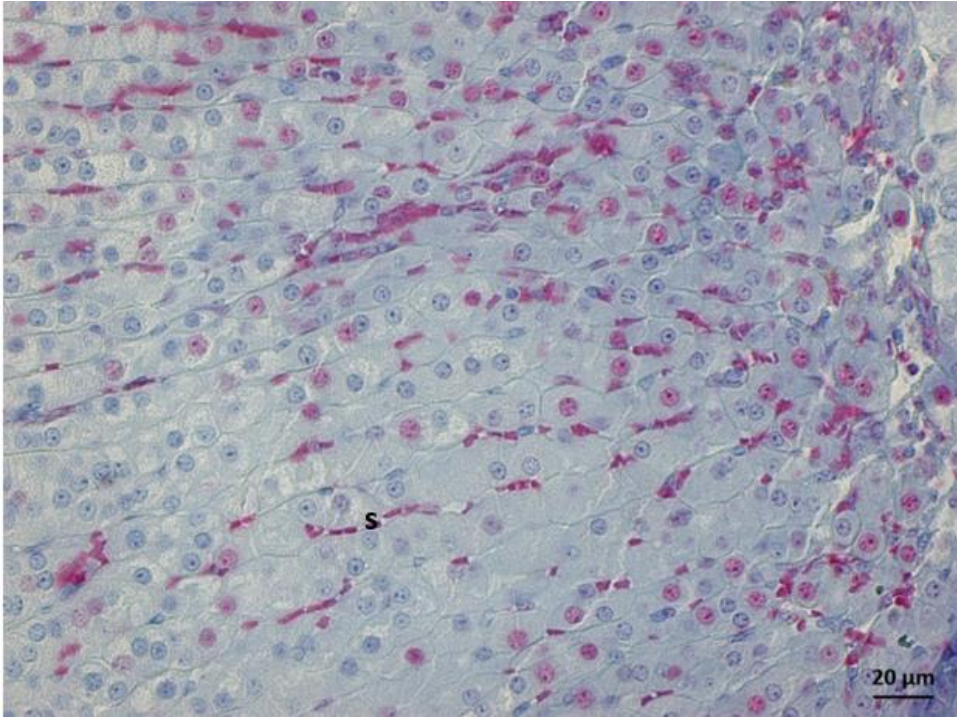
Adrenal korteksin zona glomeruloza, zona fasikülata ve zona retikularisi ile medulla görünümü kontrol grubuna yakın olarak izlendi (Resim 25, 27).



Resim 24: Vitamin E + Stres grubu sürrenal kesitinden minimal düzeyde interstisyel fibrozis (ok başı), kapsüla (ince ok), korteks (K) ve medullanın (M) normale yakın olduğu izlenmektedir (Azan, Bar: 50 µm).



Resim 25: Vitamin E + Stres grubu sürrenal kesitinde kortikomedullar bölgede kısmi interstisyel fibrozis (çifte ok) ve medullar damarda tromboz (üçgen) ve periferik yağ dokusu (PF) görülüyor (Azan, Bar: 100 µm).



Resim 26: Vitamin E + Stres grubu adrenal korteks sinüzoidlerinde (s) dilatasyon (Azan, Bar: 20 µm).



Resim 27: Vitamin E + Stres grubu adrenal bezin normale yakın histolojik görünümü (H-E, Bar: 100 µm).

4.3 Morfometrik Sonuçlar ve İstatiksel Analiz

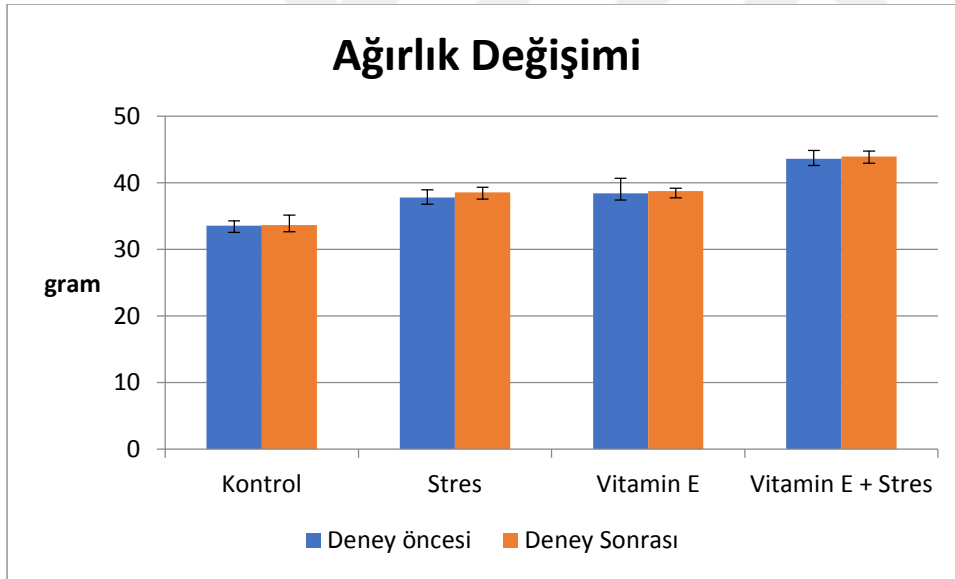
Kontrol ve deney gruplarının morfometrik ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler tablo ve grafiklerde izlenmektedir (Tablo 1-3; Şekil 1-3).

4.3.1 Farelerin total vücut ağırlıkları

Deney öncesi ve sonrası yapılan ratların ağırlık ölçümlerinde Student's paired t test (Student's eşleşmeli t testi) sonuçlarına göre deney öncesi ve sonrası gruplar arasında herhangi bir anlamlılık görülmedi ($p>0.05$). Buna göre stresin hayvanların total ağırlığına herhangi bir etkisi olmadığını söyleyebiliriz.

Tablo 2: Farelerin deney öncesi ve deney sonrası total vücut ağırlıklarının istatistiksel analizi.

	Gruplar	Adet	Ortalama	Standard sapma	Standard hata	Ortalamalar %95 Güven aralığıyla	
						Alt sınır	Üst sınır
Deney öncesi	Kontrol	7	33.55	1.50	0.75	32.88	35.93
	Stres	7	37.82	2.32	1.16	34.12	41.48
	Vitamin E	7	38.42	4.56	2.28	31.17	45.68
	Vitamin E+stres	7	43.67	2.54	1.27	39.56	47.64
	Tüm gruplar	28	38.34	4.53	1.13	35.93	40.76
Deney sonrası	Kontrol	7	33.65	3.01	1.51	28.85	38.45
	Stres	7	38.58	1.55	0.78	36.11	41.05
	Vitamin E	7	38.75	0.88	0.44	37.34	40.16
	Vitamin E+stres	7	43.95	1.67	0.84	41.29	46.61
	Tüm gruplar	28	38.73	4.14	1.04	36.52	40.94



Şekil 6: Farelerin deney öncesi ve deney sonrası total vücut ağırlıklarının grafiksel gösterimi.

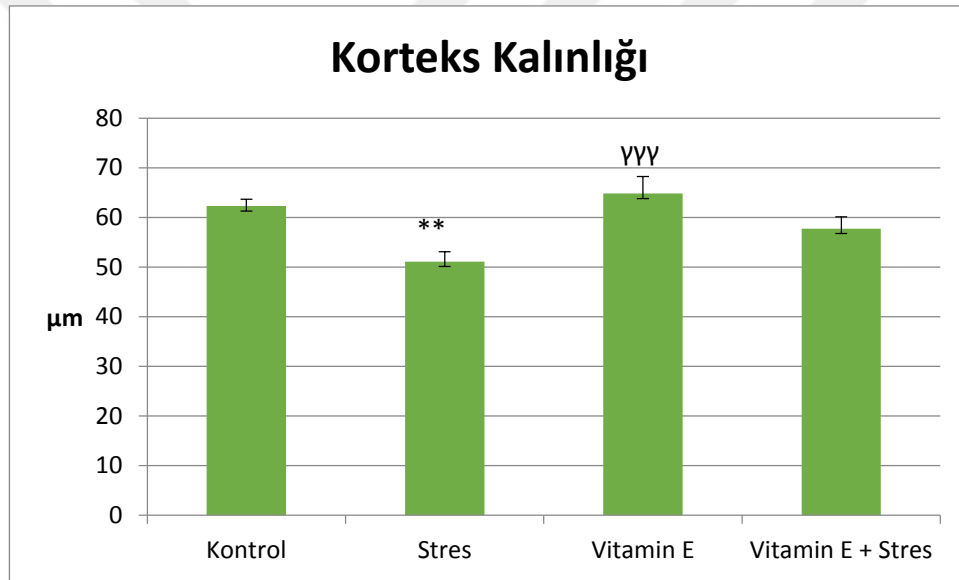
4.3.2 Adrenal korteks kalınlığı

Gruplar arası anlamlılığı göstermek için yaptığımız ANOVA-tek yön testinde, korteks kalınlığında stres grubu ile Vitamin E+stres grubu arasında anlamlılık görülmedi ($p>0.05$). Vitamin E ve kontrol grupları stres grubuyla karşılaştırıldığında, önemli düzeyde anlamlılık kaydedildi ($p<0.05$ ve $p<0.05$). Bu sonuçlara göre kapsül kalınlığı

stres grubunda kontrol ve vitamin E gruplarına göre incelerken, bu incelemenin vitamin E+stres grubundaki değerlerden farklı olmadığı görüldü.

Tablo 3: Deney grupları adrenal korteks kalınlığının istatistiksel analizi

	Gruplar	Adet	Ortalama	Standard sapma	Standard hata	Ortalamalar %95 Güven aralığıyla	
						Alt sınır	Üst sınır
Adrenal korteks kalınlığı	Kontrol	7	62.30	3.68	1.39	58.91	65.71
	Stres	7	51.11	5.27	1.99	46.23	56.39
	Vitamin E	7	64.81	9.20	3.48	56.30	73.32
	Vitamin E + stres	7	57.75	6.25	2.36	51.97	63.53
	Tüm gruplar	28	58.99	8.05	1.52	55.87	62.12



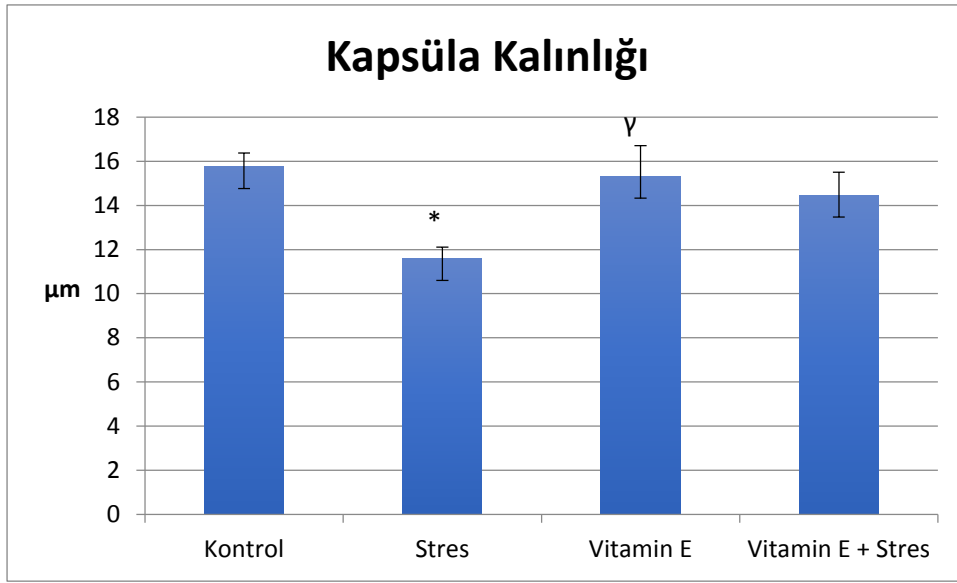
Şekil 7: Deney grupları adrenal korteks kalınlığının istatistiksel analizi.

4.3.3 Kapsüla Kalınlığı

Gruplar arası kapsüladaki değişimin istatistiksel analizi için ANOVA-tek yön testi kullanıldı. Kapsül kalınlığının değerlerini incelediğimizde, stres grubundaki değerlerin vitamin E ve kontrol gruplarındakinden farklı ve anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$ ve $p < 0.05$), ancak vitamin E ile arasındaki değişim kontrole göre görece daha azdı. Stres grubu ile vitamin E+stres grubu arasında anlamlılık görülmedi ($p > 0.05$). Bu sonuçlara göre korteks kalınlığı stres grubunda kontrol ve vitamin E gruplarına göre incelerken, vitamin E+stres grubundaki korteks kalınlığı arasında önemli farklılık olmadığı görüldü.

Tablo 4: Deney grupları adrenal kapsula kalınlığının istatistiksel analizi.

	Gruplar	Adet	Ortalama	Standard sapma	Standard hata	Ortalamalar %95 Güven aralığıyla	
						Alt sınır	Üst sınır
Kapsül kalınlığı	Kontrol	7	15.75	1.60	0.61	14.28	17.24
	Stres	7	11.60	1.35	0.51	10.35	12.85
	Vitamin E	7	15.33	3.66	1.38	11.95	18.72
	Vitamin E +stres	7	14.47	2.73	1.03	11.95	16.99
	Tüm gruplar	28	14.29	2.88	0.54	13.17	15.41



Şekil 8: Deney grupları adrenal kapsula kalınlığının grafiksel gösterimi.

5 TARTIŞMA

Bu çalışmamızda, immobilizasyon ile oluşturulan kronik stres modelinde alfa-tokoferol'ün (Vitamin E) etkileri incelenmiştir. Sonuçlarımıza göre, immobilizasyon stresine maruz kalan sıçanların strese karşı verdikleri yanıtın yoğunluğu gösterilmiştir. HPA aksının uyarılmasının bir sonucu olarak, adrenallerde önemli değişiklikler meydana geldi. Hareketsizlik ortamı, kortikal kütlenin azalmasına bağlı olarak mutlak ve nispi adrenal kitlenin, özellikle de ZF'dekinin, önemli ölçüde azaltılmasını sağlamıştır. Bu beklenen bir durumdur çünkü glukokortikoid sentezi çoğunlukla ZF'de gerçekleştirilir ve bu da korteksin en büyük kısmıdır.

Morfolojik ve stereolojik çalışmalar (3), ısı maruziyetinin ZF hücrelerinden lipit damlacıklarının azalmasına ve ayrıca hacimlerinin azaltılmasına neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. Hacim azalması, medullaya bitişik en içteki tabakayı temsil eden ZR hücrelerinde de gözlenmiştir. ZR hücreleri glukokortikoidleri salgılayabilmelerine rağmen, öncelikle zayıf androjenler üretirler ve salgılar. Ancak, ısı stresi, ZG hücre hacminin bir artışını indüklemektedir. Bu hücreler, fizyolojik etkileri hipotalamik hormon vazopressine (AVP) karşılık gelen aldosteron (tuz tutucu hormon) üretiminden sorumludur Gallo Payet'e (114) göre bu hormon, kortizol sekresyonunu da stimüle edebilir, ancak sıçanlarda dominant glukokortikoid olan kortikosteronun salgısını yapmazlar. Stres koşullarında hem ACTH hem de AVP sekresyonunun arttığı gösterilmiştir (115). ACTH, stres koşullarında olduğu gibi büyük miktarlarda salgılandığında, aldosteron sekresyonunu da stimüle edebilir. Bu nedenle, ısı stresi altında hem ACTH hem de AVP, aldosteron birikiminin yeri olan ZG hücre hacminin genişlemesini uyarmaktadır.

Stimüle edilmemiş adrenal bezde, intrakortikal kapillerler kontrakte ve cerrahi stresten sonra veya 1 saatlik ACTH perfüzyonundan sonra, bunların dilate olduğu gözlemlendi (116). Isı stresli sıçanlarda ACTH seviyesinin çok yüksek olmasına rağmen, ZF ve ZR bölgelerindeki ortalama kan damarlarının çapı ve uzunluğu önemli ölçüde değişmemiştir.

Akut stresin başka bir türü de etanol enjeksiyonu olup, bu da ACTH ve CORT düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olmaktadır (117, 118). Adrenal bezlerdeki ısı stresinde bizim gözlemlediğimiz morfolojik ve stereolojik değişikliklerinin tersini indüklemiştir (119). Bu yazarlar, immobilizasyon stresinden sonra bulduğumuz gibi

herhangi bir fibroz bulguya rastlamamışlardır. Bu durum, adrenal bezin HPA aksının hipotalamik-pitüiter bölümünde aynı tepkiye rağmen çeşitli stres etkenlerine farklı tepki verme fikrini destekleyebilir (120).

Yeni kortikal hücrelerin kaynağı olarak adrenal bezlerin, özellikle de ZG'nin dış kısmının, mitozun ana bölgesi olduğu ve çoğu hücre ölümünün, özellikle ZR'de olmak üzere, korteksin iç kısmında meydana geldiğini gösteren raporlar vardır (121-123). Çalışmamızda, kontrol sıçanlarında ZG ve ZF'de mitozları gözlemledik, ancak deneysel çalışmamızın stres grubu adrenal kapsülünde kontrole göre belirgin bir incelmeye (Resim 25) gösterdiğini ve mitotik figürlere rastlanmadığını vurgulamak isteriz. Bu fenomen, interfaz hücrelerin aksine, mitotik hücrelerin immobilizasyona karşı hassasiyeti ile açıklanabilir. Akut stres, mitoz mekiğinin bozulmasına indükler yani Golgi aygıtının yeniden ortaya çıkmasına ve uzamasına, mikrotübül nükleasyonunun inaktivasyonuna ve sentrozomun düzensizleşmesine neden olur (124). Termal stres sırasında hücre döngüsünün düzenlenmesi birçok ısı şoku proteinini içerir. 47 kDa'lık ısı şoku proteini (HSP 47), ısı ile indüklenebilen ve malign transformasyona duyarlı bir kollajen bağlayıcı glikoproteindir (125, 126). Normal koşullar altında kollajen sentezi ve/veya sekresyonunda rol oynar. Stres koşulları altında, HSP47 sentezi artırılır, bu da birkaç hücre hattında kollajen sentezi ile korelasyon gösterir (126-129), 50 dakikalık ısı maruziyetinden (41 °C) sonra, sıçan karaciğinde Hsp70 ve Hsp90 düzeylerinde ani bir artış olduğunu göstermişlerdir. Inaguma ve arkadaşları (130), Hsp27 ve Hsp70'in ısı stresli sıçanların (20 dk. maruziyet, 42°C) çeşitli dokularında indüklenmesinin, adrenal bezler de dahil olmak üzere, etanol ve prazosine karşı duyarlı olan fizyolojik bir süreçle kontrol edildiğini ve ısı stresinin uygulanması sırasında kısa bir süre çalıştığını kaydetmişlerdir. Bu literatür raporları, bu çalışmada bulduğumuz gibi, immobilizasyon stresinden sonra sıçanlarda adrenal bezin tüm bölümlerinde interstisyel fibrozisi teyit etmekte ve açıklamaktadır.

Kronik immobilizasyon stresinde hem adrenal kortekste hem de adrenal medullanın her tarafında interstisyel fibroze işaret eden çalışmalar mevcuttur (3). Oysa bizim çalışmamın stres grubu ratlarında interstisyel fibrozis daha ziyade adrenal bezin kortikomedullar bölgesinde diffuz bir şekilde izlenmekteydi (Resim 22 ve Resim 23).

Nöroendokrin strese yanıt, sempato-adrenomedullar sistem (SAS) ve hipotalamik-pituar-adrenal (HPA) aksının aktive edilmesiyle ve adrenal bezlerdeki en üst seviyeye çıkan nöral ve hormonal sinyaller aracılığı ile başlar (131, 132). Adrenal bezin medullar kısmından katekolaminler (adrenalin-noradrenalin) ve adrenal korteksten steroidler (glukokortikoidler, mineralokortikoidler) salınımı aracılığı ile organizmanın herhangi bir stresli duruma hızlı ve uzun-sürelili adaptasyonunu yönetir (133). Örneğin, medullar adrenalin uyanık olmayı sağlarken, kortikal glukokortikoidler stresli organizmanın enerji ihtiyacını yenilemeye yardım eder (131). Adaptasyonun yanında, adrenal hormonlar (özellikle glukokortikoidler) aynı zamanda beyin çeşitli düzeylerinde çalışan geri-besleme mekanizmaları aracılığı ile stres yanıtının bitirilmesini de kontrol eder.

Örneğin HPA aksında olduğu gibi hem intrinsik hemde ekstrinsik olarak HPA aksını kontrol eden limbik beyin yapılarında, adrenal hormonlar stresin-bozduğu hemoztazı tekrardan kazanılmasına yardımcı olur (134). Ancak, stresli durum devam ederse, ihtiyaç olmadığında veya ihtiyaç halinde aktive olamadığında bu sistemler kapanamayabilir ve hatalı adaptif sendromlara yol açabilir (135, 136). En azından kısmen, hatalı adaptasyon kronik stres durumunda adrenal bez yetmezliğinden kaynaklanabilir ve adrenal bezin stres durumundan kurtulma yeteneğini kaybetmesine yol açabilir. Bu tür durumlar adrenal dekompensasyon veya fatig olarak bilinir (136). Hans Selye'nin (135) genel adaptasyon sendromuna (GAS) göre, GAS'ın strese-direnç durumunda, adrenal bezler (stres-sonucu aktive olmuş HPA aksının son etkileyeni) duruma uymaya ve kendilerini yeniden yapılandırarak boyut ve fonksiyon olarak büyüyerek hiperadrenia denen duruma geçebilir. Ancak, stresin devam etmesi durumunda, bu adrenal reaksiyon GAS'ın tükenmesi aşamasına geçebilir; örneğin hipoadrenia olarak bilinen adrenal adaptasyon yeteneğinin tamamen kaybına yol açabilir.

Dahası, Ulrich ve arkadaşlarına (137) göre herhangi bir stres duruma maruz kalan hayvanlarda adrenal medullanın kütlece arttığını (beklenen bir durumdu) gördük çünkü stres durumundaki medullar değişikliklerin önceki bulguları ile aynıydı. Adrenal korteks olayında olduğu gibi, gördüğümüz medular hipertrofi medullar katekolamin adrenalin ve noradrenalinin serum düzeyiyle her zaman ilgili olmayabilir.

Uygun fizyolojik yanıtlar her organizmanın yaşaması için gereklidir. Hipotalamus-pituar-adrenal ve sempatik adreno-medullar akslar bu homeostazi sürdürmede yanıt verme esnasında rol alan ana sistemlerdir ve adrenal bez ise bu her iki sistemin önemli bir oyuncusudur (137). Bu bez hücrel proliferasyon ve ölüm gibi dinamik yapısal değişikliklere maruz kalır. Her iki süreç de adrenal bezin bütünlüğünü ve fonksiyonunun devamı için dengelenmesi gerekir (138).

Adzic ve arkadaşlarının (139) yaptığı deneyde akut, kronik ve bileşik stresin adrenal korteksin yanında ayrıca tüm adrenal bezde gözle görülür derecede bilateral kütle artışı olduğunu göstermişlerdir.

Bu stereotipik adrenal hipertrofi beklenen bir durumdu çünkü hipertrofi rahatsız edici tedavinin herhangi bir formuna verilen klasik bir cevaptır (140). Aynı zamanda, adrenal bezler stress durumunda dokudaki gram başına oldukça yüksek kan akış oranına sahip oldukları da gösterilmiştir (140).

Dragana ve arkadaşları (3) strese ilişkin yaptıkları deneysel çalışmada sadece zona fasikülatada kan damarları çapının azaldığını; buna karşın zona glomeruloza, zona retikularis ve medulladaki damarlarda ise dilatasyona işaret etmişlerdir. Bu çalışma bizim deneysel çalışmamın stres ve vitamin E+stres gruplarında hem korteks hem de adrenal medullayı besleyen kan damarları cidarındaki inceltme ve dilatasyonu teyit etmektedir

Normal bir adrenal bezde, intrakortikal kapillerler dardır (116). Adrenal bezin ki özellikle zona glomerulazanın yeni kortikal hücrelerin kaynağı olduğunu, mitozun asıl bölgesi olduğunu ve çoğu hücre ölümünün korteksin iç tarafında özellikle zona retikulariste olduğunu gösteren raporlar vardır (121-123).

Daha önce yapılan çalışmalarda (141), deney grubundaki adrenal bezlerin toplam ağırlığının kontrolünkine benzer bir eğri gösterdiği gösterilmiştir Ancak bu ağırlık artışından sorumlu mekanizma hipertrofi mi, hiperplazi mi veya azalmış hücrel apoptozu mu olduğu bilinmemektedir. Kronik stres, adrenal korteks proliferasyonu ve apoptozis süreçlerinde bir azalmaya neden olmakta, bu nedenle bezin artan ağırlığının hücrel hipertrofiye bağlı olabileceği düşünülebilir.

Oysa Adzic ve arkadaşları (139) yaptıkları bir çalışmada kronik stres sonucunda sıçanların total vücut ağırlıklarının değişmediğini vurgulamışlardır. Bu çalışmanın

sonuçları bizim sonuçlarla çelişmektedir. Bizim çalışmamızın stres grubu sonuçlarını kontrol grubuyla karşılaştırılmasında; stres grubu sıçanların total vücut ağırlıklarında nispi bir artış gözlemlendi (Tablo-1, Şekil-1).

Hans Selye'nin genel adaptasyon sendromu (GAS) kavramına göre, GAS'ın strese dirençli aşamasında, adrenal bezler (strese bağlı HPA ekseninin terminal efektörleri olarak) kendilerini adapte etmeye ve yeniden inşa etmeye başlar; boyutunu ve fonksiyonunu arttırarak kendilerini hiperadrenal olarak bilinen duruma getirir. Bununla birlikte, eğer stres devam ederse, bu adrenal reaksiyon GAS'ın tükenme evresine, yani hipoadrenia olarak bilinen, adapte edebilme yeteneğini tamamen kaybedecek noktaya kadar ilerleyebilir.

Kronolojik olarak izole edilmiş Wistar sıçan modelinde bu hayvanların strese dirençli aşamasında mı yoksa GAS'ın tükenme aşamasında olup olmadığını belirlemeye çalışmışlardır. Bu amaçla, adrenal bezlerin kaba yapısındaki değişiklikleri, adrenal hormonların seviyesi, ACTH'nin giriş sinyali ve bunların sonucu gelişen kan serumundaki glukoz düzeyindeki değişiklikler olarak tanımlanan adrenal aktivite ile olan ilişkileri takip etmişlerdir. Bu parametreleri aynı zamanda akut immobilizasyona maruz kalan Wistar erkekler sıçanlarda izlemişlerdir, çünkü bu yüksek yoğunluktaki fiziksel-duygusal-psikososyal strese verilen yanıt literatürde strese 'normal' yanıt olarak tanımlanmıştır (142, 143).

Adzic ve arkadaşları (144), üç stres tipinden herhangi birine maruz kalan hayvanların, adrenal bezin kütlesinde olduğu kadar, adrenal korteksin kütlesinde de belirgin bilateral artış sergilediğini göstermişlerdir. Bu stresle ilişkili adrenal hipertrofi beklenmedik bir bulgu olmadığını, çünkü hipertrofinin daha önce herhangi bir rahatsız edici tedaviye yanıt olarak klasik bir fenomen olduğu bildirilmişlerdir.

Çalışmamızın stres grubu ratların adrenal korteksinde açık ve koyu alanları yanısıra kortekte atrofi ve medullada hipertrofi gözlemlendi (Tablo-2, şekil-2). Bu morfometrik bulgularımız Vesna Koko (145) ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Ayrıca, adrenallerin stres sırasında doku gramı başına en yüksek kan akış hızlarından birine sahip olduğu göstermişlerdir. Böylece, adrenal hipertrofi, stres koşullarının bir sonucu olarak yorumlamışlardır.

Aynı araştırmada (145), üç tip stresden herhangi birine maruz kalan hayvanlarda adrenal medulla kütlesinde bir artış olduğunu saptamışlar. Adrenal kortekste olduğu gibi gözlenen medulla hipertrofisi, medullar katekolaminlerin, adrenalinin ve noradrenalin'in serum seviyesiyle daima ilişkili olmadığını vurgulamışlardır. Böylelikle, akut ve kombine stres altındaki medullar kitlenin artması, önemli ölçüde artmış adrenal ve noradrenalin seviyeleri ile iyi korelasyon gösterdiğini, fakat bu tip stres altındaki her iki hormonun seviyeleri kontrolden ayırt edilemediğinden, bu korelasyon kronik izolasyon altında gözlenmediğini kaydetmişlerdir. Sadece katekolamin seviyesine dayanılarak, hayvanların uzamış izolasyon stresine başarıyla adapte oldukları sonucuna varmışlardır. Böylelikle, adrenal medulladaki strese bağlı değişiklikler adrenal korteksinkinden biraz farklı olsa da, kronik izolasyona maruz kalan Wistar sıçanlarının büyük olasılıkla GAS'ın strese dayanıklı aşamasında oldukları vurgulanmıştır.

Stres, rodentlerin fiziksel, biyokimyasal ve psikolojik parametreleri üzerine etkiler oluşturarak, çeşitli hastalıkların patogeneğinde etkin roller üstlenen bir süreçtir (146). Sık karşılaşılan stres nedeni ile zaman içinde stresöre duyarsızlaşma oluşması ile davranışsal bozuklukların tetiklenmesi mümkün olabilir (147). Bununla beraber stres her zaman zararlı olmayabilir. Stres maruz kalan rodentlerin çeşitli stresörlere verdikleri tepkilerde azalmalar gözlemlenebilmektedir. Böylece stres, daha sonra karşılaşılabilecek değişik stresörlere karşı toleransı artırabilir ve deneyim temelli bir direnç oluşturabilir (148). Belli dozlarda stresin öğrenme süreçlerinde de olumlu etkiler oluşturduğu, gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda vurgulanmaktadır (149). Buna karşın, literatürde stresin anksiyete ve depresyon semptomlarında artış meydana getirme potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir (150). Ayrıca stres nedeniyle oksidatif stresin de artış gösterdiği bilinmektedir (151).

Bu çalışmamızda, immobilizasyon ile oluşturulan subkronik stres modelinde alfa-tokoferol'ün (vitamin E) etkileri incelenmiştir. Uygulanan stres dozu ile (1 hafta boyunca günde 6 saat immobilizasyon stresi) zorunlu yüzme testinde deneklerin depresyon semptomları anlamlı düzeyde artmıştır. Vitamin E'nin antidepresan etkileri bulunduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (152). Açık alan test düzeneği ile

değerlendirilen deneklerin lokomotor aktiviteleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Anksiyete semptomlarında, yükseltilmiş artı labirenti testi ile gerçekleştirilen değerlendirmede stres gurubunda artış gözlemlendi. Vitamin E ile oluşan anksiyetenin kısmen azaldığının gözlemlenmesine karşın fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç olarak, immobilizasyon stresi, adrenal korteksin mutlak ve nispi kütlesini, özellikle de lipit damlacıklarından kısmen tükenmiş olan ZF'nin miktarını azaltmıştır. Fibrozis mevcut olmasına rağmen immobilizasyon stresine maruz kalan sıçanların adrenal bezlerinin tüm kısımlarında mitotik figürlere rastlanmadı.

6 SONUÇ

Sonuç olarak immobilizasyon stersinin fare adrenal bezinde birtakım morfometrik ve histopatolojik değişikliklere neden olduğunu ve bu olumsuz etkilerin vitamin E uygulamasıyla büyük çapta önlenebileceği kanaatine varıldı.



7 KAYNAKLAR

1. Djordjevic, J., G. Cvijic, and V. Davidovic, Different activation of ACTH and corticosterone release in response to various stressors in rats. *Physiol Res*, 2003. 52(1): p. 67-72.
2. Axelrod, J. and T.D. Reisine, Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*, 1984. 224(4648): p. 452-9.
3. Petrovic-Kosanovic, D., et al., Effect of acute heat stress on rat adrenal cortex — a morphological and ultrastructural study. *Central European Journal of Biology*, 2012. 7(4): p. 611-619.
4. D Hammer, G., K. L Parker, and B. Schimmer, Minireview: Transcriptional Regulation of Adrenocortical Development. Vol. 146. 2005. 1018-24.
5. Whitworth, E.J., et al., Adrenal neuropeptides: Regulation and interaction with ACTH and other adrenal regulators. *Microscopy Research and Technique*, 2003. 61(3): p. 259-267.
6. Niki, E. and M.G. Traber, A History of Vitamin E. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2012. 61(3): p. 207-212.
7. Zingg, J.-M., Vitamin E: An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*, 2007. 28(5): p. 400-422.
8. Chow, C.K., Distribution of tocopherols in human plasma and red blood cells. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1975. 28(7): p. 756-60.
9. Di Mascio, P., M.E. Murphy, and H. Sies, Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*, 1991. 53(1 Suppl): p. 194S-200S.
10. Zingg, J.M., Molecular and cellular activities of vitamin E analogues. *Mini Rev Med Chem*, 2007. 7(5): p. 543-58.
11. Rizvi, S., et al., The role of vitamin e in human health and some diseases. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2014. 14(2): p. e157-65.
12. Cannon, W.B., *The wisdom of the body*. 1932, New York: W.W. Norton & Company, Inc.

13. Cannon, W.B., Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage; an account of recent researches into the function of emotional excitement. 1915, New York, London,: D. Appleton and Company. xiii, 311 p.
14. GROLLMAN, A., *The Physiology and Pathology of Exposure to Stress*. Hans Selye. Montreal, Canada: Acta Endocrinologica, 1950. 1,025 pp. \$14.00. Science, 1951. 113(2938): p. 462-463.
15. Rivier, C., et al., In Vivo Corticotropin-Releasing Factor-Induced Secretion of Adrenocorticotropin, β -Endorphin, and Corticosterone*. Endocrinology, 1982. 110(1): p. 272-278.
16. Roman, E. and I. Nylander, The impact of emotional stress early in life on adult voluntary ethanol intake-results of maternal separation in rats. Stress, 2005. 8(3): p. 157-174.
17. de Kloet, E.R., M. Joels, and F. Holsboer, Stress and the brain: from adaptation to disease. Nat Rev Neurosci, 2005. 6(6): p. 463-75.
18. Joels, M. and T.Z. Baram, The neuro-symphony of stress. Nat Rev Neurosci, 2009. 10(6): p. 459-66.
19. Berridge, C.W. and B.D. Waterhouse, The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. Brain Res Brain Res Rev, 2003. 42(1): p. 33-84.
20. Foote, S.L., F.E. Bloom, and G. Aston-Jones, Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. Physiol Rev, 1983. 63(3): p. 844-914.
21. Hebert, M.A., L.I. Serova, and E.L. Sabban, Single and repeated immobilization stress differentially trigger induction and phosphorylation of several transcription factors and mitogen-activated protein kinases in the rat locus coeruleus. J Neurochem, 2005. 95(2): p. 484-98.
22. Scott, L.V. and T.G. Dinan, Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: implications for the pathophysiology of depression. Life Sci, 1998. 62(22): p. 1985-98.
23. Dunn, F.L., et al., The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. J Clin Invest, 1973. 52(12): p. 3212-9.

24. Chrousos, G.P. and P.W. Gold, The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*, 1992. 267(9): p. 1244-52.
25. Dallman, M.F., et al., Regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis during stress: feedback, facilitation and feeding. *Seminars in Neuroscience*, 1994. 6(4): p. 205-213.
26. Dallman, M.F., et al., Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100(20): p. 11696-701.
27. de Kloet, E.R., M.S. Oitzl, and M. Joels, Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci*, 1999. 22(10): p. 422-6.
28. Reul, J.M. and E.R. de Kloet, Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 1985. 117(6): p. 2505-11.
29. Keller-Wood, M.E. and M.F. Dallman, Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev*, 1984. 5(1): p. 1-24.
30. Di, S., et al., Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci*, 2003. 23(12): p. 4850-7.
31. Orchinik, M., T.F. Murray, and F.L. Moore, A corticosteroid receptor in neuronal membranes. *Science*, 1991. 252(5014): p. 1848-51.
32. Swanson, L.W. and G.D. Petrovich, What is the amygdala? *Trends in Neurosciences*. 21(8): p. 323-331.
33. Herman, J.P., et al., Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005. 29(8): p. 1201-13.
34. Vale, W., et al., Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science*, 1981. 213(4514): p. 1394-7.
35. De Souza, E.B., et al., Corticotropin-releasing factor receptors are widely distributed within the rat central nervous system: an autoradiographic study. *J Neurosci*, 1985. 5(12): p. 3189-203.

36. Legradi, G., et al., Glucocorticoids inhibit stress-induced phosphorylation of CREB in corticotropin-releasing hormone neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Neuroendocrinology*, 1997. 66(2): p. 86-97.
37. Valentino, R.J., S.L. Foote, and G. Aston-Jones, Corticotropin-releasing factor activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. *Brain Res*, 1983. 270(2): p. 363-7.
38. Plotsky, P.M., Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophyseal-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways or central norepinephrine injection. *Endocrinology*, 1987. 121(3): p. 924-30.
39. Curtis, G.C., J.L. Abelson, and P.W. Gold, Adrenocorticotrophic hormone and cortisol responses to corticotropin-releasing hormone: changes in panic disorder and effects of alprazolam treatment. *Biol Psychiatry*, 1997. 41(1): p. 76-85.
40. Lu, A., et al., Conditional CRH overexpressing mice: an animal model for stress-elicited pathologies and treatments that target the central CRH system. *Mol Psychiatry*, 2008. 13(11): p. 989.
41. Van Bockstaele, E.J., et al., Topographic architecture of stress-related pathways targeting the noradrenergic locus coeruleus. *Physiol Behav*, 2001. 73(3): p. 273-83.
42. Van Bockstaele, E.J., E.E. Colago, and R.J. Valentino, Amygdaloid corticotropin-releasing factor targets locus coeruleus dendrites: substrate for the co-ordination of emotional and cognitive limbs of the stress response. *J Neuroendocrinol*, 1998. 10(10): p. 743-57.
43. Van Bockstaele, E.J., J. Peoples, and R.J. Valentino, Anatomic basis for differential regulation of the rostralateral peri-locus coeruleus region by limbic afferents. *Biological Psychiatry*, 1999. 46(10): p. 1352-1363.
44. Evans, H.M., The Pioneer History of Vitamin E**These remarks, which concern the early history of our knowledge of vitamin E, owe much to the very kindly collaboration of many colleagues. Chemical aspects of the story were judiciously considered by my lifelong friend Dr. O. H. Emerson, but Professors P. Karrer, Lee Irwin Smith, and Lord Todd were also of the greatest value in

this portion of the discussion. Gratefully received advice concerning the biological aspects of the story came from Dr. Katharine S. Bishop and Professors F. B. Adamstone, Herbert J. Metzger, Karl E. Mason, Thomas Moore, and H. S. Olcott, in *Vitamins & Hormones*, R.S. Harris, et al., Editors. 1962, Academic Press. p. 379-387.

45. Leeson, S., and J. D. Summers, *Scott's Nutrition of the Chicken*. In: *Minerals*. 4 ed. Vol. 4. 2001.
46. Mitchell, A.D. and N.J. Benevenga, The role of transamination in methionine oxidation in the rat. *The Journal of nutrition*, 1978. 108(1): p. 67-78.
47. Wang, X. and P.J. Quinn, Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res*, 1999. 38(4): p. 309-36.
48. Surai, P.F., *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction*, in *Selenium*. 2002. p. 233-238.
49. Flachowsky, G., *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. *Animal Feed Science and Technology*. 103(1): p. 177-178.
50. Fernholz, E. and J. Finkelstein, Studies on Vitamin E. Ethers of Durohydroquinone. *Journal of the American Chemical Society*, 1938. 60(10): p. 2402-2404.
51. Machlin, L.J., Vitamin E. In: *Handbook of vitamin*. 1991: New York. p. 99-144.
52. (NRC), N.R.C., *Nutrient Requirements of Poultry*. 1994, National Academy Press: Washington, D. C.
53. Mayer, H., J. Metzger, and O. Isler, [The stereochemistry of natural gamma-tocotrienol (plastochromanol-3), plastochromanol-8 and plastochromenol-8]. *Helv Chim Acta*, 1967. 50(5): p. 1376-93.
54. Lodge, J.K., Vitamin E bioavailability in humans. *J Plant Physiol*, 2005. 162(7): p. 790-6.
55. Weiser, H. and M. Vecchi, Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate. II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests. *Int J Vitam Nutr Res*, 1982. 52(3): p. 351-70.

56. Hofius, D. and U. Sonnewald, Vitamin E biosynthesis: biochemistry meets cell biology. *Trends Plant Sci*, 2003. 8(1): p. 6-8.
57. Diplock, A.T., et al., Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br J Nutr*, 1998. 80 Suppl 1: p. S77-112.
58. Cohn, W., Bioavailability of vitamin E. *Eur J Clin Nutr*, 1997. 51 Suppl 1: p. S80-5.
59. Brigelius-Flohe, R. and M.G. Traber, Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J*, 1999. 13(10): p. 1145-55.
60. Drevon, C.A., Absorption, transport and metabolism of vitamin E. *Free Radic Res Commun*, 1991. 14(4): p. 229-46.
61. Kowdley, K.V., et al., Vitamin E deficiency and impaired cellular immunity related to intestinal fat malabsorption. *Gastroenterology*, 1992. 102(6): p. 2139-42.
62. Li, D., et al., Relative Effects of alpha- and gamma-Tocopherol on Low-Density Lipoprotein Oxidation and Superoxide Dismutase and Nitric Oxide Synthase Activity and Protein Expression in Rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 1999. 4(4): p. 219-226.
63. Slover, H.T., Tocopherols in foods and fats. *Lipids*, 1971. 6(5): p. 291-6.
64. Age-Related Eye Disease Study Research, G., A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report no. 9. *Arch Ophthalmol*, 2001. 119(10): p. 1439-52.
65. Yoshida, Y., E. Niki, and N. Noguchi, Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chem Phys Lipids*, 2003. 123(1): p. 63-75.
66. Sen, C.K., S. Khanna, and S. Roy, Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family. *Mol Aspects Med*, 2007. 28(5-6): p. 692-728.
67. Chin, S.F., et al., Reduction of DNA damage in older healthy adults by Tri E Tocotrienol supplementation. *Nutrition*, 2008. 24(1): p. 1-10.

68. Schudel, P., et al., Über die Chemie des Vitamins E. 5. Mitteilung. Die Synthese von rac. all-trans- ζ 1- und- ϵ -Tocopherol. *Helvetica Chimica Acta*, 1963. 46(7): p. 2517-2526.
69. Burton, G.W. and K.U. Ingold, Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Accounts of Chemical Research*, 1986. 19(7): p. 194-201.
70. Frampton, V.L., et al., α -Tocopurple, an Oxidation Product of α -Tocopherol. *Journal of the American Chemical Society*, 1960. 82(17): p. 4632-4634.
71. Burton, G.W., et al., Biological antioxidants. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1985. 311(1152): p. 565-78.
72. Burton, G.W., et al., Antioxidant activity of vitamin E and related phenols. Importance of stereoelectronic factors. *Journal of the American Chemical Society*, 1980. 102(26): p. 7791-7792.
73. Burton, G.W., et al., Autoxidation of biological molecules. 4. Maximizing the antioxidant activity of phenols. *Journal of the American Chemical Society*, 1985. 107(24): p. 7053-7065.
74. Dunn, T.B., Normal and pathologic anatomy of the adrenal gland of the mouse, including neoplasms. *J Natl Cancer Inst*, 1970. 44(6): p. 1323-89.
75. Hummel KL, R.F., Fekete E, Anatomy. In: *Biology of the laboratory mouse*. 1966: New York.
76. Lenard, A., The history of research on the adrenals; 1563-1900. *J Hist Med Allied Sci*, 1951. 6(4): p. 496-505.
77. T, A., On the constitutional and local effects of disease of the supra-renal capsules. . *Med. classics*, 1855. 2: p. 244-277.
78. Brown-Sequard, C.-E., *Recherches expérimentales sur la physiologie et la pathologie des capsules surrénales*. 1856.
79. J, A., Ein Beitrag zur feineren Struktur und dem Chemismus der Nebennieren. *Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*. 1866. 35: p. 64-107.
80. Hiatt, J.R. and N. Hiatt, The conquest of Addison's disease. *Am J Surg*, 1997. 174(3): p. 280-3.

81. Cushing, H., The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). 1932. *Obes Res*, 1994. 2(5): p. 486-508.
82. Horton, R., Aldosterone and aldosteronism. *Steroids*, 2003. 68(14): p. 1135-8.
83. Frith, C.H., Histology, Adrenal Gland, Mouse, in *Endocrine System*, T.C. Jones, et al., Editors. 1983, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 8-12.
84. E, H.-M., The development of the epinephrine content of the suprarenal medulla in early stages of the mouse. *Am J Physiol*, 1926. 75: p. 267-277.
85. Nagel, N., Ueber die Structur der Nebennieren. *Archiv für Anatomie. Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*, 1836: p. 365-383.
86. F, R.I.S., Nebenniere. In *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere*. 2 ed. 1998, London, Berlin: Blackwell.
87. Gerrity, L.W., The Laboratory Mouse (from The Handbook of Experimental Animals series). *American Journal of Roentgenology*, 2006. 186(2): p. 592-593.
88. Keegan, C.E. and G.D. Hammer, Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex. *Trends Endocrinol Metab*, 2002. 13(5): p. 200-8.
89. Williams, G.H., Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action. *Heart Fail Rev*, 2005. 10(1): p. 7-13.
90. Silverman, M.N., et al., Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol*, 2005. 18(1): p. 41-78.
91. Weber, M.M., et al., Postnatal overexpression of insulin-like growth factor II in transgenic mice is associated with adrenocortical hyperplasia and enhanced steroidogenesis. *Endocrinology*, 1999. 140(4): p. 1537-43.
92. White, P.C., 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and its role in the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Am J Med Sci*, 2001. 322(6): p. 308-15.
93. G, E.W.B., Nebennierenhormone. In *Physiologie der Haustiere*. 2000, Stuttgart: Enke im Hippokrates Verlag.

94. Telenius-Berg, M., et al., Quality of life after bilateral adrenalectomy in MEN 2. *Henry Ford Hosp Med J*, 1989. 37(3-4): p. 160-3.
95. Hatai, S., On the weight of some of the ductless glands of the Norway and of the albino rat according to sex and variety. *The Anatomical Record*, 1914. 8(12): p. 511-523.
96. Zubair, M., et al., Two-step regulation of Ad4BP/SF-1 gene transcription during fetal adrenal development: initiation by a Hox-Pbx1-Prep1 complex and maintenance via autoregulation by Ad4BP/SF-1. *Mol Cell Biol*, 2006. 26(11): p. 4111-21.
97. Gersh, I. and A. Grollman, The nature of the X-zone of the adrenal gland of the mouse. *The Anatomical Record*, 1939. 75(2): p. 131-153.
98. Maronpot, R.R., G.A. Boorman, and B.W. Gaul, *Pathology of the mouse : reference and atlas*. 1999, Vienna, IL: Cache River Press.
99. Heikkila, M., et al., Wnt-4 deficiency alters mouse adrenal cortex function, reducing aldosterone production. *Endocrinology*, 2002. 143(11): p. 4358-65.
100. Tanaka, S. and A. Matsuzawa, Comparison of adrenocortical zonation in C57BL/6J and DDD mice. *Exp Anim*, 1995. 44(4): p. 285-91.
101. Bornstein, S.R. and G.P. Chrousos, Clinical review 104: Adrenocorticotropin (ACTH)- and non-ACTH-mediated regulation of the adrenal cortex: neural and immune inputs. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. 84(5): p. 1729-36.
102. Karpac, J., A. Kern, and U. Hochgeschwender, Pro-opiomelanocortin peptides and the adrenal gland. *Mol Cell Endocrinol*, 2007. 265-266: p. 29-33.
103. Wolf, E., et al., Consequences of postnatally elevated insulin-like growth factor-II in transgenic mice: endocrine changes and effects on body and organ growth. *Endocrinology*, 1994. 135(5): p. 1877-86.
104. Hoefflich, A., et al., Insulin-like growth factor binding protein 2 (IGFBP-2) separates hypertrophic and hyperplastic effects of growth hormone (GH)/IGF-I excess on adrenocortical cells in vivo. *FASEB J*, 2002. 16(13): p. 1721-31.
105. Fottner, C., et al., Role of the insulin-like growth factor system in adrenocortical growth control and carcinogenesis. *Horm Metab Res*, 2004. 36(6): p. 397-405.

106. Brem, G., et al., Multiple consequences of human growth hormone expression in transgenic mice. *Mol Biol Med*, 1989. 6(6): p. 531-47.
107. Cecim, M., et al., Elevated corticosterone levels in transgenic mice expressing human or bovine growth hormone genes. *Neuroendocrinology*, 1991. 53(3): p. 313-6.
108. Lewinski, A., et al., Adrenal catecholamine content: effects of congenital GH, PRL and TSH deficiency and of hormone replacement therapy in the male mouse. *Exp Clin Endocrinol*, 1986. 87(2): p. 176-82.
109. Merola, B., et al., Effect of a short-term treatment with recombinant growth hormone (GH) on adrenal responsiveness to corticotrophin stimulation in children affected by isolated GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992. 74(5): p. 1210-4.
110. Carli, M., C. Prontera, and R. Samanin, Effect of 5-HT_{1A} agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology*, 1989. 28(5): p. 471-6.
111. Lemoine, A.P., et al., Footshock affects heart and brain MAO and MAO inhibitory activity and open field behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1990. 36(1): p. 85-8.
112. Pellow, S., et al., Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 1985. 14(3): p. 149-67.
113. Burgin, R., R. Weizman, and M. Gavish, Repeated swim stress and peripheral-type benzodiazepine receptors. *Neuropsychobiology*, 1996. 33(1): p. 28-31.
114. Gallo-Payet, N. and G. Guillon, Regulation of adrenocortical function by vasopressin. *Horm Metab Res*, 1998. 30(6-7): p. 360-7.
115. Aguilera, G., Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress. *Front Neuroendocrinol*, 1994. 15(4): p. 321-50.
116. Pudney, J., et al., Morphological correlates of hormone secretion in the rat adrenal cortex and the role of filopodia. *Anat Rec*, 1981. 201(3): p. 537-51.

117. Rivier, C., Alcohol stimulates ACTH secretion in the rat: mechanisms of action and interactions with other stimuli. *Alcohol Clin Exp Res*, 1996. 20(2): p. 240-54.
118. Rivier, C. and S. Lee, Acute alcohol administration stimulates the activity of hypothalamic neurons that express corticotropin-releasing factor and vasopressin. *Brain Research*, 1996. 726(1): p. 1-10.
119. Milovanovic, T., et al., Effects of acute administration of ethanol on the rat adrenal cortex. *J Stud Alcohol*, 2003. 64(5): p. 662-8.
120. Pacak, K. and M. Palkovits, Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev*, 2001. 22(4): p. 502-48.
121. Wright, N. and D. Voncina, Studies on the postnatal growth of the rat adrenal cortex. *J Anat*, 1977. 123(Pt 1): p. 147-56.
122. Stachowiak, A., G.G. Nussdorfer, and L.K. Malendowicz, Proliferation and distribution of adrenocortical cells in the gland of ACTH- or dexamethasone-treated rats. *Histol Histopathol*, 1990. 5(1): p. 25-9.
123. Miyamoto, H., et al., Daily regeneration of rat adrenocortical cells: circadian and zonal variations in cytogenesis. *Endocr Res*, 2000. 26(4): p. 899-904.
124. Debec, A. and C. Marcaillou, Structural alterations of the mitotic apparatus induced by the heat shock response in *Drosophila* cells. Vol. 89. 1997. 67-78.
125. Nagata, K. and K.M. Yamada, Phosphorylation and transformation sensitivity of a major collagen-binding protein of fibroblasts. *J Biol Chem*, 1986. 261(16): p. 7531-6.
126. Nagata, K., S. Saga, and K.M. Yamada, A major collagen-binding protein of chick embryo fibroblasts is a novel heat shock protein. *The Journal of Cell Biology*, 1986. 103(1): p. 223-229.
127. Takechi, H., et al., Molecular cloning of a mouse 47-kDa heat-shock protein (HSP47), a collagen-binding stress protein, and its expression during the differentiation of F9 teratocarcinoma cells. Vol. 206. 1992. 323-329.
128. Kudo, H., et al., Two Collagen-Binding Proteins, Osteonectin and HSP47, Are Coordinately Induced in Transformed Keratinocytes by Heat and Other Stresses. *Experimental Cell Research*, 1994. 212(2): p. 219-224.

129. Schiaffonati, L., L. Tacchini, and C. Pappalardo, Heat shock response in the liver: expression and regulation of the hsp70 gene family and early response genes after in vivo hyperthermia. *Hepatology*, 1994. 20(4 Pt 1): p. 975-83.
130. Inaguma, Y., et al., Induction of the synthesis of hsp27 and alpha B crystallin in tissues of heat-stressed rats and its suppression by ethanol or an alpha 1-adrenergic antagonist. *J Biochem*, 1995. 117(6): p. 1238-43.
131. McEwen, B.S., Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol Psychiatry*, 2000. 48(8): p. 721-31.
132. McEwen, B.S., Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur J Pharmacol*, 2008. 583(2-3): p. 174-85.
133. Raber, J., Detrimental effects of chronic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. From obesity to memory deficits. *Mol Neurobiol*, 1998. 18(1): p. 1-22.
134. McQuade, R. and A.H. Young, Future therapeutic targets in mood disorders: the glucocorticoid receptor. *Br J Psychiatry*, 2000. 177: p. 390-5.
135. Selye, H., A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 1998. 10(2): p. 230-1.
136. Brown, E.S., A.J. Rush, and B.S. McEwen, Hippocampal Remodeling and Damage by Corticosteroids: Implications for Mood Disorders. *Neuropsychopharmacology*, 1999. 21: p. 474.
137. Ulrich-Lai, Y.M., et al., Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006. 291(5): p. E965-73.
138. M. Sapolsky, R., How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. Vol. 21. 2000. 55-89.
139. Adzic, M., et al., Effect of different types of stress on adrenal gland parameters and adrenal hormones in the blood serum of male Wistar rats. Vol. 61. 2009.
140. Hornsby, P.J., 1 - The regulation of adrenocortical function by control of growth and structure A2 - Anderson, David C, in *Adrenal Cortex*, J.S.D. Winter, Editor. 1985, Butterworth-Heinemann. p. 1-31.

141. Soñez, C.A.M., M.; Becú, D.; Rolando, A.; Romanini, M. C.; Díaz, M. C.; Rodríguez, M. I. & Gauna, H. , Effects of chronic stress on the plasmatic levels of PRL, FSH, LH, estradiol and progesterone in pregnant rats. *Biocell*, 1996. 14:81.
142. McEwen, B.S., Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci*, 2006. 8(4): p. 367-81.
143. Garcia, A., et al., Recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure. *Neuroendocrinology*, 2000. 72(2): p. 114-25.
144. Adzic, M., et al., Acute or chronic stress induce cell compartment-specific phosphorylation of glucocorticoid receptor and alter its transcriptional activity in Wistar rat brain. *J Endocrinol*, 2009. 202(1): p. 87-97.
145. Koko, V., et al., Effect of acute heat stress on rat adrenal glands: a morphological and stereological study. *J Exp Biol*, 2004. 207(Pt 24): p. 4225-30.
146. U. Feige, I.Y., R. I. Morimoto, B. S. Polla., *Stress-inducible cellular responses*. 2013, Birkhäuser Basel 1996: Birkhäuser Basel.
147. Johannisson, K., *Modern Fatigue: A Historical Perspective*, in *Stress in Health and Disease*. 2006, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 1-19.
148. Adamec, R., et al., Protein synthesis and the mechanisms of lasting change in anxiety induced by severe stress. *Behav Brain Res*, 2006. 167(2): p. 270-86.
149. Sandi, C. and M.T. Pinelo-Nava, Stress and memory: behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plast*, 2007. 2007: p. 78970.
150. Wheatley, D., *STRESS, ANXIETY AND DEPRESSION*. *Stress Medicine*, 1997. 13(3): p. 173-177.
151. Zhou, H., J. Qu, and M. Cherkaoui, Stress–oxidation interaction in selective oxidation of Cr–Fe alloys. *Mechanics of Materials*, 2010. 42(1): p. 63-71.
152. Lobato, K.R., et al., alpha-Tocopherol administration produces an antidepressant-like effect in predictive animal models of depression. *Behav Brain Res*, 2010. 209(2): p. 249-59.

8 ÖZGEÇMİŞ

Adı	FIRAT	Soyadı	AŞIR
Doğum Yeri	CİZRE	Doğum Tarihi	10/01/1990
Uyruğu	TC	Tel	+90 532 139 3373
E-posta	firatasir@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi/Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (ingilizce)	2014
Lise	Mersin Atatürk Lisesi (Y.D.A.L.)	2004

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Araştırma Görevlisi	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve embriyoloji Anabilim Dalı	2.5 (2015 Ekim – Halen)

Yabancı Dil Sınav Notu								
KPDS/ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
YDS – 85 (2014/Bahar)								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı (2014/Bahar)	90.54694	71.19350	88.89053

9 EKLER

9.1 Etik kurul kararı

T.C.DİCLE ÜNİVERSİTESİ
PROF. DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ
ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(DÜHADEK)

ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	KARAR NO	TOPLANTI SAYISI
20.10.2017	1	7

KARAR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'in yürütücüsü olduğu Arş. Gör. Fırat AŞIR'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Kronik immobilizasyon stresinde E vitaminin koruyucu etkisinin fare adrenal bezinde araştırılması" başlıklı ve 2017/13 protokol numaralı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Fare (BALB/C)	Erkek	28	10-12 haftalık / 20-30 gr

Etik Kurulumuzca görüşülmüş olup araştırmanın oy çokluğu ile etik kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Beran YOKUŞ
(BAŞKAN)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Hüseyin ALKAN
(RAPORTÖR)

Prof. Dr. Ebru İNCE BOSTANCI
(ÜYE)

Doç. Dr. Hasan AKKOÇ
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Akın KOÇHAN
(ÜYE)

Öğr. Mehmet Yavuz KAHRAMAN
(ÜYE)

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA
(ÜYE)

Doç. Dr. Ayşe MEŞE
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Ulaş ALABALIK
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Feray ALTAN
(ÜYE)

Av. Abdullah YAVUZ
(ÜYE)

İletişim: DÜBTAM binası, Zemin Kat, DÜSAM laboratuvarları (İlahiyat Fak. Karşısı) 21280 Sur /DİYARBAKIR
E-posta: dusam@dicle.edu.tr Sekreteryar: 0 412 248 8431 (3956) Vet.Hekim: 0 412 2488001-16 hat (4423)

10 ORJİNALLİK RAPORU

20.03.2018

Turnitin

Doküman Görüntüleyici

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme konu: 19-Mar-2018 16:29 +03
NUMARA: 932611011
Kelime Sayısı: 8511
Gönderildi: 1

Fırat AŞIR Yüksek Lisans Tezi
Fırat Aşır tarafından

[yenile](#)

<1% match (20-
May-2015 tarihli
internet)

Benzerlik Endeksi

% < 1

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources:	%0
Yayınlar:	%0
Öğrenci Ödevleri:	%0

<http://www.journals.istanbul.edu.tr>

<1% match (04-Eyl-2012 tarihli internet)

<http://www.turkosteopozdergisi.org>

<1% match (10-Mar-2016 tarihli internet)

<http://acikerisim.deu.edu.tr>

<1% match (yayınlar)

[AKKOÇ, Hasan, KELLE, İlker, KALE, Ebru and KILINÇ, Nihal, "Sıçan modelinde uzak iskemik önkoşullamanın akciğerdeki iskemi", Dicle Üniversitesi, 2008,](#)

1. GİRİŞ VE AMAÇ Stres organizmanın fizyolojik homeostasisini bozmaya yönelik her türlü stresogenik uyarımlara karşı verdiği yanıt olarak tanımlanır. Günlük hayatımızda hayvan modellerinde stresogenik uyancılar olarak sıcaklık, soğukluk, fiziksel kısıtlamalar, kalabalık, gürültü, immobilizasyon veya bağlama örnek verilebilir (1, 2). İnsanlar olarak stresli durumlarla sürekli karşılaşırız; uçağa son dakikada yetişmek, sınavları geçmeye çalışmak, yılan veya köpeklerle karşılaşmak, topluluk önünde konuşurken zorlanmak, verilen işi yetiştirmek gibi. Bu tür durumlara vücudumuz iki şekilde yanıt vermeye çalışır: birincisi sempatik sinir sistemi ile vücuda adrenalin ve noradrenalin pompalamak, ikincisi son ürünü kortikostereoid olan hipotalamik-pitüvar- adrenal (HPA) aks. Her iki sistem vücudun strese karşı savaşında rol alır (1, 2). Köpekten korkan biri köpek görünce tüm dikkatini köpeğe verir, enerji beyin ve kaslara akar, diğer sistemler durma noktasına gelir. Buna karşın, işe mesai saatinin son dakikasında yetişen birinde stresin azalması ve rahatlama gözlemlenebilir. Basit iki örnek günlük hayatta hepimiz için olmasa da çoğumuz için geçerli bir durum. Uzun süreli bakarsak, bu gibi durumlar sık sık yaşandığı için bu sistemdeki değişimin etkileri büyük olabilir. Stres süresince organizmanın kararlılığını devam ettirmesi için hipotalamik-pitüvar-adrenokortikal ve sempatoadrenomedullar sistem rol alır ve her iki sistemde de adrenal bez son karar verici merkezdir (3). Adrenal bez, medulla ve korteksinden salgılanan hormonlar (adrenalin/noradrenalin ve kortikal steroidler) aracılığı ile vücudun değişik stres uyancılarına karşı cevap verdiği temel organdır. Korteksi kabaca özetlersek dıştan medullaya doğru zona glomeruloza (çoğunlukla mineralokortikoidler), ortada zona fasikülata

https://turnitin.com/newreport_classic.asp?lang=tr&old=932611011&t=1&bypass_cv=1

1/17