

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

**MEME TÜMÖRÜ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KEMOTERAPİ
UYGULAMASININ TUBA UTERİNA VE UTERUS DOKULARI ÜZERİNE ETKİSİ VE
ÇEŞİTLİ ANTİOKSİDANLARIN KORUYUCU ROLLERİNİN YAPISAL VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hilal AYDIN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Çiğdem ELMAS

ANKARA
Ocak 2010

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

**MEME TÜMÖRÜ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KEMOTERAPİ
UYGULAMASININ TUBA UTERİNA VE UTERUS DOKULARI ÜZERİNE ETKİSİ VE
ÇEŞİTLİ ANTİOKSİDANLARIN KORUYUCU ROLLERİNİN YAPISAL VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hilal AYDIN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Çiğdem Elmas

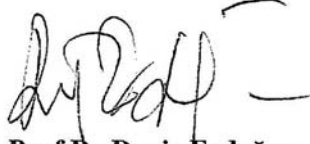
Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE-2007-35 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ocak 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

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

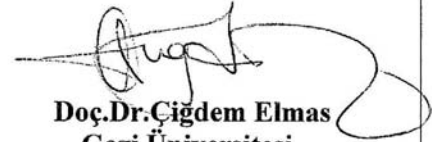
Tez Savunma Tarihi : 19 /01/2010



Prof.Dr.Deniz Erdoğan
Gazi Üniversitesi



Prof.Dr.Nedret Kılıç
Gazi Üniversitesi



Doç.Dr.Çiğdem Elmas
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller, Resimler, Grafikler	v
Kısaltmalar ve Simgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Tuba Uterina ve Uterus'un Gelişimi	6
2.2. Uterus'un Anatomisi	10
2.2.1. Corpus Uteri (Gövde)	11
2.2.2. Fundus uteri	12
2.2.3. Cervix uteri (Serviks)	13
2.3. Uterus'un Histolojisi	19
2.3.1. Perimetrium	19
2.3.2. Miyometrium	20
2.3.3. Endometrium	21
2.4. Uterus'un Fizyolojisi	25
2.5. Tuba Uterina'nın Anatomisi (Salpinx, Fallop Kanalı)	28
2.5.1. Infundibulum Tuba Uterina	29
2.5.2. Ampulla Tuba Uterina	30
2.5.3. İsthmus Tuba Uterina	30
2.5.4. Pars Tuba Uterina	30
2.6. Tuba Uterina'nın Histolojisi	31
2.6.1. Tunika Mukoza	32
2.6.1.1. Epitel	32
2.6.1.2. Lamina Propriya	34
2.6.2. Tunika Muskularis	34
2.6.3. Tunika Seroza	35
2.7. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi	35

2.8. Meme Kanseri	37
2.8.1 MNU	40
2.9. Kemoterapi	41
2.9.1. Siklofosfamid	43
2.10. Antioksidanlar	45
2.10.1. C Vitamini (Askorbik Asit)	47
2.10.2. E Vitamini (Alfa Tokoferol)	49
2.10.3. Selenyum	52
2.11. Meme Tümörü ve Kemoterapide Etkili Moleküller	53
2.11.1. Ki-67	53
2.11.2. Kaspaz-3	55
2.11.3. VEGF	57
3. GEREÇ VE YÖNTEM	61
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	61
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem	63
3.3. Elektron Mikroskopik Yöntem	64
3.4. İstatistiksel Yöntem	67
4. BULGULAR	69
4.1. Uterus'un Bulguları	69
4.1.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	69
4.1.2. Yarı-İnce Kesit Bulguları	73
4.1.3. Elektron Mikroskopik Bulgular	74
4.1.4. İstatistiksel Bulgular	76
4.2. Tuba Uterina'nın Bulguları	77
4.2.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	77
4.2.2. Yarı-İnce Kesit Bulguları	80
4.2.3. Elektron Mikroskopik Bulgular	81
4.2.4. İstatistiksel Bulgular	82
5. TARTIŞMA	154
6. SONUÇ	172
7. ÖZET	173

8. SUMMARY	175
9. KAYNAKLAR	177
10. EKLER	199
11. TEŞEKKÜR	200
12. ÖZGEÇMİŞ	201

ŞEKİLLER, RESİMLER ve GRAFİKLER

Şekiller

Şekil 1: Siklofosfamid'in kimyasal yapısı 44

Resimler

Resim 1A, 1B: Kontrol grubuna ait uterus dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 84

Resim 2A, 2B: Kanser grubuna ait uterus dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 85

Resim 3A, 3B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 86

Resim 4A, 4B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 87

Resim 5A, 5B: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 88

Resim 6A, 6B: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 89

Resim 7A, 7B: Kontrol grubuna ait uterus dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 90

Resim 8A, 8B: Kanser grubuna ait uterus dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400) 91

Resim 9A, 9B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	92
Resim 10A, 10B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	93
Resim 11A, 11B: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	94
Resim 12A, 12B: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	95
Resim 13A, 13B: Kontrol grubuna ait uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	96
Resim 14: Kontrol grubuna ait uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100)	97
Resim 15A, 15B: Kanser grubuna ait uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	98
Resim 16A, 16B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	99
Resim 17A, 17B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	100
Resim 18A, 18B: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait	

uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	101
Resim 19A, 19B: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400)	102
Resim 20A, 20B: Kontrol grubuna ait uterus dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000, BX1000)	103
Resim 21A, 21B: Kanser grubuna ait uterus dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000, BX1000)	104
Resim 22A, 22B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000, BX1000)	105
Resim 23A, 23B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000, BX1000)	106
Resim 24A, 24B: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000, BX1000)	107
Resim 25A, 25B: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000, BX1000)	108
Resim 26A, 26B: Kontrol grubuna ait uterus dokusunun elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4240, BX2900)	109
Resim 27A, 27B: Kanser grubuna ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4550, BX7490)	110
Resim 28: Kanser grubuna ait uterus dokusu elektron mikroskopik	

görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X4180)	111
Resim 29A, 29B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX1217, BX3220)	112
Resim 30: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X5080)	113
Resim 31A, 31B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX5840, BX5840)	114
Resim 32A, 32B: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX6000,BX1628)	115
Resim 33: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X5440)	116
Resim 34: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X6840)	117
Resim 35: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik görünümü (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X7320)	118
Resim 36: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	119
Resim 37: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	120

Resim 38: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	121
Resim 39: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	122
Resim 40: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	123
Resim 41: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Ki-67 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	124
Resim 42: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	125
Resim 43: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	126
Resim 44: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	127
Resim 45: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	128
Resim 46: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	129
Resim 47: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda Kaspaz-3 antikor tutulumu	

(İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400)	130
Resim 48: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)	131
Resim 49: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)	132
Resim 50: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)	133
Resim 51: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)	134
Resim 52: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)	135
Resim 53: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda VEGF antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)	136
Resim 54: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000)	137
Resim 55: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusu yarı ince kesit Görünümü (Toluidin blue AX1000)	138
Resim 56: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000)	139
Resim 57: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000)	140
Resim 58: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba	

uterina dokusu yarı ince kesit görünümü (Toluidin blue AX1000)	141
Resim 59: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3870)	142
Resim 60: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX3740, BX1045)	143
Resim 61: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3740)	144
Resim 62: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7490)	145
Resim 63A, 63B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4550, BX5370)	146
Resim 64: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X4070)	147
Resim 65A, 65B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4390, BX1037)	148
Resim 66: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X9700)	149
Resim 67: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik görünümü (Uranil asetat-Kurşun sitrat X5970)	150

Grafikler

Grafik 1: Deney gruplarının uterus duvar kalınlığına göre değerlendirildiği istatistiksel grafik	151
Grafik 2: Deney gruplarının uterus endometriyum duvar kalınlığına göre değerlendirildiği istatistiksel grafik	152
Grafik 3: Deney gruplarının tuba uterina duvar kalınlığına göre değerlendirildiği istatistiksel grafik	153

KISALTMALAR VE SİMGELER

DNA:	Deoksiribonükleik Asit
VEGF:	Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörü
MNU:	N-Metil-N-nitrozüre
MIS:	Müller Baskılayıcı Madde
Lig:	Ligamentum
GnRH:	Gonadotropin Salıcı Hormon
FSH:	Folikül Uyarıcı Hormon
LH:	Luteinize Edici Hormon
GER:	Granüllü Endoplazmik Retikulum
kDa:	Kilo Dalton
RNA:	Ribonükleik Asit
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
SOD:	Süperoksit Dismutaz
Sec:	Selenasistein
DED:	Ölüm Tetikleyici Bölge
Card:	Kaspaz İyileştirme Bölgesi
PIGF:	Plevental Büyüme Faktörü
NO:	Nitrik Oksit
YEp:	Yüzey Epiteli
BEp:	Bez Epiteli
Ç:	Çelirdek
Ap:	Apoptotik Görünüm
Kol:	Kollagen
V:	Vakuol
Lp:	Lamina Propriya
KH:	Koyu hücreler
AH:	Açık Hücreler
Mv:	Mikrovillus
Ep:	Epitel

S: Silya

Sz: Silyasız hücreler

Kr: Kristolisiz

VES: Vitamin E Süksinat

1. GİRİŞ

Kanser, yüzyılımızda sosyal ve ekonomik açılardan kişi, aile ve toplum üzerine çeşitli ağır sorunlar yükleyen; tanı ve tedavisi güç, masraflı ve genellikle kronik bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır.¹

Meme kanseri, kanser türleri açısından ele alındığında dünya genelinde en yaygın kanser tipi olarak nitelendirilmektedir. Her yıl 1.000.000'dan fazla yeni olguya rastlanmakta ve yaklaşık 373.000 kadın hayatını bu nedenle yitirmektedir.^{2,3,4}

Kemoterapi özellikle çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, doğal ya da sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavi şeklidir. Kemoterapi ajanları arasında alkileyici olanlar, erkek ve kadın hastalarda en büyük etkilerini üreme sistemi üzerinde göstermektedir. Gen mutasyonları, kromozomal kırılmalar, anöploidi bu ajanlarla uyarılmaktadır.^{5,6}

Siklofosfamid meme kanseri tedavisinde oldukça geniş kullanım alanına sahip kemoterapik bir ajandır. Mitoz bölünmeyi durdurarak kanser hücrelerinin büyümesini engellemektedir. Karaciğerde alkali metabolitlere dönüştürülerek, alkil gruplarını DNA'nın guanin bileşenine iletmekte böylece DNA zincirinde kırılmalara neden olmaktadır. Siklofosfamid ve diğer kemoterapik ilaçların uzun süreli uygulamaları ardından gelişebilecek olası yan etkileri ile ilgili endişeler bulunmaktadır. Bu etkiler özellikle gonadlarda ve germ hücrelerinde DNA bozuklukları olarak kendini göstermektedir. Yapılan çalışmalar, Siklofosfamid'in normal ovaryum fonksiyonunu bozduğunu ve steroidlerin üretimini engellediğini de

göstermektedir. Siklofosfamid, endometriyal hücreler gibi hızlı bölünen hücrelerde ise mitoz bölünmeyi azaltıcı etki göstermektedir. Bu nedenle endometriyum ve uterus kalınlığında bir azalma ortaya çıkmaktadır.^{7,8,9,10}

Bir ya da daha fazla paylaşılmamış elektrona sahip atom veya moleküller olarak bilinen serbest oksijen radikalleri, karsinogenezin başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol oynarlar. Prokarsinojenleri aktif hale getirebilir, DNA hasarına yol açabilir ve hücrel antioksidan savunma sistemlerini değişikliğe uğratabilirler.¹¹

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşın vücutta pek çok savunma sistemi gelişmiştir. Bu sistemlere antioksidan savunma sistemleri, bu sistemde kullanılan moleküllere ise antioksidanlar denilmektedir. Antioksidan savunma sistemi, koruyucu rolünü metabolizmanın normal işleyişi sırasında gerçekleştirir. Asıl etkisini ise hastalık ya da organizmada herhangi bir nedenle oluşan serbest radikal oluşumu durumunda arttırmakta ve bu durumu etkisizleştirmeye çalışmaktadır.^{12,13}

Bir antioksidan olarak C vitamini birçok biyolojik sistemde önemli role sahiptir. Hormonlar, nörotransmitterler, kollajen, kornitin ve diğer maddelerin senteziyle yükümlüdür. Ekzojen bileşenlerinin detoksifikasyonunu sağlar ve sitokrom p-450 erki gösterir. Antioksidan olarak ve serbest radikallerin temizlenmesinde görev alır ve lipid peroksidasyonuna karşı korunma sağlar. Kemoterapik ilaçların yan etkisini azaltarak ve ilacın kanserli hücrelerdeki öldürücü etkisini arttırarak kanser tedavisine de destek olmaktadır. Yapılan çalışmalarda kanserli farelere C vitamini uygulandığında hayatta kalma oranında artış, tümör boyutunda küçülme ve kanser hücrelerinde dağılma gözlenmiştir. C vitamini birçok

memeli türünde vücutta sentezlenmediği için eksikliğinde ya da fazlalığında üreme sisteminde bozukluklar izlenmektedir.^{14,15,16}

Bir diğer antioksidan olan E vitamini sayısız yaşam işlevlerine sahiptir. Yapılan çalışmalarda E vitamininin; radikal giderme, zincir kırma, baskılama, onarma, hücresel kinaz kayıplarını önleme ve endojen savunmayı artırma mekanizmalarının tümünü kullanabildiği, bu nedenle geniş bir antioksidan etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Kanserli hastalarda; E vitamininin kanser hücrelerinin apoptoze gitmesine neden olduğu gösterilmiştir. E vitamini dışı üreme sisteminde olumlu etkiye sahiptir. E vitamininden eksik diyetle beslenen sıçanlarda, üreme sisteminde bozukluklar gözlenmiştir.^{17,18,19}

Antioksidan aktivitesiyle bilinen selenyumun, bunun yanında kemoterapötik, antiinflamatuvar ve antiviral özellikleri de bulunmaktadır. Selenyum kanser oluşmasını engelleyici etkiye sahiptir ve bu etkisi için öne sürülen mekanizmalar; programlanmış hücre ölümüne, DNA onarımına, selenoenzimlerdeki rolüne, immün sisteme etkisine ve bazı metabolitleriyle antianjiyogenik ajan olmasına bağlanmaktadır. Yüksek selenyum alımı olan insanlarda azalmış kanser riski olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda selenyum eksikliğinin infertilite ve düşüklere neden olduğu gösterilmiştir.^{20,21}

Hücre çoğalmasını incelemek için en sık kullanılan antijenlerden biri Ki-67dir. İmmünohistokimyasal olarak çekirdekte boyanma özelliği gösteren Ki-67 proteini, hücre döngüsünün dinlenme evresi (Go) dışında her evrede (G1, S, G2, M) eksprese olmaktadır. Bu

nedenle normal dokular ve neoplastik dokularda, büyüme fraksiyonundaki hücreleri göstermede iyi bir belirleyicidir. Bu protein normal ya da tümöral olarak çoğalan tüm hücrelerde boyanma özelliği gösterir.^{22,23}

Apoptozisin erken evrelerinde, bir protein ailesi olarak bilinen kaspazlar aktive olurlar. Bu proteinler normal hücresel fonksiyonlar için gerekli olan, özellikle hücre iskeleti yapısal proteinleri ve DNA onarımında rol alan çekirdek proteinlerin parçalanmasından sorumludurlar. Aynı zamanda kaspazlar DNAzlar gibi çekirdekte DNA'yı parçalayan ve diğer parçalayıcı enzimleri aktive ederler. Kaspaz ailesi arasında apoptozisle en bağlantılı olan ve hücreyi ölüme götüren kaspaz-3'tür.^{24,25}

Anjiyogenezis iyi programlanmış bir kaskattır. Aktif anjiyogenetik faktörler, endotel hücrelerinden salınmakta ve metaloproteazlar, plazminojen aktivatörleri gibi maddelerin salınmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak damarların bazal membranları yıkılmakta, endotel hücreleri doku içerisine ilerleyerek yeni damar oluşumlarını sağlamaktadır. Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)' dir. VEGF ailesi birçok üyeden oluşmaktadır ve ailenin tüm üyeleri; vücutta olaylanan birçok fizyolojik (vaskülogenezis, anjiogenezis ya da kemotaksi gibi) ve patolojik olayda (kanser, neovasküler hastalıklar veya kronik inflamatuvar hastalıklar gibi) rol oynamaktadır.^{26,27}

Bu çalışmada genç sıçanlarda etkili bir kemoteropatik ajan olan Siklofosamid uygulamasının, MNU ile meme kanseri oluşturulan deneklerin uterus ve tuba uterina yapısına verdiği hasar ile çeşitli

antioksidan ajanların olası koruyucu etkilerinin immunohistokimyasal ve ince yapı düzeyinde karşılaştırmalı olarak ortaya konulması amaçlandı.

Bulgular literatür verileriyle karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tuba Uterina ve Uterus'un Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti, genetik olarak daha döllenme anında belirlenmiş olmasına karşın, erkek ve dişi yapısal özellikleri, embriyonik gelişimin 7. haftasında olur.²⁸

Kromozomal cinsiyet, spermiyumun taşıdığı X ya da Y kromozomuna bağlıdır. Önceleri cinsiyetin dişi yönünde farklılaşabilmesi için oositin X kromozomu taşıyan bir spermiyumla döllenmesinin yeterli olduğu sanılırdı. Ancak son yıllarda ilkel gonadın ovaryum'a dönüşebilmek için bazı genlerin varlığına da gereksinim duyduğu anlaşılmıştır. Dişi cinsiyet gelişimi için Wnt-4 sinyal molekülü önemli işleve sahiptir. Doğumda, Wnt-4 mutasyonlu erkeklerde gelişim normalken, Wnt-4 mutasyonlu dişilerde erkek özellikleri gözlenmektedir. Wnt-4, X kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan DAX1'i uyarak SF1 aktivitesini düzenlemekte, Sertoli ve Leydig hücrelerinin oluşmasını engellemektedir.^{29,30}

İntrauterin gelişimin erken evrelerinde, genital sistemler her iki cinsten benzer olduğundan genital gelişimin bu dönemine "seksüel gelişimin farklılaşmamış evresi" denir.³¹

Dişi ve erkek embriyonların her ikisi de iki çift genital kanal içerir. Mezonefrik kanal (Wolffian kanalı) erkek üreme sisteminin

gelişmesinde önemli bir yer tutarken, Paramezonefrik kanal (Müllerian kanalı) dişi üreme sistemi gelişiminde rol oynamaktadır. Embriyon 26-32 günlükken mezonefrik kanallar yukarıdan aşağıya inerek ilkel kloakaya açılır. 4. haftanın sonunda her ürogenital kıvrımın ön-yan kısmında, mezodermal katmana doğru epitelyal içe çökmeler şekillenir. Mezonefrik kanallara yan olarak yerleşmiş bu epitelyal girintiler paramezonefrik kanalları oluştururlar. 5-6. haftalarda genital sistem farklanmamış evrededir ve genital kanalların her iki çifti de bulunur.^{28,31}

Paramezonefrik kanal, 6. hafta sonunda mezonefrik kanalın yanında, Plika urogenitalis lateralis epitelinin kalınlaşması sonucunda huni şeklinde bir çöküntü olarak belirir. Paramezonefrik kanalın gelişmesi, büyük olasılıkla mezonefrik kanalın, çevresindeki dokuya yaptığı bir indüksiyon sonucu olaylanır. Deneysel olarak mezonefrik kanal çıkarıldığında paramezonefrik kanalın gelişimini sürdüremediği görülmüştür. Paramezonefrik kanallar ön tarafta mezonefrik kanalları çaprazlayıp en alt kısımda yan yana gelirler.³²

XY kromozomu içeren erkek embriyonlarda testis yönünde farklanan gonadların yapısında bulunan Leydig hücrelerince sentezlenen testosteron, dişi embriyonlarda olmadığından, mezonefrik kanallar geriler. Sertoli hücrelerince salgılanan 'Müller Baskılayıcı Madde' (MIS) yokluğunda da paramezonefrik kanallar gelişir ve ileri farklanır. Erkek cinsiyet gelişiminin uyarılması için testosteron gerekli olmasına karşın, dişi cinsiyet gelişiminde ovaryum ve hormonların varlığı koşul değildir. Dişi genital yollarının çoğunluğu, paramezonefrik kanalca oluşturulur.²⁸

Başlangıçta her paramezonefrik kanalda üç kısım tanımlanabilir;

- a- Karın boşluğuna açılan kranial vertikal parça
- b- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal parça
- c- Karşı taraftan gelen eşiyle birleşen kaudal vertikal parça

Ovaryumların aşağı inmesine koşut ilk iki kısımdan tuba uterinalar gelişir. Bunların kaudal kısımları da uterus kanalını oluşturmak üzere kaynaşır. Paramezonefrik kanalların kranial vertikal parçalarının açık üst uçları tuba uterinaların fimbriyalarını yapar. Kranial vertikal parçadan aynı zamanda tuba uterinaların infundibulum ve ampulla kısımları oluşur. Horizontal parça ise isthmus'u biçimlendirir. Başlangıçta vertikal olarak yerleşim gösteren tuba uterinalar, uterusun gelişmesi sırasında karın boşluğunun iç kısmına doğru hareket ederek horizontal konuma gelirler. Tuba uterinaların belirginleşmesi intrauterin gelişimin 16 ve 20. haftaları arasında olur. ^{29,33}

4. ve 5. aylar boyunca; tuba uterinalarda belirgin bir büyüme erki görülür. Tüplerin boyu uzar ve ergin şeklini alır. Mukoza ve kas katmanı farklanır. Fimbriyalar gelişirken infundibulum, isthmus ve ampulla bölgeleri belirginleşir. ³⁴

Paramezonefrik kanalların ikinci kısımlarının medial ve kaudal yönde yer değiştirmeleriyle ürogenital sırtlar giderek daha transvers bir düzleme otururlar. Kanallar orta hatta birleştikten sonra, pelvis içinde kalın transvers bir kıvrım oluşur. Kaynaşmış paramezonefrik kanalların

lateralinden, pelvis duvarına kadar uzanan bu kıvrıma uterus'un sınırlayıcı ligamenti denir. Bu ligamentin üst sınırında tuba uterinalar, arka yüzünde de ovaryumlar yer alır. Uterus ve sınırlayıcı ligamentler, pelvis'i uterorektal ve uterovezikal boşluk olarak ikiye böler. Kaynaşan paramezonefrik kanallardan uterus'un korpus ve serviks'i gelişir. Bunların çevresi uterus'un kas katmanı miyometrium'u ve periton örtüsü olan perimetrium'u oluşturan bir mezenşim tabakasıyla sarılmıştır.²⁸

Serviks paramezonefrik kökenli olmasına karşın, müköz membranları ürogenital sinüsten köken alır.³¹

İnsanda uterus başlangıçta iki boynuzludur. Gelişim ilerledikçe son şeklini alır. İnsanda uterus'un gelişimi bazen iki boynuzlu evresinde kalabilir. Normalde bu iki boynuz arasında mezenşim çoğalması olur ve uterus gelişkinde bildiğimiz armut biçimini alır.³²

Paramezonefrik kanalların uzunlukları boyunca ya da herhangi bir bölgesinde kaynaşmamaları sonucunda uterus duplikasyonları oluşur. En şiddetli şeklinde iki uterus vardır (uterus didelfis); en hafif şekli ise, uterus korpusu'nun ortasından lümen içine doğru hafif bir çıkıntının olduğu durumudur (uterus arkuatus). Sık görülen uterus anomalilerinden biri, uterus'un ortak bir vajinaya iki boynuz şeklinde açıldığı uterus bikornistir.²⁹

Paramezonefrik kanalların yetişkindeki yapılara dönüşmeleri sırasında, kanalların bazı parçaları, kalıntı yapılar olarak kalırlar. Bu kalıntılar, patolojik değişikliklere uğramazlarsa, çok ender gözlenirler.²⁸

Mezonefrik kanalın kranial ucu, appendiks vesiküloza adı verilen bir yapı olarak kalıcı olabilir. Epoophoron, birkaç kör olarak sonlanan tübül ve kanaldan oluşur ve erkekteki duktuli efferentesler ve duktus epididimis karşılığıdır. Epoophoron, ovaryum ve tuba uterina arasında mesovaryum içerisinde kalır. Uterus'a yakın yerleşimli bazı artık tübüller paroophoron olarak kalırlar. Mezonefrik kanalın, duktus deferens ve ejakülatuar kanala karşılık gelen bazı bölümleri; vajina duvarı içerisinde ya da uterus'un yan duvarları boyunca kalın ligament katmanları arasında, Gartner kanalı olarak kalıcı olabilir. Bu mezonefrik kanal kalıntılarından, Gartner kistleri oluşabilir.²⁸

Paramezonefrik kanalın kranial ucunun bir kısmı, tuba uterina infundibulumunun oluşumuna katılmaz ve veziküler bir yan oluşum olan Morgagni hidatiği olarak kalır.²⁸

2.2. Uterus'un Anatomisi

Uterus, pelvis minor'un tam ortasında yerleşik, duvarları kalın kas katmanı ile sarılı, içi boş bir organdır. Uterus, rectum'un önünde, vesica urinaria'nın arkasında ve vagina'nın üstünde yer alır. Üstten ise ince bağırsak kıvrımları ile komşuluktadır. Uterus'un üst bölümü tuba uterina, pelvis içindeki bölümü vagina ile devam eder.^{35,36}

Uterus tabanı yukarıda, tepesi aşağıda ters konumlu bir armuda benzer. Önden ve arkadan hafif basıkçadır. Organın uzun eksenini orta planda yerleşim göstermekle birlikte, uterus'un pelvis eksenine uyan ve öne aşağıya bakan bir konkavitesi vardır.³⁵

Uterus'un yapı ve fonksiyon bakımından birbirinden farklı corpus uteri, fundus uteri ve cervix uteri olarak isimlendirilen üç bölümü bulunur. Bazı anatomistler corpus ve cervix uteri arasında isthmus uteri denilen bir bölümü de tanımlarlar. Organın dış yüzünden pek ayırt edilemeyen isthmus uteri, iç yüzde canalis cervicalis ve cavitas uteri'nin birleşim yerine uyar.³⁵

Corpus uteri, uterus'un daha geniş üst kısmıdır. Cervix uteri ise, ince ve dar bölüm olup vagina'ya açılır. Uterus'un bu şekilde olmasının doğumda önemi vardır. Gebeliğin gelişimi corpus uteri'de olur. Bu evrede cervix uteri kapalıdır. Bunun nedeni ise fetüsün düşmesini engellemektir. Cervix uteri doğum başladığında açılır.³⁵

2.2.1. Corpus uteri (Gövde)

Uterus'un 2/3 üst kısmını oluşturur. Tabanı yukarıda tepesi aşağıda bir üçgene benzer. Önden arkaya basık olan corpus uteri'nin iki yüzü ve üç kenarı vardır.³⁵

Facies vesicalis (facies anterior), uterus'un ön yüzü olup vesica urinaria'nın üst yüzü ile komşuluk yapar. Corpus uteri'yi örten periton, mesane'nin üst yüzünden atlayarak excavatio vesicouterina adı verilen çıkmazı yapar.³⁵

Organın arka üst yüzü olan facies intestinalis (facies posterior) daha konveks ve geniştir. Bu yüz rectum'a bakar. Rectum ile arasına ince bağırsaklar ve colon sigmoideum bulunur. Facies intestinalis'i örten periton arkaya ve aşağıya uzanarak vagina'nın üst kısmını örttükten sonra rectum'a atlar. Periton'un uterus'un alt ve vagina'nın üst arka kısmı ile rectum arasında oluşturduğu çıkmaza excavatio rectouterina (Douglas çıkmazı), bu çıkmazı oluşturan kıvrıma plica rectouterina (Douglas plikası) denir.³⁵

Margo uteri dexter ve margo uteri sinister, uterus'un yan kenarlarıdır. Uterus'u örten lig. latum uteri bu kenarlarda birleşerek dış yana doğru uzanır. Bu kenarların üst kenarla birleştiği yerde birer boynuzumsu çıkıntı bulunur. Bunlara cornu uteri dexter ve sinister denir. Buraya tuba uterina'lar tutunur.³⁵

2.2.2. Fundus uteri

Margo superior uterus'un üst kenarıdır. Corpus uteri'nin tuba uterina'ların bağlandığı yerin üzerinde kalan künt, kalın ve konveks kısmı olup fundus uteri adını alır. Fundus uteri kubbe şeklindedir ve üzeri periton ile örtülüdür. İnce bağırsak kıvrımları ve colon sigmoideum ile komşuluk

yapar. Fundus uteri, uterus'un en geniş kısmıdır. Corpus uteri, fundus'tan isthmus'a doğru daralır ve serviks uteri ile birleşir.^{35,37}

Corpus uteri içinde, cavitas uteri denilen yaklaşık 6 cm uzunluğunda bir boşluk vardır. Uterus duvarının kalın olması nedeniyle organın büyüklüğüne oranla daha küçük bir boşluktur. Cavitas uteri'nin ön ve arka duvarları sürekli birbirleri ile değindikleri için sagittal kesitlerde bir yarık, koronal kesitlerde ise üçgen şeklinde görülür. Üçgenin tepe kısmı cavitas uteri'yi, canalis cervicis uteri'ye bağlar.^{37,38}

2.2.3. Cervix uteri (Serviks)

Uterus'un daha dar olan 1/3 alt parçasıdır. İsthmus uteri ile vagina arasında kalan kısımdır. Yaklaşık 2.5 cm uzunluğundadır. Uterus'un en sabit bölümüdür. İçinde, yukarıda cavitas uteri, aşağıda vagina ile devamlı bir kanal bulunur. Canalis cervicis uteri denilen bu kanal, isthmus uteri ile ostium uteri arasındadır. Ostium internum, canalis cervicis uteri ile uterus boşluğuna açılırken ostium externum, canalis cervicis uteri aracılığıyla vagina'ya açılır. Dış deliğe ostium uteri adı da verilir. Canalis cervicis önden arkaya basık, orta bölümü daha geniş bir boşluktur. Bu kanalın mukozasında plicae palmatae denilen küçük eğik plikalar görülür. Bunların tümü ağaç dalları şeklinde gözlendiği için arbor vitae uteri olarak adlandırılır. Cervix uteri'nin alt kısmı vagina'nın içine doğru uzanmıştır. Bu nedenle cervix uteri'nin portio supravaginalis cervicis ve portio vaginalis cervicis olarak iki bölümü vardır.^{35,37,38}

Portio supravaginalis cervicis, cervix uteri'nin vaginanın üstünde kalan 2/3'lük üst bölümünü oluşturur. Ön ve arka olarak iki yüzü ve iki yan kenarı vardır.

Ön yüzü mesane'nin arka üst yüzü ile komşuluk yapar. Aralarında fibröz bağ dokusu bulunur. Bu yüz peritonsuzdur. Parametrium adı verilen bağ dokusu yapısının içinde a. uterina ureter'i çaprazlayarak cervix uteri'nin 2 cm ön tarafına kadar uzanır.³⁵

Arka yüzü musculus rectouterinus denilen kas liflerine tutunur. Kas lifleri arkaya ve dış yana doğru rectum ve sacrum' a uzanarak buralarda sonlanır. Bu kasların üstünü örten peritoneum sağ ve solda iki katlantı yapar. Plica rectouterina adı verilen bu katlantılar arasında excavatio rectouterina (Douglas çıkmazı) bulunur. Yan kenarlar ise yaklaşık 1.5 cm uzağındaki ureterler ile komşuluk yapar.³⁵

Portio vaginalis cervicis, cervix uteri'nin vagina içinde kalan 1/3 lük kısmıdır. Vagina'nın ön duvarı üzerine sarkar. Bu ilişki sonucu vagina ile aralarında fornix vaginae denilen derin bir oluk oluşur ve bu oluk en derin arka taraftadır (fornix posterior).³⁵

Portio vaginalis'in tam ortasında ostium uteri bulunur. Vagina'nın arka duvarına doğru bakan bu delik hiç doğum yapmayan kadınlarda ufak ve yuvarlak, doğum yapanlarda ise enine bir yarık şeklindedir.^{35,38}

Uterus'un şekli, büyüklüğü ve konumu farklılık gösterir. Fötal yaşamda uterus, pelvis'in üst açıklığına doğru çıkıntı yapar ve cervix uteri, corpus uteriden daha büyüktür. Yetişkinlerde uterus'un konumu mesane ve rectum'un durumuna göre değişir.³⁷

Kadınların çoğunda uterus'un uzun eksenini ile vagina'nın uzun eksenini arasında açıklığı öne bakan 90 derecelik bir açı oluşur. Bu konum anteversio uteri olarak isimlendirilir. Ayrıca corpus uteri'nin uzun eksenini de internal os düzeyinde açıklığı öne bakan cervix'in uzun eksenini ile geniş bir açı oluşturur. 170 derece kadar olan bu açı ile anteflexio uteri durumu tanımlanır. Bu nedenle mesanesi boş olan ve ayakta duran kadınlarda uterus hemen hemen yatay konumdadır.³⁶

Bazı kadınlarda, fundus ve corpus uteri, vagina'nın arkasına doğru eğilerek excavatio rectouterina içinde bulunabilir. Bu konumdaki uterus'a retroversio uteri denir. Corpus uteri de cervix uteriye göre arkaya doğru bükülmüş ise retroflexio uteri konumu oluşur.³⁶

Pelvis minor içerisinde bulunan uterus, herhangi bir kemik oluşumuna dayanmaz. Bu nedenle konumunu kolayca değiştirebilir. Ön ve alt kısmında yerleşmiş olan mesane üzerine yaslanır. Uterus'un özellikle cervix uteri bölümünde bulunan bağ ve kas lifleri pelvis duvarlarına, sacrum, rectum, diaphragma urogenitale ve diaphragma pelvis'e tutunmuştur. Uterus bir grup bağlar ile çevresindeki organ ve kemiklere tutunur. Uterus'u taşıyan en önemli yapılar m. levator ani, lig. transversum cervicis, lig. pubocervicale ve lig. pubocervicale ve lig. sacrocervicalis'tir.³⁵

M. levator ani pelvis çıkımının büyük bölümünü örttüğünden uterus'un konumunu koruyan en önemli yapıdır. M. levator ani kasıldığında artmış karın içi basınca karşı koyar. M. levator ani'nin ön parçasını oluşturan kas lifleri, bu kası örten fascia aracılığı ile cervix uteri'ye tutunur. Böylece uterus'un aşağıya doğru yer değiştirmesi önlenmiş olur.³⁵

Lig. transversum cervicis (lig. cardinale, Mackenrodt bağı): Vagina'nın üst ve cervix uteri'nin alt bölümlerinden bu yapıları önden ve arkadan sararak vagina ve cervix uteri'nin yan kısımlarında bir araya gelerek pelvis yan duvarlarına doğru uzanırlar. Böylece pelvis döşemesi içinde bir yelpaze gibi uzanan bağ dokusu lifleri pelvis yan duvarlarına tutunur. Lig. transversum cervicis içindeki uterus'a ait damarlar ile birlikte cervix desteklenir. Özellikle retroversio uteri konumunda lig. transversum cervicis'lerin tutucu etkileri daha belirginleşir. Lig. transversum cervicis'in ön tarafa uzanan lifleri lig. pubovesicale, arka tarafa uzanan lifleri ise lig. sacrocervicale ile devam eder. Lig. transversum cervicis içinde a. vaginalis bulunur.³⁵

Lig. pubocervicale: Pubis'in arka yüzünü cervix uteri'ye bağlayan şerit biçimindeki bağlardır. Bu bağ mesane'nin yanından geçerken mesane'ye de tutunur. Bu liflere lig. pubovesicale denir.³⁵

Lig. sacrocervicale: Lig. transversum cervicis'in arka kısmından oluşur. Lig sacrocervicale'nin içinde m. rectouterinus denilen düz kas lifleri bulunur. Bu bağ, excavatio rectouterina'ların yanlarındaki sınırları plica rectouterina'ları oluşturur.³⁵

Lig. latum uteri: Uterus'un üst ve alt yüzlerini örten peritoneum, uterus'un yan kenarlarında birleşir. Uterus'un yan kenarlarında birleşen lig. latum uteri, pelvis'in yan duvarına uzanarak buradaki periton ile devam eder. Uterus'un en geniş bağı olan lig. latum uteri, ovarium, tuba uterina, uterus ile mesane ve rectum arasında enine olarak bulunur. Lig latum uteri'nin cervix uteri'de tabandan başlayıp ışınsal şekilde dağılarak pelvis duvarına tutunan liflere lig. cardinale uteri (mackenrodt bağları) adı verilir. Parametrium'u oluşturan liflerin ön, yan ve arkaya uzanması sonucu uterus'u taşıyan önemli bağlardan lig. transversum cervicis, lig. pubocervicale ve lig. sacrocervicale şekillenir. Bu oluşumlar uterus'un tutucu bağlarından. Lig. latum uteri'nin, uterus'un yan taraflarına tutunan kısmı uterus'u her iki taraftan destekleyip korur.³⁵

Lig. teres uteri: Tuba uterina'nın ön-alt kısmında, lig. latum uteri'nin iki yaprağı arasında bulunur. Uterus'un dış köşesinden öne ve dışa doğru uzanır. Lig. teres uteri aa. vesicales, a., v. obturatoria, n. obturatorius, a. umbilicalis ile a., v. iliaca externa'yı çarpazlar. Lig. teres uteri, anulus inguinalis profundus'tan girer; canalis inguinalis'ten geçtikten sonra labium majus'taki bağ dokusuna karışarak sonlanır. Bu ligament'in uterus'a yakın olan kısmı çok sayıda düz kas lifi içerir. Terminal kısmı ise bağ dokusu yapısındadır.³⁷

Lig. sacrouterina (Lig. uterosacralis, lig rectouterinum): Cervix uteri'yi arkaya yani sacruma sabitleyebilir. Cervix uteri'nin arka yüzü ve yan kenarlarından başlayarak arkada önce rectum'un ön ve yan yüzlerini sararak sacrum'un ön yüzüne peritoneum perietale ile birleşir.³⁵

Lig. ovarii proprium: Uterus'un yan köşelerinin alt ve arkasından başlayıp, dış yan ve arkaya uzanarak ovarium'un alt ucunda sonlanır. Lig. ovarii proprium'un uzunluğu yaklaşık 2.5-3cm kalınlığı ise, 2-4 mm kadardır. Uterus'un asıcı bağlarından olan lig. ovarii proprium, lig. latum uteri'nin arka katlantısını yapar.³⁵

Uterus, a. iliaca interna'nın dalı olan a. uterinalarca beslenir. A. uterina üstte a. ovarica, altta a. vaginalis ile anastomoz yapar. Her iki a. uterina orta çizgi düzeyinde çaprazlaşan küçük dallar ile anastomoz oluşturur. A. uterina'nın dalları lig. latum uteri içinde kıvrımlar yaparak yükselir ve uterus içinde yeniden dallara ayrılır. A. uterina'nın uterus duvarına giren dalları aa. arcuatae anteriores ve aa. arcuatae posteriores olarak gruplara ayrılır. Bu dallar dairesel olarak myometriyum'a ilerler ve karşı taraftan gelen dallar ile anastomoz yapar.³⁷

Diğer damarlardan ayrıcalı olarak a. uterina gebelikte hipertrofiye uğrar. Gebelik sırasında uterus genişledikçe kıvrıntılı olan damarlar düzleşir.³⁷

Uterus'un venleri arterler ile birlikte seyreder ve aynı isimleri alır. Cervix uteri'nin yan tarafında plexus venosus uterinus'u oluşturur. Buradan çıkan venler v. ilicia interna'ya açılır. Gebelik sırasında v. ovarica'larda belirgin genişlemeler görülür.³⁷

Fundus bölgesinden gelen çoğu lenf damarları nodi lumbales'e, bazıları ise nodi ilaci externi'ye ya da lig. teres uteri'yi

izleyerek nodi inguinales superficiales'e açılır. Corpus uteri'den gelen lenf damarları lig. latum uteri içerisinde nodi iliaci externi'ye açılır. Cervix uteri'den gelen lenf damarları nodi iliaci interni ve nodi sacrales'e dökülür.³⁹

Uterus'un sinirleri plexus uterovaginalis'ten gelir. Plexus hypogastricus inferior'dan çıkan nn.uterini lig. latum uteri'nin tabanında bu ismi alır. Uterus'a gelen preganglionik sempatik lifler medulla spinalis'in T 12-L 1 segmentlerinden, parasempatik lifler ise plexus pelvici aracılığıyla S 2-4 spinal segmentlerden gelir.³⁷

2.3. Uterus'un Histolojisi

Gebe olmayan uterus'un duvarı yaklaşık 2.5 cm kalınlıktadır ve dıştan içe üç katmandan oluşur.

- Perimetrium (Tunica serosa)
- Miyometriyum (Tunica muskularis)
- Endometriyum(Tunica mukoza)^{35,40}

2.3.1. Perimetrium

Periton'un visseral yaprağıdır. Tek katlı yassı epitel, mezotel ile bunun altında ince gevşek bağ dokusundan oluşur. Bu dış kat peritonsuz bölgede tunika adventisya'dır.⁴¹

2.3.2. Miyometriyum

Bağ dokusu ile ayrılmış düz kas demetlerinden oluşan uterus'un en kalın katmanıdır. Düz kaslar uterus'un işleviyle ilişkili olarak sınırları tam ayırt edilemeyen üç kat şeklinde düzenlenmiştir. İç kas katmanı, mukozanın hemen altında çok ince uzunlamasına düzenlenmiş kas demetlerinden oluşur. Orta kas katmanı, enlemesine uzanan kas demetleri ile bunlar arasındaki bağ dokusunda büyük kan damarları özellikle venler içerir. Dış kas katmanı ise uzunlamasına düzenlenmiş kas demetlerinden yapılmıştır.^{41,42,43}

Serviks ve isthmusta enlemesine uzanan düz kas katı çok iyi gelişmiştir. Miyometriyum kas demetleri kan damarları içeren gevşek bağ dokusuyla sarıdır. Bu bağ dokusu kollagen ve elastik liflerden zengindir. Fibroblast, histiyosit, makrofaj ve mast hücreleri kapsar.

Gebelik sırasında, miyometriyum bir büyüme evresine girer. Büyüme kasların hiperplazi (düz kas hücrelerinin sayısında artış) ve hipertrofisi (hücrenin büyüklüğünün artması) sonucu gelişir. Gebelikte birçok düz kas hücresi protein salgılayan hücrelerin ince yapı özelliklerini gösterir ve aktif olarak kollajen sentezler. Sonuçta uterus kollajen içeriği önemli ölçüde artar.⁴²

Gebelik sonrasında, bazı düz kas hücrelerinde harabiyet, diğerlerin boyutlarında azalma ve kollajenin enzimatik yıkımı izlenir. Uterus'un boyutları gebelik öncesindeki yakın değerlere iner. Hormonlar

uterus kaslarının çalışmasını etkilemektedirler. Gebelik sırasında miyometrial kasılmaların baskılanması, ovaryum ve plasentadan salgılanan relaksinin hormonunun denetimi altındadır. Doğum sırasındaki miyometriyal kasılmalar ise nörohipofizden salgılanan oksitosin hormonu denetiminde olur.^{35,42,44}

2.3.3. Endometriyum

Uterus'un en iç katmanıdır. Epitel ile basit tubuler bezler ve bazen onların daha iç kısımlarındaki dallanmalarını içeren lamina propriya'dan oluşur.^{41,42}

Lamina propriya fibroblastlardan zengindir ve bol miktarda temel madde içerir. Bağ dokusu çoğunlukla tip III kollajen liflerden oluşmuştur. Kollajen ve retiküler lif ağının aralıklarında, çok sayıda iç biçimli bağ dokusu hücreleri vardır. Gebelikte daha da irileşen bu hücrelere desidual hücreler denir. Desidual hücreler bir ya da iki çekirdek içerir. Sitoplazmalarında glikojen, lipid tanecikleri ve vakuoller bulunur. Bağ dokusunda ayrıca lenfosit, granüler lökosit ve makrofajlar izlenir. Elastik liflere, ancak arteriollerin çevresinde rastlanır.^{41,43}

Endometriyum epiteli, tek katlı silyalı ve salgı yapıcı prizmatik hücrelerden oluşur. Silyaların hareketi serviks'e doğrudur. Yüzey epiteli lamina propriya'ya doğru basit tüp benzeri çöküntüler yapar. Bunlar lamina propriya'nın derinlerine doğru uzanan uterus bezlerini (gl. uterina) oluşturur. Bezler bazen dallı tubuler yapı gösterebilir. Ovaryal döngüye

koşut olarak, bezler şekillerini ve büyüklüklerini değiştirir, birbirine çok yakın ya da biraz aralıklı dururlar. Uterus bezlerinin epiteli yüzey epiteline benzese de, bezlerde silyalı hücreler çok azdır. Epitel, ince bir bazal membran üzerine oturur. Elektron mikroskopta, bezleri döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzünde, kısa ancak oldukça düzenli sıralanmış mikrovilluslar gözlenir. Apikal sitoplazma'da, çeşitli büyüklük ve yoğunlukta salgı granülleri vardır. Endoplazmik retikulum, özellikle çekirdek altında, hücrenin bazal kısmında iyi gelişmiştir. Tüm sitoplazma'da bol miktarda ribozom bulunur. Uterus bezleri uzundur. Son kısımları miyometriyum'a değin uzanır. Bazen miyometriyum içine girdikleri gözlense de çoğu kez endometriyum'un bazal kısmında sonlanırlar.^{41,42,43}

Endometriyum işlevsel olarak iki katmandan oluşmuştur. Endometriyum'un miyometriyum'a bitişik 1/3 bazal bölümün yapısı biraz farklıdır. Burada lamina propria sıkı fibroz bağ dokusundan yapılmıştır. Bezlerin son kısımlarını içeren bu bazal endometriyum bölümüne, endometrium bazalis (str. basale endometriale) denir. Endometriyum'un geri kalan 2/3 yüzeysel bölümüne de, seksüel olgunluk döneminde 28 günde bir periodik değişiklikler gösterdiği için, endometriyum fonksiyonalis (str. functionale endometriale) denir. Bu bölge her menstrual döngüde dökülür. Buranın yeniden yapılandırılması döngü sırasında değişikliğe uğramayan endometriyum bazalisten olur.^{41,44}

Uterus mukozası puberte'den menopoza değin döngüsel değişiklikler gösterir. Ovariyal döngüye koşut olarak ovaryum'dan salgılanan östrojen ve progesteron hormonlarının da etkisinde, endometriyum döngüsel değişiklikler sergileyerek döllenmiş ovumun implantasyonuna en uygun yapının oluşmasını sağlar. Gebeliğin

olmamasına koşut olarak uterus'un tunika mukoza'sı ovarial döngüye bağlı ortalama 28 günde bir değişir. Aynı evrelerin yinelendiği bu olaya uterinal (menstruel) döngü adı verilir. Menstruel döngü 12-15 yaşlarında başlar, yaklaşık 45-50 yaşa değin sürer. Döngü sırasında olaylanan yapısal değişiklikler geçicidir.^{35,41}

Menstruel döngü, birbirini izleyen üç evreden oluşur.⁴⁴

1) Proliferasyon (foliküler) evresi: İki menstruasyon arasındaki yaklaşık 28 günlük döngünün ilk yarısında görülür. Son menstruasyon'un 5 inci gününden 15-16 ncı gününe yani ovulasyon'a değin sürer. Ovulasyon'dan sonra bir iki gün daha sürebilir. Proliferasyon evresi, ovaryumda folliküllerin olgunlaşması ve follikül hormonun (östrojen) salgılanması ile ilgilidir. Proliferasyon evresinde, endometriyum'un tüm kan damarları özellikle kapillerleri genişler, bol kanla dolar (hipertemi). Bununla birlikte, lamina propriya'nın bağ dokusu hücreleri ve uterus bezlerini döşeyen epitel hücreleri, aktif mitozla çoğalmaya başlarlar. Böylece bezler uzar ve lamina propriya'nın 2/3 derin kısımlarında kıvrıntılar yaparlar. Bez lümenleri biraz genişler, lümeni çeviren epitel hücrelerinde glikojen birikmeye başlar. Kapillerdeki hipertemi gittikçe şiddetlendiği için bu evrenin sonuna doğru kalınlaşmış olan lamina propriyanın bağ dokusu içine kan hücreleri geçer. Bazen bir miktar kan, uterus lümenine ve vaginaya ulaşabilir (intermenstruel kanama).⁴¹

2) Sekresyon (Progestasyonel) evresi: Bu evre ovulasyondan sonra başlar. Korpus luteum tarafından salgılanan progesteron hormonun etkisi altındadır. Progesteron, östrojenin etkisiyle gelişmiş olan bezler üzerinde etki göstererek bezleri daha da uyarır. Bu hormonlar bez hücrelerini uyararak bunların glikoproteinden zengin yapmasını sağlar.

İmplantasyon olaylanmadan önce, bu salgı embriyonik beslenme için büyük bir kaynak oluşturur.

Bezler fazlasıyla kıvrıntılı, spiral hale gelir ve epitel hücreleri çekirdeklerinin altında glikojen depolamaya başlar. Daha sonra glikojen miktarında azalma olur. Glikoprotein salgı ürünleri, bezlerin lümenine verilir. Bu evrede endometriyum, salgının toplanması ve stromadaki ödemin bir sonucu olarak en yüksek kalınlığa (5mm) ulaşır. Mitoz bölünmeye sekresyon evresi sırasında ender olarak rastlanır. Spiral arterlerin uzayıışı ve kıvrılması sürerek bunlar endometriyumun yüzeysel kısmı içine uzanırlar. Progesteron, embriyonun implantasyonundan sonra, miyometriyum'un düz kas hücrelerinin kasılmasını baskılar.⁴²

Erken sekretuvar evre, foliküler evrenin bitiminden 21. güne değin sürer. Östrojen reseptörleri azalır. Progesteron reseptörleri özellikle stromada bol miktarda bulunurlar. 21. ve 25. güne değin yani ovulasyon sonrası 5-9. günler arası orta sekresyon evresidir. Menstruasyon öncesi ovulasyondan sonraki 10-14. günler döngünün son günleri olan geç sekretuvar evre olarak bilinir.⁴⁵

Döllenme olmazsa, sekresyon evresinin sonunda, menstruasyon başlar.⁴¹

3) Menstruel evre: Ovaryumdan atılan ovumun döllenmesi ve implantasyonu gerçekleşmediğinde, korpus luteumun fonksiyonu yaklaşık 14 gün sonra kendiliğinden durur. Bu durumda kandaki progesteron ve

östrojen düzeyleri hızla düşer. Bu hormonların etkisiyle gelişmiş olan endometriyumda gerileme (involusyon) başlar ve endometriyum kısmi olarak dökülür.⁴²

Sekretuar evrenin sonunda, spiral arterlerin duvarları kasılır, kan akımı engellenir ve oluşan iskemi sonucunda damarların duvarı ve endometriyumun fonksiyonel katmanında nekroz oluşur. Damarlar yırtılır ve kanama başlar.⁴²

Endometriyum kısmen ayrılmış bir hale gelir. Menstruasyonla atılan kan miktarı ve kanama süresi kişisel farklılıklar gösterir.⁴²

Kanama ortalama üç gün sürer. Endometriyum fonksiyonalsis tümüyle dökülür. Endometriyum bazalis ise değişmeden kalır. Buradan bez hücrelerinin çoğalması ve bunların yüzeye göç etmeleri ile proliferatif evre ve döngü yeniden başlar.^{41,42}

2.4. Uterus'un Fizyolojisi

Dişi hormonal sistemi üç hormon grubunun etkisindedir. Bunlar;

a) Hipotalamustan sentezlenen hipotalamik serbestleyicisi hormon ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH).

b) Hipofiz ön lobunda salgılanan follikülleri uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH). Bu hormonlar gonodotropik serbestleştirici hormona yanıt olarak salgılanırlar.

c) Ovaryumdan salgılanan östrogen ve progesteron'dur.

Bunlar hipofiz ön lobundan salınan FSH ve LH'ya yanıt olarak salgılanırlar ve salgılanma miktarları ile salınım hızları genital döngünün farklı evrelerinde değişkendir.⁴⁵

Puberteden menapoza değin süren menstrüel döngüde, ovaryum hormonlarının etkisiyle, endometriyumda büyük değişimler olaylanır.³⁶

Endometriyal döngü, ovaryum döngüsüne koşut olarak gerçekleşir. Her menstrüel döngünün folliküler evresinin başında, endometriyum dökülür (adet kanaması) ve bu evrede zigotu kabul edemez. Menstrüel endometriyal dökülme son bulduktan sonra gelişmekte olan folliküllerden kaynaklanan östrojenlerin etkisiyle, menstrüel döngünün 5. ve 14. günleri arasında endometriyumun kalınlığı hızla artar. Bezler ve stroma hücrelerinde mitoz bölünme olaylanır, bezler kıvrıntılı bir hal alır ve endometriyumu besleyen arterlerin boyları uzar. Bu evreye endometriyum'un proliferatif evresi adı verilir. Proliferatif evrede, bez ve stroma hücre çekirdeklerinin yapısında bulunan kromozomların ucunda yer alan ve hücreleri apoptozise götürmek üzere her mitozda boyları kısalan telomerler telomeraz enzimi tarafından onarılır. Östrojen, proliferasyon evresi sırasında telomerazın yüksek düzeye çıkmasını uyarır ve bu yolla endometriyumda apoptozisi önler.^{41,46,47}

Ovulasyondan kısa süre sonra, plazmada artan progesteron düzeyi endometriyumda belirgin değişikliklere neden olur. Proliferasyon yavaşlar, mitotik erk ve endometriyum kalınlığı azalır. Östrojenin aksine progesteron telomerazı baskılar. Telomerler kaybolur ve endometriyal hücrelerin apoptozisi kolaylaşır. Uterus bezleri çok daha kıvrıntılı bir hal alır ve bez hücrelerinde glikojen birikmeye başlar. Döngünün sekresyon evresi ilerlerken bez hücrelerinde salgı birikir ve progesteron etkisiyle salgı hücrelerden bez lümenine verilir. Bu salgılar, zigotun yaşamasını, uterus endometriyumuna tutulmasını ve gömülmesini kolaylaştıran glikojen, glikoproteinler ve glikolipidler içerir. Endometriyum stroması ödemli bir hal alır ve başlangıçtaki düz spiral arterler daha da uzayarak zemberek şeklinde kıvrılırlar. Sekresyon evresinin geç döneminde, endometriyum ön hipofiz gibi prolaktin üretir. Ancak endometriyum kökenli prolaktinin görevi bilinmemektedir. Sekresyon evresinde döllenme gerçekleşmezse, endometriyum dökülür ve yeni bir döngü başlar.^{46,47}

Serviks, uterus gövdesinin devamı olmakla birlikte, bazı özellikleriyle farklılıklar gösterir. Serviks mukozasında aralıklı dökülme olmaz, ancak serviks'in mukus salgısında düzenli değişiklikler yaşanır. Östrojen, mukusa daha ince ve daha alkali bir yapı kazandırarak spermiyumun yaşaması ve taşınması için uygun ortamı hazırlar. Ovulasyon sırasında mukus en ince yapısındadır. Ovulasyondan sonra progesteron, servikal mukusun miktarını azaltır ve yeniden kalın esnek olmayan şekle geri dönmesini sağlar.^{46,47}

Gebelik olaylanmaz ve korpus luteum gerileyecek olursa, endometriyumun hormon desteği ortadan kalkar, endometriyum incelir. Bu durum, spiral arterlerin kıvrımlarını arttırır. Endometriyumda nekroz

odakları belirir ve bunlar birbiriyle birleşir. Spiral arterlerin duvarlarında önce spazm, daha sonra ise nekroz gelişmesi, leke tarzındaki kanamaların bir araya gelerek menstruel kanamayı başlatmasına neden olur.^{46,47}

Gebelik sırasında uterus'un aşırı büyümesi, östrojen ve progesteron salgılanmasının artması sonucudur. Önceleri ovaryumdaki korpus luteum'da salgılanan bu hormonlar, daha sonra plasenta tarafından üretilirler.³⁶

Rölaksin, kadınlarda korpus luteum, uterus, plasenta ve meme bezlerinde yapılan bir polipeptid hormondur. Gebelik sırasında, simfizis pubisi ve pelvis'in diğer eklemlerini gevşetir, uterus serviksini yumuşatır ve genişletir. Dolayısıyla doğumu kolaylaştırır. Aynı zamanda uterus kasılmalarını baskılar. Gebe olmayan kadınlarda, menstruel döngünün salgı evresinde korpus luteum ve endometriyumda rölaksin bulunur. Gebe olmayan kadınlardaki görevi bilinmemektedir.⁴⁷

2.5. Tuba Uterina'nın Anatomisi (Salpinx, Fallop Kanalı)

Tuba uterinalar uterus'un her iki tarafında, ortalama 10 cm uzunluğunda, periton ile örtülü organlardır. Fundus uteri'nin iki köşesi ile ovaryum'un üst ucu arasında uzanırlar. Boru biçimindedirler. Ligamentum latum uteri'nin üst kenarını oluştururlar. Lig. latum uteri'nin tuba uterina'ya komşu olan kısımlarına mesosalpinx denir. Tuba uterina'nın uterus'a yakın bölümü yatay olarak önce dışa, daha sonra da arka ve yukarıya doğru

uzanarak ovaryum'un üst ucuna ulaşır. Buradan içe ve aşağıya doğru yönelerek ovaryum'un üst kenarını sarar.^{35,38}

Tuba uterina'nın uterus'a açılan deliğine ostium uterinum tuba uterina, karın boşluğuna açılan deliğine ise ostium abdominale tuba uterina adı verilir.³⁵

Her tüp dört anatomik bölgeye ayrılır: proksimalde fimbriyaların bulunduğu infundibulum tuba uterina, uzun ve ince duvarlı ampulla tuba uterina, kısa ve kalın duvarlı isthmus tuba uterina ve uterus lümenine açılan pars uterina.⁴⁴

2.5.1. İfundibulum Tuba Uterina

Tuba uterina'nın lateralde, ovaryum'a yakın olan parçasıdır. Ostium abdominale tuba uterina denilen delikle periton boşluğuna açılır. Huni şeklinde olan bu kısım tuba uterina'nın en geniş parçasıdır. İfundibulum'un ucunda fimbria tuba uterina denilen 12-15 adet hareketli saçak şeklinde uzantılar bulunur. Bu uzantılardan bir tanesi diğerlerine karşın daha uzun olup fimbria ovarica adını alır ve ovaryum'un üst ucuna tutunur. Fimbria ovarica, olgunlaşarak ovaryum'dan dışarı atılan ovum'un tuba uterina'nın içine alınmasını sağlar.^{35,37,39,48}

2.5.2. Ampulla Tuba Uterina

S harfi şeklinde kıvrımlı olup, organın uzunluğunun 2/3 ünü oluşturur. Uzunluğu 7-9 cm, çapı 5-10 mm'dir. İç boşluğu geniş, duvar kalınlığı ise incedir. Döllenme bu bölümde gerçekleşir.³⁵

2.5.3. Isthmus Tuba Uterina

Tuba uterina'nın fundus uteri'nin yan köşelerinden uterus'a sokulduğu kısımdır. Uzunluğu 2-2.5 cm, kalınlığı ise 3-4 mm kadardır. Organın en dar bölümüdür.³⁵

2.5.4. Pars Uterina (İntramural Parça)

Tuba uterina'nın yaklaşık 1 cm uzunluğunda olan intramural parçası uterus'un üst köşesinden içeriye girer, uterus'un kalın miyometriyum katmanından geçerek ostium uterinum tuba yolu ile cavitas uteri'ye açılır.³⁷

Tuba uterina'nın arterleri a. ovarica ile a. uterina'dan gelen ve aynı adı taşıyan ramus tubarius dallarıdır. A. uterina'dan dallanan ramus tubarius diğer dallardan daha kalın olmasıyla ayrılır. Sampson arteri olarak da adlandırılan bu arter, a. uterina ve a. ovarica'nın anastomoz yeri

yakınında a.uterina'dan ayrılarak mesosalpinx'in iki yaprağı arasında tuba uterina'ya dallar vererek ilerler.³⁵

Arterleri izleyen venlerin bir bölümü plexus ovaricus'a, v. ovarica'ya bir kısmı da v. uterina'ya dökülür.³⁵

Lenf damarları ise ovarium ve fundus uteri'den gelen lenfatik damarlarla birlikte nodi lymphatici lumbales ve daha sonra da nodi lymphatici aortici laterales'e açılır.³⁵

Sinirleri kısmen plexus ovaricus'tan, kısmen uterovaginalis'ten gelir. Afferent lifler 11. ve 12. torakal ve 1. lumbal sinirlerle medulla spinalis'e taşınır.^{35,38}

2.6. Tuba Uterina'nın Histolojisi

Tuba uterina'nın duvarı üç katmandan oluşur. Bunlar içten dışa doğru sırasıyla;

- Tunika mukoza (Tunica mucosa)
- Tunika muskularis (Tunica muscularis)
- Tunika seroza (Tunica serosa)'dır.

2.6.1. Tunika Mukoza

Mukoza, en çok ampullada olmak üzere uzunlamasına kıvrımlar içerir. Enine kesitlerde ampulla'nın lümeni bir labirente benzer. Kıvrımların yüksekliği ve sayısı uterus'a doğru yavaşça azalır. İntramural bölümde, katlanmalar azalarak lümene doğru uzanan küçük çıkıntılara dönüşür ve iç yüzü neredeyse düz hale gelir.^{40,42}

Mukoza, lümeni döşeyen epitel ve lamina propriyadan oluşur.

2.6.1.1. Epitel

Tuba uterina'nın tek katlı prizmatik epiteli, başlıca silyalı ve salgı yapıcı hücreler olarak iki tip hücre içermektedir. Her iki hücre de östrojen ve progesteron hormonlarının etkisi ile menstruel döngü süresince yapısal değişikliklere uğrar.⁴⁹

Silli hücreler solunum yollarındaki silli hücrelere benzer ince yapı özellikleri sergiler. Hücre zarıyla kaplı olan sillerin içinde, düzenli yerleşim gösteren mikrotübüller vardır. Bu mikrotübüller, silin hücreden çıktığı yerin hemen altında bulunan bazal cisimcikten köken alır ve 9 çift +2 mikrotübül yapısını gösterirler. Sayıca çok olan silli hücreler, yuvarlak çekirdekli dirler. Sillerin hareketi uterus'a doğru vurum şeklindedir. Siliyer hareketin başlıca işlevi, oositin tuba uterina'nın üst bölümünden alt ucuna doğru itilmesidir.^{40,50}

Folikül gelişimi evresinde östrojen hormonu düzeyindeki artışla bu hücreler genişler ve silyalar artar (silyogenez). Östrojen sil hareketini uyarır. Lutealiz sırasında progesteron hormonu etkisiyle silli hücreler sillerini yitirirler (desiliasyon).

Silyasız salgı yapıcı (sekretuar) hücreler daha az sayıdadırlar, yüzeyden yukarı çıkıntı yapmaları ve sanki epitele sokulmuş çiviye benzer görünmeleri nedeniyle peg hücreleri (çivi hücreleri) olarak da isimlendirilirler. Aktif salgılama yapan peg hücreleri oldukça fazla GER, belirgin Golgi kompleksi, çok sayıda salgı vezikülü, birkaç lizozom ve yüzey alanını artıran apikal mikrovillusa sahiptir. Bu hücreler tuba uterinadaki oositin zona pellusidasına bağlanan yüksek moleküler ağırlıklı bir glikoprotein salgırlar. Bu glikoprotein olasılıkla spermiyum kapasitasyonu ve zona pellusidaya girmeyi de içeren döllenme öncesi üreme olaylarını düzenler.⁴⁰

Epitel hücreleri, işlevleri ile uyumlu ince yapı özelliklerine sahiptir. Epitelin yüksekliği ve bu hücre tiplerinin sayıları, bölgesel olarak ve menstrual döngünün evrelerine göre değişiklik gösterir. Proliferatif evrede; epitel hücreleri uzun ve silindirdir, silli hücreler predominanttır. Sekretuar evrede, epitel alçak boylu silindirik ya da kübiktir, oositin beslenmesini sağlayan glikoproteinleri sentezleyip salgılayan peg hücreleri çok sayıdadır.⁴⁰

Tuba uterina boyunca farklı bölgelerde silyalı hücrelerin salgı hücrelerine oranı; infundibulumda %50-80, ampullada %33, isthmusta %25, intramural parçada ise %10 olarak saptanmıştır.³³

İsthmustan fimbriya bölgesine doğru gidildikçe silyalı hücre oranı giderek artarken salgı hücrelerinininki azalır.⁵¹

2.6.1.2. Lamina propriya

Lamina propriya gevşek bağ dokusu yapısındadır. İnce bağ dokusu lifleri ve bol miktarda mekik şekilli hücreleri kapsar. Burada histiyositler, mast hücreleri ve lenfositler de izlenir. Bez yoktur. Lamina propriya lenf damarları ve sinirlerden zengindir. Kan damarları özellikle fimbriya bölgesindeki lamina propriyada boldur. Bu kan damarları arasında düz kas demetleri ağ şeklinde yerleşmiştir.^{33,41,42}

2.6.2. Tunika muskularis

Dışta uzunlamasına (longitudinal), içte ise enlemesine (sirküler) düzenlenmiş düz kas liflerinden oluşur. Bunlar peristaltik hareketlerin oluşumuyla yükümlüdürler. Bu hareketlerle ovum uterus'a doğru itilir. Uzunlamasına kas katı uterus'a yaklaştıkça kalınlaşır. Erişkinlerde, infundibulumda kas lifleri az olmasına karşın, isthmus bölgesine doğru gittikçe arttıkları görülür. Bu artış özellikle enlemesine katmanda dikkat çekicidir.^{35,41,52}

Enlemesine ve uzunlamasına kas lifleri arasında belirgin bir sınır bulunmaz. Tunika muskularis'in kas demetleri arasında, bol miktarda gevşek bağ dokusu ve kan damarları vardır.⁴¹

2.6.3. Tunika seroza

Mezotel ve altında ince gevşek bir bağ dokusundan oluşur. Seroza'da büyük kan damarları görülür.⁴¹

2.7. Tuba Uterina'nın Fizyolojisi

Dişi üreme sisteminde, erkeğinkinden farklı olarak düzenli döngüsel değişiklikler olaylanır. Bu değişiklikler, döllenme ve gebelik için belli aralıklarla yapılan hazırlıklar olarak kabul edilebilir.⁵³

Tuba uterinalar birçok önemli işleve sahiptir. Ovulasyonda fimbriyalar oositi yakalamak ve onu tuba uterinadan uterus'a iletirmek için ovaryum yüzeyini süpürür. Bu görev; uterus duvarı ve fimbriyadaki düz kasların ritmik hareketleriyle sağlanır.⁵⁴

Ovulasyon sonrası tuba uterinalar oositi alır ve döllenme için uygun bir ortam oluştururlar. Buradaki salgı da gelişmenin erken evrelerinde embriyonun beslenmesine yardımcı olur. Döllenme ampulla bölgesinde olaylanır. Gelişimin ilk başlangıç evresi olan erken embriyo ya da zigotun uterus'a ulaşmadan önceki yaklaşık üç günlük gelişimi, normalde tuba uterinalar içerisinde olur.^{40,42}

Tuba uterinalar hormonal uyarılara son derece duyarlıdır. Östrojen etkisi ile hareketlerinde artar. Ovulasyonun yaklaşması ile tubal kasılmalar çoğalır ve fimbriyalar atılan ovumu tüp içine çekecek şekilde dalgalanmalar gösterir. İnfundibulum'un huni şeklini alması da serbest kalmış ovumun tutulmasını kolaylaştırır. Sekretuar evrede artış gösteren progesteron hormonu ise tuba uterinaların hareketlerinde azalmaya neden olmaktadır.^{31,42,46,55}

Östrojenler, tuba uterinaların mukoza katmanına da uterus endometriyumuna benzer etkiler yapar. Epitel hücreleri, menstruel döngünün evreleriyle ilişkili olarak döngüsel değişikliklere uğrar. Döngüsel değişiklikler en çok fimbriyalarda ve ampullanın üst kısmında belirgindir ve isthmus'a doğru azalır. Epitel hücreleri döngünün erken folliküler evresinde genişler ve silyogeneze başlar. Salgı yapıcı hücrelerde de artmış aktivite göze çarpar. Bu değişiklikler döngünün ortasında en üst düzeydedir, sekresyon evresinde geriler. Ovulasyondan önce fimbriyada silli hücrelerin oranı %48'ken sekresyon evresinde %4'e iner. Döngüsel değişiklikler ampulla'da az farklılık gösterir. İsthmus epitelinde ise küçük bir değişiklik olur, bu da isthmus'un östrojene daha az bağımlı olduğunu düşündürür. Epitelin proliferasyonu ve fonksiyonel yetisi, östrojen reseptörleri ve hücrelerdeki tuba uterinaya özgü transkripsiyon faktörlerince düzenlenir. Siliyer vurumun frekansıda hormon düzeyleriyle ilişkilidir.^{40,56,57}

Progesteron aynı zamanda, tuba uterinaları döşeyen mukozada, salgılama ile ilgili değişimleri başlatır. Salgı, döllenmeden sonra bölünmeler geçirerek tuba uterinaya ilerleyen zigotun beslenmesi için gereklidir.⁵⁶

Tuba uterina mukozasını kaplayan ince sıvı katının hareketi ile birlikte kas katmanının kasılmaları ovum ya da zigotun uterus'a doğru taşınmasına yardım eder. Bu sıvı akımı aynı zamanda uterustan periton boşluğuna mikroorganizmaların geçişine engel olur.⁵⁷

Tuba uterina'nın duvarı damardan zengindir ve bunlar ovulasyon anında şişerek organın sert ve gergin olmasını sağlayarak tuba uterinaların ovaryum'a yakınlaşmasına olanak tanırırlar.⁴²

2.8. Meme Kanseri

Kanser, yüzyılımızda sosyal ve ekonomik açılardan kişi, aile ve toplum üzerine çeşitli ağır sorunlar yükleyen; tanı ve tedavisi güç, masraflı ve genellikle kronik bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır.¹

Günümüzün oldukça önemli hastalıklarından biri olan meme kanseri, dünya genelinde kadın kanserleri açısından ele alındığında en yaygın kanser türü olarak nitelendirilmektedir. Her yıl 1.000.000'dan fazla yeni olaya rastlanmakta ve yaklaşık 373.000 kadın yaşamını bu nedenle yitirmektedir. Buna karşın eğitim düzeyinin artması, tarama programlarının ve etkili tedavilerin uygulanması sonucu son on yılda meme kanseri ölüm oranlarında düşüş gözlenmeye başlamıştır.^{2,3,4}

Meme, kadınlarda süt üretimi için düzenlenmiş farklılaşmış tubuloalveoler yapıda bir bezdir. Süt üreten lobül sistemi ile bunları meme başına aktaran kanal sisteminin birleşiminden oluşur. Zengin kanlanma, lenfatik yapı, baē dokusu, yaē dokusu, sinirler, deri, memenin şeklini verir. Meme kanseri, en çok lobül ile terminal kanal birleşme yerindeki epitelden köken alan bir adenokanserdir. Bugünkü bilgilere göre meme kanseri (invaziv duktal kanser) gelişmeden önce kanal epiteli, atipik duktal hiperplazi, duktal karsinoma insitu gibi evrelerden geçer ve sonunda meme kanseri gelişir. Bu dönüşüm on yıllarca sürer. Başlangıçta süt aktaran kanal sistemi (duktus) içinde sınırlı olan kanser hücreleri sonradan kendi bazal membranlarından ilerleyip baē dokusu içine geçerler. Bu aşamada tümör hücreleri kan damarları ve lenfatiklere karşılaşarak metastaz yapma yeteneēini kazanırlar. Meme kanseri tedavi edilmezse biyolojik davranışına göre, uzak organ metastazları yapar ve sonunda lme neden olur.⁵⁸

Meme kanseri olgularının yaklaşık %25'i menopozdan önce, % 15'i ise 45 yaşından genç kadınlarda gözlenmektedir. Menopozdan sonra belirgin bir artış olduēu ifade edilmektedir. 50 yaşın altındaki kadınlarda ölüm oranlarındaki düşüş dikkat çekicidir.⁵⁹

Meme kanseri erkekleri de etkileyebilir, ancak grlme sıklıēı kadınlardaki oranın %1'i kadardır.⁶⁰

Meme kanserinin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir ancak hastalıēın gelişimini etkileyebilecek faktörler belirlenmiştir. Deney hayvanlarında in vivo ve in vitro meme tümörleri üzerinde yapılan

alışmalar, meme kanserinde belli başlı üç etkenin önemli rol oynayabileceğini ortaya koymuştur.⁶¹

1) Genetik Değişiklikler:

Meme kanseri bir ya da daha fazla sayıdaki kritik genlerdeki mutasyonların bir sonucudur. 17. kromozomda iki gen bulunmuştur. En önemli gen, BRCA-1 (17q21) olarak adlandırılır; diğer p53 genidir (17p13). Bir diğer gen, 13. kromozomdaki BRCA-2'dir. Bu genler tümör baskılanımı ya da DNA onarımında görevlidirler. Diğer kanserlerde olduğu gibi meme kanserinde de mutasyonlar onkojen ekspresyonunda artmaya ve tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarında kayıplara neden olmaktadır.^{1,61}

2) Hormonlar:

Meme kanserinde ekzojen hormonların rolü olduğunu gösteren birçok bulgu vardır ancak endojen hormonların etkileri açık değildir. Meme kanseri oluşumu ile ilgili bilinen hormonal risk faktörlerinin, memenin östrojene ve olasılıkla progestinlere kümülatif etkin kalması ile ilgili olduğu düşünölmektedir.^{1,61}

3) Çevresel faktörler:

ABD ve batı ölkelerinde meme kanseri görölme sıklığının 4-7 kat fazla oluşu, bu ölkelere dışarıdan göç edenlerde de birkaç jenerasyon sonrasında kanser oranının artması yaşam alışkanlıkları ve beslenme özelliklerinin (yağdan zengin, alkol alımı, vs) etyolojide rol oynadığı düşünöncesini desteklemektedir.⁶¹

2.8.1. MNU

Meme kanseri gelişiminde H-ras onkojeni önemli rol oynamaktadır. 189 aminoasitlik, 21-kDa'luk bir protein kodlayan Ras gen ailesi, hücre zarından sinyal iletiminin düzenlenmesinde görev alır. İnsan tümörlerinin % 30'unda Ras iletim yolunun aşırı aktivasyonu söz konusudur. Ras bir proto-onkojendir.⁶²

MNU, DNA, RNA ve proteinlerle kovalent tepkimeye giren kuvvetli bir karsinojendir. Bu madde alkali ajan gibi davranan metil karbonyum iyonlarına sahiptir. H-ras onkojeninin ikinci kodonunda G→A nükleotid mutasyonuna neden olarak karsinojenik erkini göstermektedir. Mutasyon bir kez gerçekleştikten sonra ya hücre ölüm oranlarında bir azalma, ya hücre çoğalmasında bir artış ya da her iki olay birden gözlenmektedir.^{63,64}

Meme kanseri çalışmalarında, MNU ile oluşturulmuş meme karsinoma modelleri geniş kullanım alanına sahiptir. MNU ile oluşturulan meme kanserleri östrojene bağımlıdır ve saldırgan, bölgesel bir yayılım gösterir. Fizyolojik koşullar altında MNU'nun yarı ömrü 1 saatten azdır bu nedenle uygulanmasından kısa bir süre sonra mutajenik etkisi gözlenebilmektedir.^{65,66}

2.9. Kemoterapi

Günümüzde kanser kemoterapisi yerleşik bir tedavi yöntemidir. Kemoterapi 1940'lı yıllarda nitrojen mustard ile başlamış olup, bugün tedavide 40'tan fazla ilaç kullanılmaktadır. 1960'lı yıllara değin kemoterapi bazı klinik bulguların azaltılması ve hastanın yaşamını biraz daha uzatmak ereğiyle kullanılmıştır. 1960'lı yıllardan itibaren hücre kinetiği bilgileri ve kinetik kavramları kemoterapi protokollerinde uygulanmaya başlanmıştır. Son yıllarda ilaçların kullanılmasında birçok gelişmeler kaydedilmiştir. En önemlileri kombine kemoterapi ve ilaçların cerrahi ve/veya radyoterapiyle birlikte kullanılmalarıdır.⁵

Kemoterapi özellikle çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, doğal ya da sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavi şeklidir.⁵

Kemoterapi ilkelerini ve etki mekanizmalarını anlamak için öncelikle normal hücre döngüsünün bilinmesi çok önemlidir. Hücre döngüsünün başlıca 5 evresi vardır:

1) G0 evresi: Dinlenme evresidir. Hücreler bu evrede hücre bölünmesine aktif olarak katılmazlar. Bu evrede kemoterapik ajanların etkisi yok denecek kadar azdır. Normal hücreler zamanlarının çoğunu Go evresinde geçirirler, bir uyarıcının etkisiyle çoğalan hücrelere dönüşebilirler.

2) G1 evresi: Uyarılma sonucunda başlar. Hücre üreme için gerekli olan RNA, enzimler ve diğer proteinleri sentezler. Hücre bu evrede kemoterapiye duyarlıdır.

3) S evresi: Yeni DNA sentezlenerek, hücre bölünmeye hazırlanır. Hücre bu evreyi etkileyen ilaçlara duyarlıdır.

4) G2 evresi: Mitoz için gerekli protein ve RNA sentezi hızlanır.

5) M evresi: Mitoz evresidir. Dört aşamada iki yeni hücre oluşur. Bu iki yeni hücre ya yaşam döngüsüne girer (G1) ya da kemoterapiye dirençli olarak G0 evresinde dinlenmeye çekilir.

Kanserli ve normal hücreler benzer hücre döngülerine sahiptirler. Kanser hücresiyle normal hücre arasındaki en önemli ayrıcalık, kanser hücrelerinde çoğalmayı frenleyen mekanizmanın bulunmaması ve organizmayı ölüme götüren duraksız bir çoğalma içinde olmasıdır.^{5,67}

Kemoterapötik ajanlar en çok hücreler proliferatif evredeyken etkilidirler. Bu ilaçların geliştirilmesi sırasında önem taşımaktadır. Çünkü yaşam döngüsünün bir evresine özellikle etki eden ilaçlar (evre özgün ilaçlar) ya da tüm evrelere etkili (evre özgün olmayan ilaçlar) geliştirilebilir.⁵

Yaşam döngüsünde evre özgün olmayan kemoterapötik ilaçlar, özellikle alkilleyici ilaçlar G0 evresindeki hücrelere karşıda etkilidirler ve sadece aktif olarak bölünen hücrelere değil yavaş büyüyen tümörlere de kısmen etkili bulunmuşlardır.⁵

Kanser hücrelerine etki mekanizmalarına göre antikanser ajanlar 3'e ayrılır:

1) DNA sentezini durduranlar: Bazı ajanlar, DNA sentezinde rol oynayan folik asit ve nükleotidleri baskırlar. Bu nedenle hücreler DNA ve RNA sentezini yapamazlar.

2) Hücre çekirdeklerindeki DNA'ya doğrudan hasar verenler: Bazı ajanlar kimyasal olarak DNA ve RNA'ya hasar verirler. Böylece DNA'nın kendini kopyalaması gerçekleşmez.

3) Mitotik iplikçiklerin sentezini engelleyenler ya da yıkımına neden olanlar: Bazı ajanlar hücre bölünmesi sırasında mitotik iplikçiklere hasar vererek bölünmeyi durdururlar ve böylece 2 yeni hücrenin oluşmasını engellerler.⁶⁸

2.9.1. Siklofosfamid

Siklofosfamid, kanser kemoterapisinde ve bazı neoplastik olmayan olgularda geniş uygulama alanına sahip alkali bir ajandır. Hodgkin hastalığı, Burkitt lenfoma, myeloma, lenfoid tümörler, meme, akciğer, ovaryum ve endometriyum gibi çok çeşitli kanser türlerinde sıklıkla kullanılır.^{69,70}

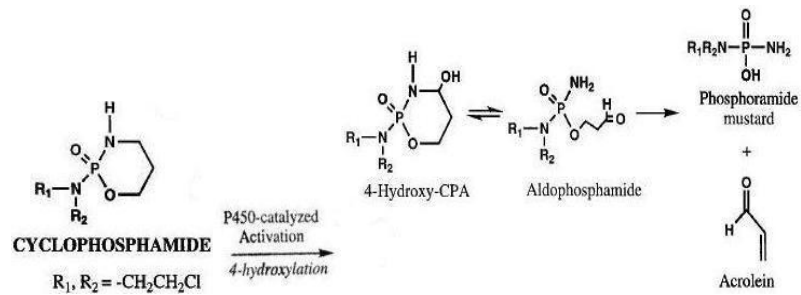
Tek başına ya da kombinasyon kemoterapilerinin bir bileşeni olarak kullanımı yaygındır. Bu kombinasyonların en bilinenleri, meme

kanserinde adriablastina ya da fluorourasil (AC ya da CAF) ile, metotreksat ve fluorourasil (CMF) ile kullanılmaktadır. Ağız ya da damar yoluyla uygulanabilir.^{69,71}

Kullanımı: 500-1500 mg/m² i.v. 3-4 haftada bir, 60-100 mg/m²/gün p.o, 1-14 gündür.⁷¹

Yarı ömrü yetişkinlerde 4-10 saat, çocuklarda ise 1-6,5 saat arasındadır.⁷²

Siklofosamid, sitotoksik erkini göstermek için metabolik aktivasyona gereksinim duyar. Karaciğerdeki P450 enzimleri sayesinde 4-hidroksi-siklofosamide okside olur, ardından aldofosfamide dönüşür ve son olarak fosforamid mustard ve akroleine ayrışır. Fosforamid mustard DNA çapraz bağlarını etkileyerek normal hücre bölünmesini engeller. Hücre döngüsüne özgü değildir. Normal dokuların çoğu siklofosamidin aktivasyonundan, aldofosfamidi inaktif karboksifosfamide dönüştüren aldehid dehidrojenaz ve glutathione s-transferaz sayesinde korunur.^{73,74}



Şekil 1: Siklofosamid'in kimyasal yapısı.

Sitokrom P450 enzimleri, karaciğerde yüksek oranlarda sentezlenir ve çok sayıda ilacın ve kimyasalların oksidatif metabolizmasını katalizler. P450 enzimlerinin her biri tek bir substrata özgü 20 den fazla farklı şekli bulunur.⁷⁴

Kemoterapi ajanları arasında alkileyici olanlar, erkek ve kadın hastalarda en büyük etkilerini üreme sistemi üzerinde göstermektedir. Gen mutasyonları, kromozomal kırılmalar, anöploidi bu ajanlar ile uyarılmaktadır.⁶

2.10. Antioksidanlar

HücreSEL yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal tepkimelerin denge içinde yürütmesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan endojen ve/veya ekzojen kökenli faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif stres farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde çalışmaya yöneltmektedir.¹²

Antioksidan savunma sistemi, normal metabolizmanın işleyişi sırasında koruyucu rolünü gerçekleştirir. Ancak asıl etkisini hastalık ya da organizmada herhangi bir nedenle oluşan serbest radikal oluşumu durumunda arttırmakta ve bu durumu etkisizleştirmeye çalışmaktadır. Vücutta serbest radikallerin oluşumu ve uzaklaştırılması sırasındaki denge antioksidan savunma sistemi ile sürdürülmektedir. Bu durum radikal

oluşumu tarafına bozulursa vücut birçok hastalıklarla karşı karşıya kalabilir.^{12,75}

Serbest radikaller, son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren molekül ya da atomlardır. Elektronların bu dağılımı kararsız olduğu için radikaller hızlı bir şekilde diğer moleküllerle ya da radikallerle tepkimeye girerek kararlı bir konfigürasyon oluşturmaya çalışırlar. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan en etkili serbest radikaller ROS'lardır.⁷⁶

Sağlıklı bir insanda ROS (reaktif oksijen türleri) ve antioksidanlar dengeli bir şekilde bulunur. Denge ROS' un fazla olması şeklinde bozulursa oksidatif stres gerçekleşir.⁷⁶

Normal koşullarda, antioksidanlar ROS' u H_2O ya dönüştürürler. İnsan vücudunda ROS' un fazla üretimini engellemek için enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki tip antioksidan bulunur.⁷⁷

Enzimatik antioksidanlar: Doğal antioksidanlar olarak da bilinirler, aşırı ROS oluşumunu ve hücresel yapıya hasar vermesini engellerler. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, glutasyon reduktaz'dan oluşur ve hidrojen peroksidin su ve alkole ayrışmasına neden olurlar.⁷⁷

Enzimatik olmayan antioksidanlar: Sentetik antioksidanlar ya da besinsel tamamlayıcılar olarak da bilinirler.⁷⁷

Serbest radikaller; vücutta ayrıca yapısal, bağışıklık sistemine ait hastalıklar, yaşlanma, nörolojik hastalıklar, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenezis, mutajenezis, infeksiyon hastalıkları, karaciğer, akciğer, göz ve ürolojik hastalıklar gibi hastalıklara da neden olabilir.⁷⁷

Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasarı sınırlandırılmaya çalışılır. Vücuttaki hücresel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki bir denge oluşturmaktadır.^{78,79}

Vücudun karmaşık antioksidan sistemi, besinlerle alınan antioksidan vitaminler ve minerallerin etkisi altındadır. C ve E vitamini, selenyum, çinko, taurin, hipotaurin glutatyon, β karoten ve karoten gibi.⁸⁰

2.10.1. C Vitamini (Askorbik Asit)

İnsan sağlığı için önemi her geçen gün daha fazla anlaşılan C vitamini 176,1 molekül ağırlıklı, altı karbonlu bir yapıya sahiptir ve glukozu benzer.⁸¹

1928-1932 yılları arasında Szent-Gyorgy tarafından böbrek üstü bezlerinden ve ayrıca yeşil biberden, lahanadan elde edilerek

‘heksuronik asit’ denilmiştir. Daha sonra pek çok meyve ve sebze, özellikle turunçgillerde ve bazı hayvansal gıdalarda varlığı saptanmıştır.⁸²

Askorbik asit olarak da bilinen C vitamini suda çözünebilmektedir. Birçok memeli türünün aksine insan, C vitamini sentezleme yeteneğine sahip olmadığından bu hayati besin için yiyecek kaynaklarına bağımlıdır.⁸³

C vitamini sentezi glukozdan türevlenen glukuronik asid ya da galokturonik asid üzerinden yürür. Bu metabolik yol ile glukuronik asitten C vitamini sentezi için üç enzime gereksinim vardır. Bu enzimler karaciğer mikrozomozal fraksiyonlarından izole edilmiştir.⁸³

Besinlerde askorbat eksikliği skorbüt hastalığına neden olmaktadır. Skorbüt cilt altında küçük alanlarda kanama, diş eti kanaması, hiperkeratoz, eklem ağrısı, nefes darlığı ve yorgunluk hissi ile özelleşmiştir. 1753’te skorbütün sistematik olarak tanımlanması ve bu hastalığın önlenmesinde C vitaminin gerekliliğinin ortaya konması üzerinden 250 yıl geçmiş olmasına karşın sağlıklı kalabilmek için insan organizmasının gereksinim duyduğu C vitamini miktarı hakkında kesin bir standart önerilememektedir.⁸⁴

Askorbik asit çok sayıda hidroksilasyon tepkimelerinde rol alır ve vücutta birçok kimyasal tepkimenin normal olarak yürütülmesi için gereklidir.

Bunlar;

1-Kollajen sentezinde purolil ve lizil kalıntılarının hidroksilasyonu,

2-Tirozin yıkımı (normal amino asit metabolizması),

3-Tirozinden epinefrin sentezi (adrenal hormon sentezi),

4-Safra asidi sentezi

5-Bağırsaklardan demir emilimi. Normal ferritin/hemosiderin oranlarının korunmasını sağlayarak, depolanma ve dağılımını düzenler.

6-Antioksidan olarak çeşitli tepkimelerde (lökosit işlevleri, pek çok ilaç metabolizması) kullanılır. Moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c için indirgeyici ajandır.⁸⁵

Askorbik asit'in en önemli işlevi kollajen sentezinde yer almasıdır. Bu özelliği ile kan damarlarının yapısını kuvvetlendirmektedir. Vitamin yetersizliğinde kan damarları zayıflamakta ve çok küçük darbelerle bile kanamalar görülebilmektedir. Askorbik asit'in vücutta normal oranda bulunması gebelik, zehirlenme, toksinler, enfeksiyonlar, soğuk, yaralanma gibi streslere karşı korunması için önemlidir.⁸⁶

2.10.2. E Vitamini (Alfa Tokoferol)

İlk kez 1920 yıllarında Mattill ve Conklin doğal gıdalarda üremeye etki eden bazı maddelerin bulunduğunu göstermişlerdir. Deneyleri sırasında özellikle buğday özü yağında farelerin soyunu

sürdürmede etkili ve gerekli olan bir madde bulmuşlar ve buna E vitamini adını vermişlerdir. Daha sonra 1922'de Evans ve Bishop farelerle yaptıkları deneylerde günlük gıdalarda A ve D vitamininden başka bir madde bulunduğunu ve bu maddenin eksikliğinin farelerde sterilite oluşturduğunu belirtmişlerdir. Dişi farelere bu maddelerce zengin gıdalar verildiğinde hayvanın gebe kaldığını, gelişme gösterdiğini saptamışlardır. Bu maddeye araştırmacılar önce E vitamini, 1936'da da bu vitamin grubuna tokoferoller adını vermişlerdir.^{87,88,89}

Tokoferol Yunanca; tokos=çocuk, fero=doğurtan ve el=alkol anlamlarının birleşmesidir. İsminden de anlaşılacağı gibi üremeye ya da kısırlığı önlemeye yarayan bir vitamindir.⁹⁰

Daha sonra yapılan araştırmalarda bu gruba ilişkili iki bileşik daha bulunmuş, bunlara da gama ve delta tokoferol adı verilmiştir. Bu gruptaki tokoferollerin tümü kimyasal yapı yönünden birbirine yakın, ancak biyolojik etkileri oldukça farklıdır. En etkili olanı 3 CH₃ grubu taşıyan α-tokoferoldür ve E vitamini denince genellikle α-tokoferol anlaşılır. α-tokoferol'ün kimyasal yapısı 1938'de Ferhnholz tarafından gösterilmiş, aynı yıl Karrer sentezini yapmıştır.⁹⁰

Tokoferoller kroman halka sistemini taşırlar, bu halkada bir benzen, bir de piren halkası vardır. Yan zincirinde alifatik birkaç izopren artığı bulunur.¹⁷

Tokoferoller açık sarı renkte ve yapışkan kıvamda maddelerdir. Bunlar lipitlerde ve birçok organik eriticide erir, suda erimezler. Bununla birlikte alfa tokoferolün sodyum fosfat esteri suda erir. Vitamin E ısıya, alkalilere, asitlere ve ışığa karşı dayanıklıdır, ancak ultraviyole ışınlar karşısında kolayca bozulur. Oksitlenince biyolojik etkisini yitirir, oksijensiz ısıya 200° C'ye kadar dayanır.⁹⁰

Ağız yoluyla alınan tokoferol genellikle iyi emilir. Yağlar ve safra tuzları, diğer yağda eriyen vitaminlerde olduğu gibi vitamin E'nin emilimini kolaylaştırır. Tokoferoller ince barsakta safranin yardımıyla emülsiyon haline gelir ve sonra emilirler. En fazla emilim vitamin E alındıktan birkaç saat sonra görülür.⁹⁰

E vitamini karaciğer ve yağ dokularında depolanır. Depolama miktarı yaşa ve cinsiyete göre değişir. Yaş ile depolama erki artar, ayrıca dişi hayvanların birçok organının erkeklerle göre daha yüksek miktarda vitamin içerdiği bulunmuştur. Tüm hayvanlarda vitamin E miktarının hipofizde, adrenal bezlerde ve uterusda daha yüksek olduğu görülmüştür. Vitamin E, plasentada da depolanır, ancak fötüse geçişimi çok sınırlı olup, yeterli değildir. Hücre içerisinde ise tokoferol mitokondriyon ve lizozomlarda birikir.^{90,91}

Bir anti-oksidan olarak E vitamini sayısız yaşam işlevlerine sahiptir. Zarların dayanıklılığını sağlar, onları serbest radikal hasarına karşı korur. Gözleri, cildi, karaciğeri, meme ve baldır kas dokularını korur, tümör gelişimini önler, akciğerleri hava kirliliğinden kaynaklanan oksidatif hasara karşı korur, vücudun A vitamini deposunu korur ve artırır. Ayrıca

peroksitler, süperoksitler ve diğer serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini okside etmesine karşı da koruma sağlar.^{17,90}

Birçok bitki, bitkisel yağlar, süt, yumurta, et, balık ve tahıllar E vitamini deposudur. Buğday özü yağı gibi bitkisel yağlar en iyi kaynağı olduğu gibi, soya fasulyesi, mısır özü ve pamuk yağları, marul, ıspanak, su teresi gibi yeşil yapraklı sebzeler, baklagiller, ceviz, fındık ve buğday ununda da önemli miktarda bulunur. Hayvansal organizmada daha azdır.⁹²

2.10.3. Selenyum

Selenyum 1817 yılında İsveçli bilim adamı Berzelius tarafından bulunan eser elementtir. Bulunmasından 150 yıl sonra insan sağlığı için önemli ve gerekli bir element olduğu saptanmıştır. Selenyum öncelikli olarak antioksidan aktivitesi ile bilinir, bunun yanında terapötik, antiinflamatuvar ve antiviral özellikleri de bulunmaktadır. İnsan sağlığına yararlı etkilerinin çoğu içerdiği en az 25 proteinle ilişkilidir.^{93,94}

Kofaktör şekli ile proteinlerle ilişki kuran diğer elementlerin aksine, selenyum polipeptit zincirleriyle birleşerek bir aminoasit olan selenosistein'i (Sec) oluşturur.⁹⁵

Polipeptit zincirlerinin tamamlayıcı parçası olarak Sec içeren proteinlere selenoproteinler denir. Selenoproteinler yaşamın her canlı zincirinde bulunur. Bilinen 30 selenoprotein türü bulunmaktadır.^{95,96}

İnsanlar 17 selenoproteine sahiptir. Selenoproteinlerin bazıları benzer işleve sahip birçok gen içermektedir. Bunlar, oksidoredüktaz erke sahip olan glutatyon-peroksidaz (GPx) (5 gen), tioredoksin redüktaz (TrxR) (3gen), iotironin deiodinaz (DIO) (3 gen) ve selenofosfat sentetaz (SPS2) dır.⁹⁵

Selenyum, insanlar ve diğer yaşam türleri için temel elementtir ve eksikliği kanser, koroner kalp rahatsızlıkları ve karaciğer nekrozları gibi bazı patolojik sorunlara neden olur. Selenyum eksikliğinde bağışıklık sistemi yitimi ve bütün hücre aracılı immünitede, B hücre fonksiyonlarında bozulma gözlenir.⁹⁷

Selenyum, glutatyon peroksidaz (GSHpx), tirodoksin reduktaz (TR) ve selenoprotein P (SeP) gibi birçok enzimin esas elemanıdır ve selenyum selenosit şeklinde içerirler.⁹⁷

2.11. Meme Tümörü Ve Kemoterapide Etkili Moleküller

2.11.1. Ki-67

Hücre çoğalması çok sıkı bir şekilde denetlenmektedir. Bu denetim çok sayıda protein (genle) tarafından sağlanmaktadır. Bu proteinlerde başka fosfat grupları gibi küçük yapıda moleküllerce yapılmaktadır. Protein gruplarını diğer proteinlere bağlayan proteinler protein kinazlar adını alır. Protein kinazlardan oluşan ağ hücresel fonksiyonların karmaşık denetiminde çok önemli anahtar görevi görmektedir. Böylece, embriyonik ve normal gelişim düzenlenmekte, yara

ve infeksiyon durumlarına yanıt oluşturulmaktadır. Yapılarında oluşan bozukluk ise tümör oluşumu ile sonuçlanabilmektedir.^{98,99}

Günümüzde hücre çoğalmasını incelemek için en sık kullanılan antijenlerden biri Ki-67dir. Hücre döngüsünde proliferatif evredeki hücrelerde nükleer antijeni ifade eden monoklonal bir antikordur.^{23,100}

Ki-67 pozitif yüklü alkalın non histon bir proteindir. 10. kromozomda kodlanmıştır. 345-395 kDa moleküler ağırlıktadır. İlk kez 1983'te Gerdes tarafından tanımlanmıştır.¹⁰⁰

Ki-67 antijeni hücre döngüsünün dinlenme evresi (Go) dışında her evrede (G1, S, G2, M) eksprese olur. Ekspresyonu G1 evresinin başında belirgindir ve geç G1 evresi süresince çekirdekte birikir. Antijenin ekspresyonu hücre döngüsü ilerledikçe artar, en yüksek yoğunluğuna mitozda ulaşır ve sonra belirgin şekilde azalır. Mitozdan hemen sonra miktarı en düşük düzeyde gözlenmektedir.⁹⁹

Ki-67 proteini birçok prolin-glutamik asit-serin-treonin (PEST) motifleri ierdiğı için, hızla katabolize olma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle yarı ömrü yaklaşık 90 dakikadır.¹⁰⁰

Bu protein, tüm proliferatif hücrelerde (normal hücre ya da tümör hücresi) immünohistokimyasal olarak çekirdekte boyanma özelliği göstermektedir.¹⁰¹

2.11.2. Kaspaz-3

Apoptosiz; gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı ölümüdür. Embriyo döneminden başlayarak tüm yaşam süresince apoptotik düzenek ve programlı hücre ölümü vardır. Bazı hücreler yıllarca yaşarken bir kısmı sadece birkaç saat yaşar.²⁴

Apoptotik hücre ölüm programı üç ana bileşen içerir.

- 1) Bcl-2 ailesi proteinleri
- 2) Kaspazlar
- 3) Apoptotik proteaz aktive edici faktör-1 (APAF-1)

Bu anahtar bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen yapısal değişikliklerden, mitokondriyal hasardan, çekirdek zarı kırılmalarından, DNA parçalanmasından, kromatin yoğunlaşmasından ve apoptotik cisimciklerin şekillenmesinden sorumludur.¹⁰²

Bir seri özel sinyallere bağlı olarak apoptozise giden hücrelerde biyokimyasal ve yapısal olarak farklı değişiklikler gözlenir.

Apoptozisin erken evrelerinde bir protein ailesi olarak bilinen kaspazlar aktive olurlar. Bu proteinler normal hücresel fonksiyonlar için gerekli olan, özellikle hücre iskeleti yapısal proteinleri ve DNA onarımında rol alan çekirdek proteinlerin parçalanmasından sorumludurlar. Aynı zamanda kaspazlar DNAzlar gibi çekirdekte DNA'yı parçalayan ve diğer parçalayıcı enzimleri aktive ederler.^{25,103}

Kaspazlar, sistenil aspartata özgü (cysteine aspartate proteinases) proteaz ailesindendir.¹⁰⁴

Kaspazlar bir amino-terminal bölge, küçük bir alt birim (10 kDa) ve geniş bir alt birim (20 kDa) olarak üç bölgeden oluşur.¹⁰⁴

Çoğu sağlıklı hücre birçok kaspazı inaktif öncüller olarak içerir ve kaspaz zimojenleri olarak adlandırılır. Kaspaz zimojenleri az miktarda katalitik yetiye sahip olmasına karşın çeşitli düzenleyici moleküller ile kontrol altında tutulmaktadır. Apoptotik sinyal aldığı anda, kaspaz zimojenleri proteolitik işleve etkin kalırlar ve aktif enzimleri oluşturmak üzere iki alt birim oluştururlar.¹⁰

Zimojen ayrılması her zaman kaspaz aktivasyonu için gerekli değildir. Tüm aktif kaspazlar apoptotik hücrelerde ayrılmış birimler olarak gözlenir. Yapısal çalışmalarda olgun kaspazların heterotetramer yapıda olduğu gözlenmiştir.²⁵

Kaspazlar uzun öncül bölgeli kaspazlar (kaspaz-1, -2, -4, -5, -8, -9, -10, -11, -12, -13) ve kısa öncül bölgeli kaspazlar (kaspaz-3, -6, -7, -14) olarak iki alt gruba ayrılmaktadırlar.¹⁰⁶

Uzun öncül bölgeli kaspazlar, özel protein-protein etkileşim bölgeleri içerir ve kaspaz aktivasyonunda çok önemli role sahiptirler. Bu bölgeler; prokaspaz moleküllerinin, özel ölüm sinyali komplekslerine dönüşümüne aracılık eder, otokatalitik aktivasyonlarına yol açar. Sinyaller aracılığı ile aktive olan kaspazlar öncü kaspazlar olarak bilinir ve hücre sinyali ve apoptotik ölüm arasında bir bağ oluşturur. Ana öncü kaspazlar -2, -8, -9 ve -10 'dur. Bu kaspazlar ya kaspaz iyileştirme bölgesi (cCARD) (kaspaz -2, -9) ya da bir çift ölüm tetikleyici bölge (DED) içerir (kaspaz -8, -10). Başlatıcı kaspazların öncül-bölgelerinin birbirleriyle yapışması kaspaz aktivasyonu için esas etkiyi oluşturur. Herhangi bir ligandın ölüm reseptörüne bağlanması ölüm bölgesini (DD) içeren moleküllerin, DED ve CARD bölgelerini içeren uzun öncül-bölgelerin yapışmasına etki eder. Bu yapışma 'Ölümü Tetikleyen Sinyal Bileşeni'nin (DISC) oluşmasına neden olur. DISC ise kaspaz-3'ü aktive eder. Kaspaz-9 ise APAF-1 ve sitokrom c ile apoptozom bileşenini oluşturarak aktive olur ve prokaspaz-3'ü aktive eder.^{106,107}

2.11.3. VEGF

Önceden var olan küçük damarlardan yeni damarların oluşması anlamına gelen anjiyogenezis, diyabetik retinopati, hemanjiyom psöirazis, artrit gibi yeni damar oluşmasıyla seyreden pek çok hastalığın yanı sıra, tümör büyümesi için de önem taşımaktadır. Hipoksi ve henüz

tam olarak belirlenememiş bazı uyaranlar, anjiyogenez özelliği taşıyan bir takım moleküllerin (VEGF, FGF, TGF- β , PDGF) oluşumuna yol açarak tümör hücreleri ve enflamasyonda rol alan hücreleri uyarırlar. Yeni damar yapımı vücutta fizyolojik olarak yara iyileşmesi; embriyogenezis ve menstruel döngü gibi durumlarda gözlemlenir.^{108,109}

Anjiyogenezis iyi programlanmış bir kaskattır. Aktif anjiyogenetik faktörler, endotel hücrelerinden salınmakta ve metaloproteazlar, plazminojen aktivatörleri gibi maddelerin salınmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak damarların bazal membranları yıkılmakta, endotel hücreleri doku içerisine ilerleyerek yeni damar oluşumlarını sağlamaktadır.²⁶

Anjiyogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulani vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)' dür. VEGF etkisiyle endotel hücreleri çoğalmakta ve büyüme faktörüne doğru göç edip dizilerek yeni damarlar için öncü olan tüp şekillenmesinin oluşmasını sağlamaktadır.²⁷

Endotel hücrelerine özgü olan VEGF ailesi ilk olarak 1980' lerde bulunmuştur. İlk bulunduğu yıllarda tek bir üyeden oluştuğu düşünülmüş ancak sonra birçok üyesi bulunduğu ortaya konulmuştur. Bu ailenin VEGF-A (İnsan-VEGF'si olarak da adlandırılır), VEGF-B, VEGF-C VEGF-D, VEGF-E, plasental büyüme faktörü (PlGF) ve yılan zehiri VEGF (svVEGF, VEGF-F) adı verilen yedi üyeden oluştuğu saptanmıştır. Literatürde yer alan birçok araştırmada VEGF olarak isimlendirilen

büyüme faktörü, aslında İnsan-VEGF'si ya da diğer adıyla VEGF-A'yı tanımlamaktadır.^{110,111}

Başta VEGF-A olarak ailenin tüm üyeleri; vücutta olaylanan birçok fizyolojik (vaskülogenez, anjiyogenez veya kemotaksi gibi) ve patolojik olguda (kanser, neovasküler hastalıklar veya kronik inflamatuvar hastalıklar gibi) rol almaları nedeniyle son yıllarda oldukça popüler olmuşlardır.¹¹²

VEGF-A'nın bilinen 7 homodimerik izoformu bulunmaktadır. Bunlar içerdikleri aminoasit sayılarına göre isimlendirilir; 121, 145, 148, 165, 183, 189 veya 206. VEGF 4. kromozomun kısa kolunda kodlanmıştır. VEGF sentezinden yükümlü 8 ekzon bölgesi bulunmaktadır; bu bölgeleri farklı birleşimleriyle VEGF izoformları sentezlemektedir. Farklı izoformlar farklı reseptör çekiciliklerine ve dolaşımında farklı çözünürlüğe sahiptirler.¹¹³

VEGF biyolojik erkini temel olarak üç reseptörü ile gerçekleştirir. Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörleri VEGF-R1 (flt-1), VEGF-R2 (flk-1/KDR9 ve VEGF-R3 (flt-4) olarak sıralanabilir. Bunlardan VEGF-R1 ve VEGF-R2 endotel hücreleri üzerinde iken VEGF-R3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır.^{113,114}

VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin çoğalması, göç ve farklılaşmasını sağlar. Nitrik oksit (NO) ise anjiogenezin VEGF bağımlı bir

mediyatördür. VEGF'nin NO sentez enzimi üzerindeki uyarıcı etkisi sonucu oluşan NO endotel hücre göçünde rol alır. Başta RAS, SRC ve HER-2 onkogenleri olarak VEGF düzeyi; p53 gen mutasyonu, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-13, FGF-4, PDGF, TGF- β , IGF-1, TNF- α ve NO gibi birçok endojen ajan ile düzenlenmekte ve tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonu artmaktadır. Düşük glikoz düzeyi, oksidatif stres ve özellikle hipoksik ortamda düzeyi hızla artan hipoksi-etkili transkripsiyon faktör-1 (HIF-1) de VEGF salınımında etkili rol oynamaktadır.^{115,116}

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden sağlanan Wistar Albino cinsi, 30 adet, 100-130 gram ağırlığında, genç dişi sıçanlar kullanıldı.

Denekler Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde ısı 21-23 °C ve ışık/zaman ayarı 14/10 saat olarak bakıma alındı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar 6 gruba ayrıldılar:

1. Grup (Kontrol grubu) (n:6) : 20 gün süresince 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz, intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg fosfat tamponlu salin (PBS) uygulandı.

2. Grup (Meme kanseri oluşturulan grup) (n:6): 1. ve 10. günlerde 2 dozda iv. MNU (N-methyl N- nitrosurea) 50mg/kg/gün verildi ve meme tümörünün gelişmesi beklendi.

3. Grup (Meme kanseri oluşturulan ve Siklofosfamid uygulanan grup) (n:6): 1. ve 10. günlerde 2 dozda iv. MNU 50mg/kg/gün verildi ve meme tümörünün geliştiği günden başlayarak 20 gün süresince

1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz, intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

4. Grup (Meme kanseri oluşturulan ve Siklofosfamid + C vitamini grubu) (n:6): 1. ve 10. günlerde 2 dozda iv. MNU (N-methyl N-nitrosurea) 50mg/kg/gün verildi ve meme tümörünün geliştiği günden başlayarak 20 gün süresince her gün oral olarak 200 µg/kg askorbik asit ve 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz, intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

5. Grup (Meme kanseri oluşturulan Siklofosfamid + E vitamini grubu) (n:6): 1. ve 10. günlerde 2 dozda iv. MNU (N-methyl N-nitrosurea) 50mg/kg/gün verildi ve meme tümörünün geliştiği günden başlayarak 20 gün süresince her gün oral olarak 150 µg/kg α-tokoferol ve 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

6. Grup (Meme kanseri oluşturulan Siklofosfamid + selenyum grubu) (n:6): 1. ve 10. günlerde 2 dozda iv. MNU (N-methyl N-nitrosurea) 50mg/kg/gün verildi ve meme tümörünün geliştiği günden başlayarak 20 gün süresince her gün oral olarak 40 µg/kg selenyum ve 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

Yirminci günün sonunda denekler intraperitoneal ketamin (44mg/kg) ve ksilazin enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin karın bölgeleri açılarak uterus ve tuba uterinaları alındı. Alınan dokular elektron mikroskopik inceleme için pH 7,4'de 1/15 µ fosfat tamponlu % 2,5'luk gluteraldehit tespit solüsyonu içine konuldular. Işık mikroskopik inceleme için 1 cm³ büyüklüğünce kesilen doku parçaları %10'luk nötral formalinde 72 saat, tespit edildiler. Daha sonra alışıl gelmiş izleme yöntemlerden geçirilerek parafine gömüldüler.

3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait uterus ve tuba uterina doku bloklarından polilizinli camlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada uterus ve tuba uterinada yaşam sinyallerini belirleyebilmek için Thermo Ki67 (Ab-4) tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB-1510-R7), apoptozisin izlenmesi amacıyla Thermo Caspase 3 (Ab- 4) tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB-1197-R7) ve anjiyogenezin belirlenmesi amacıyla VEGF (Ab-1) (Cat: RB-222-R7) uygulandı. Sekonder kit olarak Ultravision Large Volume Detection System Anti-Polyvalent HRP (RTU) (Cat: TP-125 H) kullanıldı.

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

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında Ki-67 ve Kaspaz 3 için 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) (Cat: AP- 9003- 500, Lab Vision, Fremont, USA), VEGF için ise 1 M EDTA tamponuna (pH: 8.0) (Cat: AP-9004, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS

(Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Ultra V Block (Cat: TA-125-UB, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan VEGF, Kaspaz 3 (poliklonal anti-rabbit), Ki 67 (poliklonal anti-rabbit) primer antikorlarına etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. Camlar daha sonra 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkanıp 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat: TP-125-BN, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: TS-125- HR, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı.

Dokular yeniden PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat: TA-007-HAC, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Cat: TA-125-MH, Lab Vision, Fremont, USA) kullanıldı ve camlar Ultramount (Cat: TA-125-UG, Lab Vision, Fremont, USA) ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.3. Elektron Mikroskopik Yöntem

Tespit:

Sorenson' un fosfat tamponu:

Sol. A: Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4).....0.098gr

Distile su.....100ml

Sol. B: Sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....1.188gr

Distile su.....100ml

18.2ml Sol. A + 81.8ml Sol. B = 100ml (pH: 7.4)

Gluteraldehit tespit solüsyonunun hazırlanması:

9.2cc Sorenson fosfat tamponu + 0.8cc Gluteraldehit = 10cc

Dokular, bu solüsyona 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri sağlandıktan sonra, 1mm küplük parçalara bölünüp ve 1 saat daha gluteraldehit solüsyonunda bekletilerek ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespit solüsyonu:

Osmiyum tetroksit (OsO_4).....0.1gr

Distile su.....5cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1 'lik osmiyum tetroksit solüsyonuna 1 saat etkin bırakıldılar. Böylece tespitleri ve boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidrasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyumla tespitten sonra, fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki etil alkol serilerinden geçirildiler.

%50'lik alkol.....10 dakika

%60'lık alkol.....10 dakika

%70'lik alkol.....10 dakika

Uranil asetat.....30 dakika (1gr uranil asetat + 50ml %80 'lik alkol, karışım hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletildi)

%80 'lik alkol.....2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi

%90 'lık alkol.....10 dakika

%96 'lık alkol..... 10 dakika

%100 'lük alkol.....15 dakika

Propilen oksit.....30 dakika

Propilen oksit + gömme materyali.....30 dakika (gömme materyalinin doku içine geçişi sağlandı)

Daha sonra dokular;

Araldit CY 212..... 10cc

DDSA.....10cc içinde 1 gece 40°C 'de bekletildiler.

Gömme materyali:

Araldit CY 212.....10cc

DDSA.....10cc

BDMA.....0.4cc

Dibütil fitalat.....1cc

Bu karışıma alınan dokular 2 saat rotatörde oda ısısında, 2 saat 40°C 'de etüvde bekletildiler. Son olarak dokular aynı karışım ile 00 numara jelatin kapsüle gömüldüler. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen kapsüller, polimerizasyon için 24 saat 45 derecede, 48 saat 60 derecede etüvde bekletildi. Süre sonunda etüv kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerine soğumaya bırakıldılar.

Hazırlanan bloklarda LKB Leica ultramikrotom ile 1µ'luk kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskobu (DCM 4000, Leica, Germany) ile incelenen kalın kesitler resimlendirildi ve belirlenen bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.2-0.5µ'luk ince kesitleri alındı. Alınan kesitler kontrast sağlamak için, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM 900 elektron mikroskopta değerlendirilerek resimlendirildiler.

3.4. İstatistiksel Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait uterus ve tuba uterina kesitlerinde Ki67 Caspase-3 ve VEGF primer antikorları ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda her bir camda X400 büyültmede gelişigüzel beş alan seçilerek tutulumlar yoğunluk ve tutulum miktar yüzdesi olarak değerlendirildi. Tutulum yoğunluğu semi kantitatif olarak 0 (0,tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (+ + , orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+ + +, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak

skorlandırıldı. Tutulum miktarı immünreaktivitenin bulunduğu hücre/ yapıların toplam hücre/ yapılara oranlanması ile; 1 (%0 – 10 arası, yerel), 2 (%11 – 50 arası, bölgesel) ve 3 (%51-100 arası, yaygın) olarak skorlandı. Her bir cam için bulunan yoğunluk ve miktar skorları birbiri ile çarpıldı, bu sonuçlar toplanarak o cam için tek bir değere ulaşıldı.

Verilerin analizi Windows için SPSS 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi.

Gruplar arasında uterus duvar, uterus endometriyum ve tuba uterina duvar kalınlığı ortalamaları yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Varyans analizi sonucunun önemli bulunması halinde anlamlı farka neden durumları tespit etmek amacıyla post hoc Tukey testi kullanıldı.

Gruplar arasında sırasıyla; Ki67, Kaspaz-3 ve VEGF ortanca değerleri yönünden farkın önemliliği Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunduğu durumlarda anlamlı farka neden olan grup veya grupları saptamak ereğiyle çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı.

Sürekli değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı birlikteliğin olup olmadığı Spearman'ın korelasyon testi ile araştırıldı. $p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Uterus'un Bulguları

4.1.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna ait uterus doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, epitel ve lamina propriyada bazı hücrelerde tutulum olduğu izlendi. Bazı bez hücreleri ve damarlarda da Ki-67 immünreaktivitesi belirlendi. Büyük büyültmede yapılan incelemelerde, boyanmanın hücrelerde genelde çekirdek düzeyinde olduğu saptandı. Epitel, bez ve lamina propriyada bazı hücrelerde oldukça kuvvetli çekirdek tutulumu izlenirken, bazılarında orta dereceli sitoplazmik tutulum olması dikkat da çekiciydi (Resim1A, B).

Kanser grubuna ait uterus doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, küçük büyültmeli resimlerde tüm epitel ve bez hücrelerinde oldukça yoğun tutulum izlenirken, düz kas hücrelerinin de ortadan zayıfa değişen bir tutulum ilgiyi çekti. Büyük büyültmeli resimlerde ise tutulumun, epitel ve bez hücrelerinin apikal hücre zarlarında oldukça yoğun olduğu ve yine çekirdek ile sitoplazma boyanmasının da buna eşlik ettiği gözlemlendi (Resim 2A, B).

Siklofosamid uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, küçük büyültmeli resimlerde, tutulumun son derece zayıf olduğu izlenirken, büyük büyültmeli resimlerde bu daha belirgindi. Bazı bölgelerde sadece apikal hücre zarlarında yer yer

Ki-67 tutulumu ayırt edildi. Ayrıca lamina propriyada bazı hücrelerde de zayıf-orta reaktivite izleniyordu (Resim 3A, B).

Siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, küçük büyültmeli resimlerde epitel ve bez epitelinde kuvvetliden ortaya değişen bir tutulum dikkati çekerken, immünboyanmanın düz kaslarda zayıf olduğu belirlendi. Büyük büyültmeli resimlerde epitel ve bez epitellerinde çekirdek tutulumunun yanı sıra sitoplazmada da orta dereceli tutulum belirlendi (Resim 4A, B).

Siklofosfamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, tutulumun küçük ve büyük büyültmeli resimlerde kontrole yakın olduğu gözlemlendi (Resim 5A, B).

Siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, tutulum küçük ve büyük büyültmeli resimlerde özgün değildi. Epitel, bez epiteli ve lamina propriya hücrelerinde tutulum daha çok sitoplazmik olarak belirlenirken lamina propriyada bazı hücrelerde çekirdek immünreaktivitesinin yoğunluğu dikkati çekti (Resim 6A, B).

Kontrol grubuna ait uterus doku örneklerindeki Kaspaz-3 immünboyamasında, küçük büyültmeli resimlerde, bazı epitel, bez hücreleri ve lamina propriya hücrelerinde izlenen yoğun tutulum belirgindi.

Yine damar duvarlarında endotel hücrelerinde de immünreaktivite ayırd ediliyordu (Resim 7A, B).

Kanser grubuna ait uterus doku örneklerindeki Kaspaz-3 immünboyamasında, epitel ve bez epitelinde son derece yoğun tutulum belirlendi. Aynı şekilde kan damarları endotelinde yoğun ve bazı lamina propriya hücrelerinde de belirgin reaktivite olduğu ilgiyi çekiyordu (Resim 8A, B).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Kaspaz-3 immünboyamasında, yüzey epitel hücrelerinde orta dereceli tutulumun varlığı belirlendi. Bez epitel hücrelerinde de tutulumun zayıftan ortaya değiştiği görüldü (Resim 9A, B).

Siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Kaspaz-3 immünboyamasında, reaktivitenin epitel ve bez epitelinde kuvvetli-orta düzeyde olduğu dikkati çekti. Ayrıca damar endotelinde ve bazı bağ doku hücrelerinde de oldukça kuvvetli boyanma ayırt ediliyordu (Resim 10A, B).

Siklofosfamid ve E vitamini ile siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruplara ait uterus doku örneklerindeki Kaspaz-3 immünboyamasında epitel, bez epiteli ve lamina propriya hücrelerinde boyanmanın oldukça az olduğu görüldü. E vitamini uygulanan gruba ait örneklerde yer yer bazı epitel, bez epiteli hücrelerinde tutulumun orta düzeyde olduğu belirlendi (Resim 11A, B, C).

Siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki Kaspaz-3 immünboyamasında, E vitamini uygulanan gruba karşı boyanmanın daha da zayıf olduğu belirlendi (Resim 12A, B).

Kontrol grubuna ait uterus doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, endometriyum epitelinde, bağ dokusunda ve bez hücrelerinde belirgin tutulum görüldü. Reaktivitenin daha çok apikal hücre zarında gözlemlenmesi dikkat çekiciydi. Sitoplazmik tutulumun ise ortadan zayıfa değiştiği belirlendi. Damar endotelinde ise tutulum ortadan zayıfa değişiyordu (Resim 13A, B, 14).

Kanser grubuna ait uterus doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, tutulum genelde kontrole eşdeşti. Ancak bazı damar endotellerinde apikal zar tutulumunun varlığı dikkat çekiciydi (Resim 15A, B).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, küçük ve büyük büyütmeli resimlerde yüzey epitel hücrelerinde ve bezlerde tutulumun ortadan kuvvetliye değiştiği, sitoplazmik ve apikal hücre zarı düzeyinde olduğu belirlendi. Lamina propriyada bazı hücrelerde yaygın tutulumun varlığının da buna eşlik ettiği izleniyordu. Bu gruba ait incelemelerde tutulumun damarlarda endotel hücreleri düzeyinde belirgin olduğu görüldü (Resim 16A, B).

Siklofosamid ve C vitamini (Resim 17A, B), siklofosamid ve E vitamini (Resim 18A, B) ile Siklofosamid ve selenyum (Resim 19A, B) uygulaması yapılan gruplarda yapılan incelemelerde, VEGF immünreaktivitesinin küçük ve büyük büyültmeli resimlerde kontrole karşın daha az olduğu dikkati çekti.

4.1.2. Yarı-İnce Kesit Bulguları

Kontrol grubuna ait uterus doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, endometriyum yüzey epitelinin tek sıralı prizmatik yapısı belirgindi. Prizmatik hücrelerde çekirdek genelde oval şekilli idi ve hücrenin bazal bölümünde yerleşik izlendi. Çekirdekte yoğun kromatinin hemen çekirdek zarı altında yerleştiği belirlenirken, iç kısımda ökromatik görünüm ve yine çekirdekçiklerin belirgin olduğu gözlemlendi. Bez hücrelerinde de yapı yüzey epiteline eşdeşti. Lamina propriyada iri oval hücreler ve kapillerler gözlemlendi. Arada ince kollagen liflerin dağılımı izlendi (Resim 20A, B)

Kanser grubuna ait uterus doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, epitelin boyunun kontrole karşın daha kısa olduğu ve üst yüz hücre zarının düz olduğu belirlendi. Epitelde büyük bir grup hücrenin apoptozise giden görünüm sergilediği ilgiyi çekerken, bazı hücrelerde şekil ve çekirdek değişimleri de dikkati çekti. Bez epitel hücreleri oldukça normal yapıdaydı. Bağ dokusunda iri oval hücreler ve bunun yanı sıra oldukça yoğun çekirdekli hücreler ayırt edildi (Resim 21A, B).

Siklofosamid uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, yapının genelde kanser grubuna benzediği izlenirken, epitel ve bez epiteli hücrelerindeki vakuolizasyon dikkati çekti. Epitel ve bez epitelinde apoptozise giden hücre görünümü ayırt edildi (Resim 22A, B).

Siklofosamid ve C vitamini (Resim 23A, B), siklofosamid ve E vitamini (Resim 24A, B) ile Siklofosamid ve selenyum (Resim 25A, B) uygulamaları yapılan gruplara ait yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, genel yapının biraz daha normal görüldüğü belirlenirken, epitel ve bez epitelinde yer yer izlenen apoptotik yapılar ilgiyi çekti.

4.1.3. Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, epitel ve bez epiteli hücrelerinde yapı oldukça normal olmakla birlikte bazı epitel hücrelerinde apoptotik cisimler ilgiyi çekti. Hücre üst yüzlerinde mikrovilluslar ve apikal ve bazal sitoplazmaya dağılmış irili ufaklı vakuoller belirgindi. Lamina propriya hücreleri oldukça normal yapıda izleniyordu (Resim 26A, B).

Kanser grubuna ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde epitel ve bez epitelinde yaygın apoptotik cisimler, apoptozisin çeşitli aşamalarında olan hücresel görünüm dikkati çekti. Buna karşı lamina propriyanın oldukça normal yapı sergilediği belirlendi (Resim 27A, B, 28).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, kanser grubunda görülen değişimlerin sürdüğü belirlendi. Apoptotik cisimler ile yoğun ve açık hücreler, epitel ve bez epitelinde dikkati çekti. Tüm hücre mitokondriyonlarında yaygın kristolizis izlendi. Epitel hücrelerinde yaygın apoptotik cisimler belirgindi. Lamina propriyadaki bazı hücrelerin de apoptozise gittiği dikkati çekiyordu. Kan damarları yapısının genelde normal olduğu ayırt edildi (Resim 29A, B, 30).

Siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının siklofosfamid ve kanser grubuna benzediği dikkati çekmekle birlikte, bez hücrelerinin genelde mitokondriyal kristolizis dışında normal yapıda oldukları görüldü (Resim 31A, B).

Siklofosfamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının kontrol grubunda eşdeğer olduğu ayırt edildi (Resim 32A, B, 33).

Siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının oldukça dejenere olduğu dikkati çekti. Bu gruba ait örneklerde salgılamamanın aktif olarak yapıldığı ve GER tubuluslarında aşırı genişleme olduğu gözlemlendi (Resim 34A, B, 35).

4.1.4. İstatistiksel Bulgular

Uterus duvar kalınlığı yönünden, siklofosfomid uygulaması yapılan gruba karşı sırasıyla C ve E vitamini ile selenyum gruplarının uterus duvar kalınlığı ortalaması istatistiksel olarak daha yüksekti ve anlamlıydı ($p<0,001$; $p<0,001$ ve $p=0,030$). Siklofosfamid grubu ise kanser uygulaması yapılan gruba karşı istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,983$).

Siklofosfomid uygulaması yapılan gruba göre sırasıyla; C, E vitamini ile selenyum uygulaması yapılan gruplarının uterus endometriyum kalınlığı ortalaması daha yüksekti ve bulgular istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$).

C ve E vitamini ile C ve selenyum, E vitamini ile selenyum uygulaması yapılan grupların uterus duvar kalınlığı ortalamaları istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,778$; $p=0,112$ ve $p=0,751$). Aynı gruplar arasında uterus endometriyum kalınlığı ortalamasında da anlamlı bir fark yoktu ve bu fark istatistiksel olarak benzerdi ($p=1,000$; $p=0,070$ ve $p=0,085$). Bu gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada da tuba uterina duvar kalınlığı ortalamaları eşdeğer bulundu ($p=0,219$; $p=1,000$ ve $p=0,156$).

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, uterus dokusundaki Ki-67 boyanması incelendiğinde gruplar arasında epitel tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,001$). Kontrol grubuna göre siklofosfamid uygulaması yapılan grupta tutulum daha düşük olarak

bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Aynı şekilde uterus dokusuna ait Kaspaz-3 tutulumu incelendiğinde gruplar arasında fark görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Uterus VEGF tutulumu incelendiğinde ise kontrol ve kanser gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,007$ ve $p<0,01$).

4.2. Tuba Uterina'nın Bulguları

4.2.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna ait tuba uterina doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, tutulumun bazı hücre çekirdeklerinde ve bazı bölgelerde apikal hücre zarı düzeyinde oldukça yoğun izlendiği, sitoplazmik tutulumun ise ortadan zayıfa değiştiği ayırt edildi. Lamina propriya hücrelerinde ise belirgin bir tutulum dikkati çekmedi (Resim 36).

Kanser grubuna ait tuba uterina doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, tutulumun epitelde çekirdek ve sitoplazma düzeyinde oldukça yoğun olduğu izlenirken, bağ dokuda bazı hücrelerde orta-zayıf dereceli tutulum dikkati çekti (Resim 37).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, tutulum kontrole yakın görünüm sergilerken (Resim 38), siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan grupta oldukça özgün olmayan bir tutulum olduğu belirlendi. Bazı sitoplazmik bölgelerde orta, bazılarında ise zayıf tutulumun varlığı dikkat çekiciydi (Resim 39).

Siklofosfamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki Ki-67 immünboyamasında, tutulumun oldukça yoğun olduğu (Resim 40) buna karşın siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruba ait örneklerde tutulumun daha çok apikal hücre zarı düzeyinde olduğu dikkati çekti (Resim 41).

Kontrol grubuna ait tuba uterina doku örneklerindeki kaspaz-3 immünboyamasında, tutulumun epitel hücrelerinde sitoplazmik düzeyde ve oldukça zayıf olduğu belirlendi (Resim 42).

Kanser grubuna ait tuba uterina doku örneklerindeki kaspaz-3 immünboyamasında, tutulumun epitel hücrelerinde oldukça yoğun olduğu belirlenirken, lamina propriyada ise zayıf tutulum ayırt ediliyordu (Resim 43).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki kaspaz-3 immünboyamasında, epitel hücrelerinde zayıftan ortaya değişen tutulum belirlenirken, bağ dokusunda zayıf olduğu görüldü (Resim 44).

Siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki kaspaz-3 immünboyamasında, epitel ve bazı bağ dokusu hücrelerinde tutulumun oldukça yoğun olduğu belirlendi (Resim 45).

Siklofosfamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki kaspaz-3 immünboyamasında, tutulumun bir önceki gruba eşlik ettiği ilgiyi çekiyordu (Resim 46).

Siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki kaspaz-3 immünboyamasında, tutulum kontrol grubuna eşdeşti (Resim 47).

Kontrol grubuna ait tuba uterina doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, tutulumun epitel hücrelerinin apikal hücre zarı ve sitoplazmasında olduğu ayırt edilirken, damarlarda belirgin bir tutulum ilgiyi çekmedi (Resim 48).

Kanser grubuna ait tuba uterina doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, tutulumun kontrol grubuna benzediği dikkati çekti (Resim 49).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, tutulumun son derece zayıf olduğu ve tüm sitoplazmaya dağıldığı dikkati çekti (Resim 50).

Siklofosfamid ve C vitamini (Resim 51), siklofosfamid ve E vitamini (Resim 52) ile siklofosfamid ve selenyum (Resim 53) uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerindeki VEGF immünboyamasında, ise tutulum kontrol grubuna eşdeşti.

4.2.2. Yarı-İnce Kesit Bulguları

Kontrol grubuna ait tuba uterina doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, epitel hücrelerinin tek sıralı prizmatik yapısı, üst yüzde silyalı ve silyasız hücrelerin varlığı izlendi. Hücre çekirdeklerinde heterokromatin kümelerinin çekirdek zarı birikimi ve çekirdekçiklerin belirgin olduğu gözlemlendi (Resim 54).

Kanser grubuna ait tuba uterina doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, epitel hücrelerinde oldukça iri vakuoller, çekirdeklerde yoğun ve açık boyanma farklılıkları, silyaların bazı bölgelerde birleştikleri dikkati çekiyordu. Yine bazı hücrelerde sitoplazmada yoğunluk farkı olduğu dikkati çekti (Resim 55).

Siklofosfamid uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, epitelin çok sıralı görünümü ve üst sıradaki hücrelerdeki yoğunluk farkı belirgindi. Yine çekirdeklerdeki farklı boyanma ilginçti. Üst sıradaki yoğun hücrelerin dejenere hücreler olabileceği düşünüldü. Lamina propria normal yapıdaydı (Resim 56).

Siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerinde yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde, yapının biraz daha normale döndüğü izlenirken, yine bazı hücrelerde apoptotik cisimlerin varlığı belirlendi (Resim 57).

Siklofosfamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerinde, epitelin biraz daha normal sıralanma gösterdiği ayırt edilirken, lümende dökülmüş epitel hücreleri ve yine epitel hücrelerinde yaygın vakuolizasyon dikkati çekti (Resim 58).

4.2.3. Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait tuba uterina doku örneklerinde yapılan incelemelerde, epitel hücreleri, çekirdekleri ve silyaları normal yapıda gözlenirken bazı mitokondriyonlar da kristoliz ilgiyi çekti. Hücre yan yüz bağlantıları oldukça normal yapıdaydı. Epitelde silyasız hücreler (peg hücreleri) de ayırt ediliyordu. (Resim 59, 60).

Kanser grubuna ait tuba uterina doku örneklerinde yapılan incelemelerde, epitel hücrelerinde silya yapılarının normal olduğu buna karşın epitelin yozlaştığı belirlendi. Epitel hücrelerinde irili ufaklı lipid damlacıklarının varlığı, çekirdeklerin girintili çıkıntılı yapısı ve yine yoğunluk farkı gösteren sitoplazma içeriği dikkati çekti. Bu gruba ait büyük büyültmeli resimlerde yapılan incelemede, sitoplazmada oldukça iri lipid damlacıklarının varlığı ve çekirdekteki şekil değişikliği belirgindi. Lipit içeren hücrelerin genelde Peg hücreleri olduğu ilgiyi çekti. Silyalı hücrelerde silyalar normal yapıdaydı ve hücre yan yüz bağlantıları da kontrole eşdeşti (Resim 61, 62).

Siklofosfamid grubuna ait tuba uterina doku örneklerinde yapılan incelemelerde, epitelin çok katlı hali ve üst yüzde bulunan

dejeneratif hücrelerin belirgin olduğu görüldü. Hücrelerin büyük çoğunluğunda üst yüzde apikal yüz farklanması izlenmedi (Resim 63A, B, 64) .

Siklofosfamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerinde yapılan incelemelerde, sitoplazmada yaygın lipid damlacıklarının varlığı dikkati çekti. Kanseri uygulaması yapılan grupta izlenen üst sıra yoğun hücre katmanının bu grupta da görülmesi dikkat çekiciydi. Üst yüz farklanmaları normal yapıda izlendi. Bazı epitel hücrelerinde apoptozise gidişi simgeleyen yapısal görüntü belirgindi (Resim 65A, B).

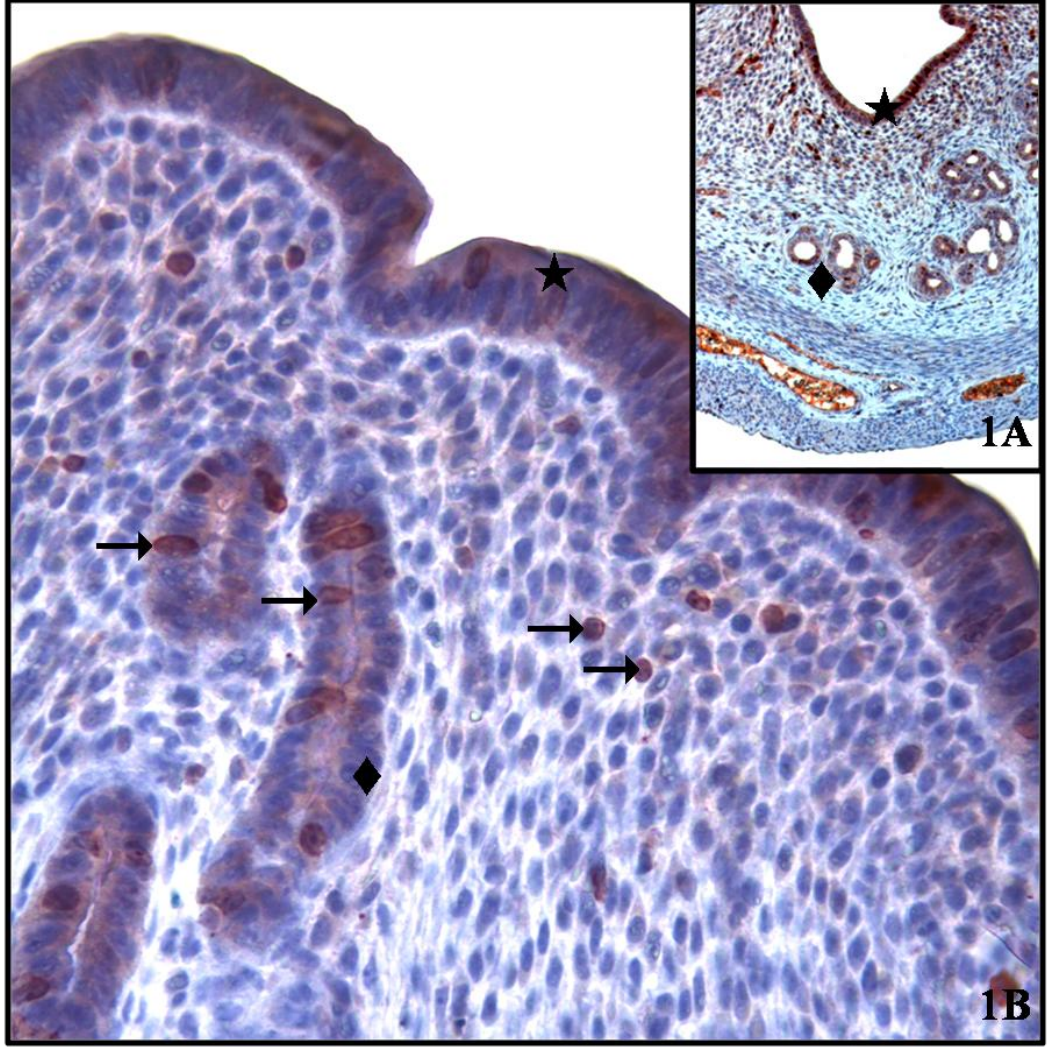
Siklofosfamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait tuba uterina doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının biraz daha kontrole benzediği ayırt edilirken, epitel hücre mitokondriyonlarında kristolizis, lipid damlacıklarının daha ender oluşu dikkati çekti. Bu grupta da epitelde koyu ve açık renk boyanan hücre farklılığı ilgiyi çekmesine karşın, hücre yan yüz bağlantıları ve apikal yüz farklanmaları oldukça normaldi (Resim 66, 67).

4.2.4. İstatistiksel Bulgular

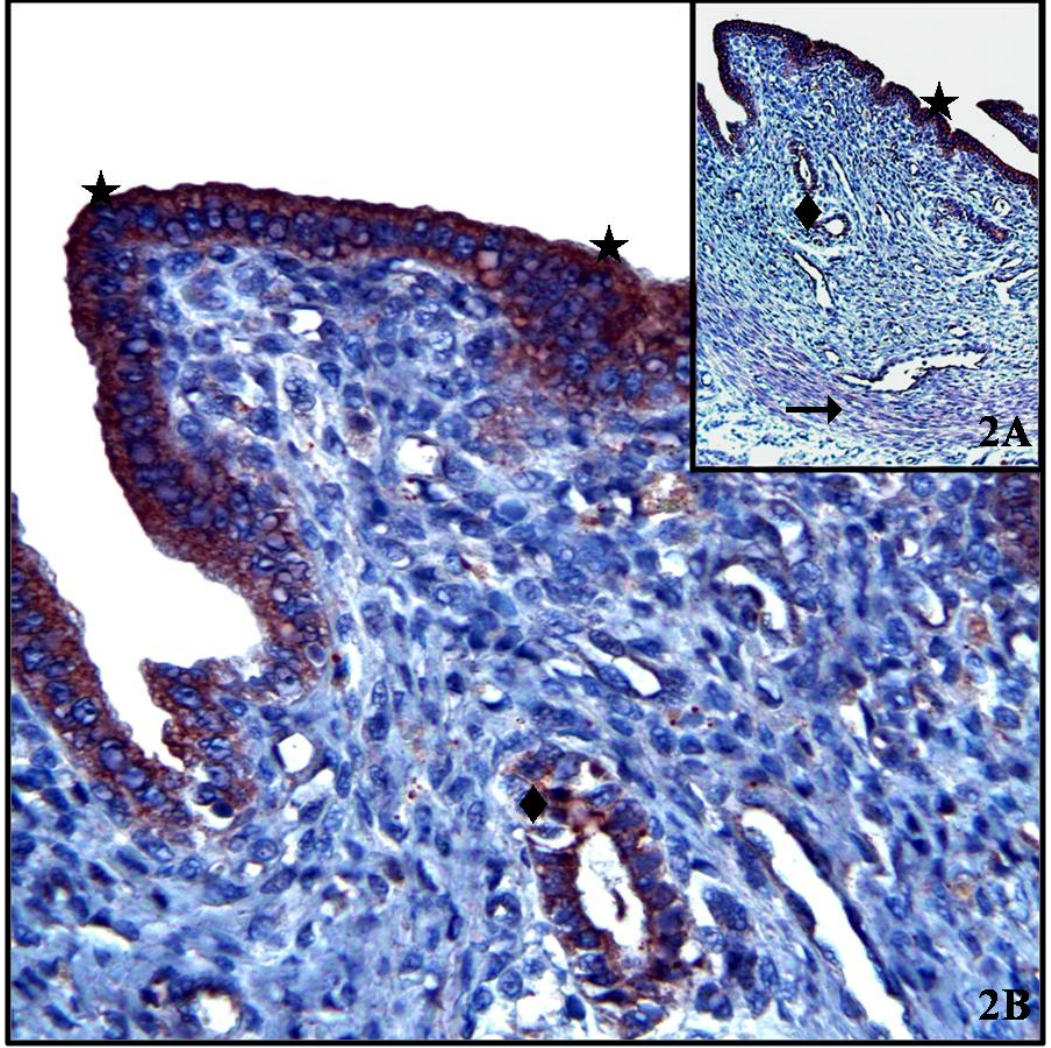
Kanser ve siklofosfamid uygulaması yapılan grupların tuba uterina duvar kalınlığı ortalaması kontrol grubuna göre daha düşüktü ve anlamlıydı ($p<0,001$). Kanser grubu ile siklofosfamid uygulaması yapılan grup arasında ise tuba uterina duvar kalınlığı ortalamaları istatistiksel

olarak eşdeşti ($p=1,000$). Buna karşın kanser uygulaması yapılan gruba göre sırasıyla C ve E vitamini ile selenyum uygulaması yapılan gruplarının tuba uterina duvar kalınlığı ortalaması yüksekti ($p=0,008$; $p<0,001$ ve $p=0,013$).

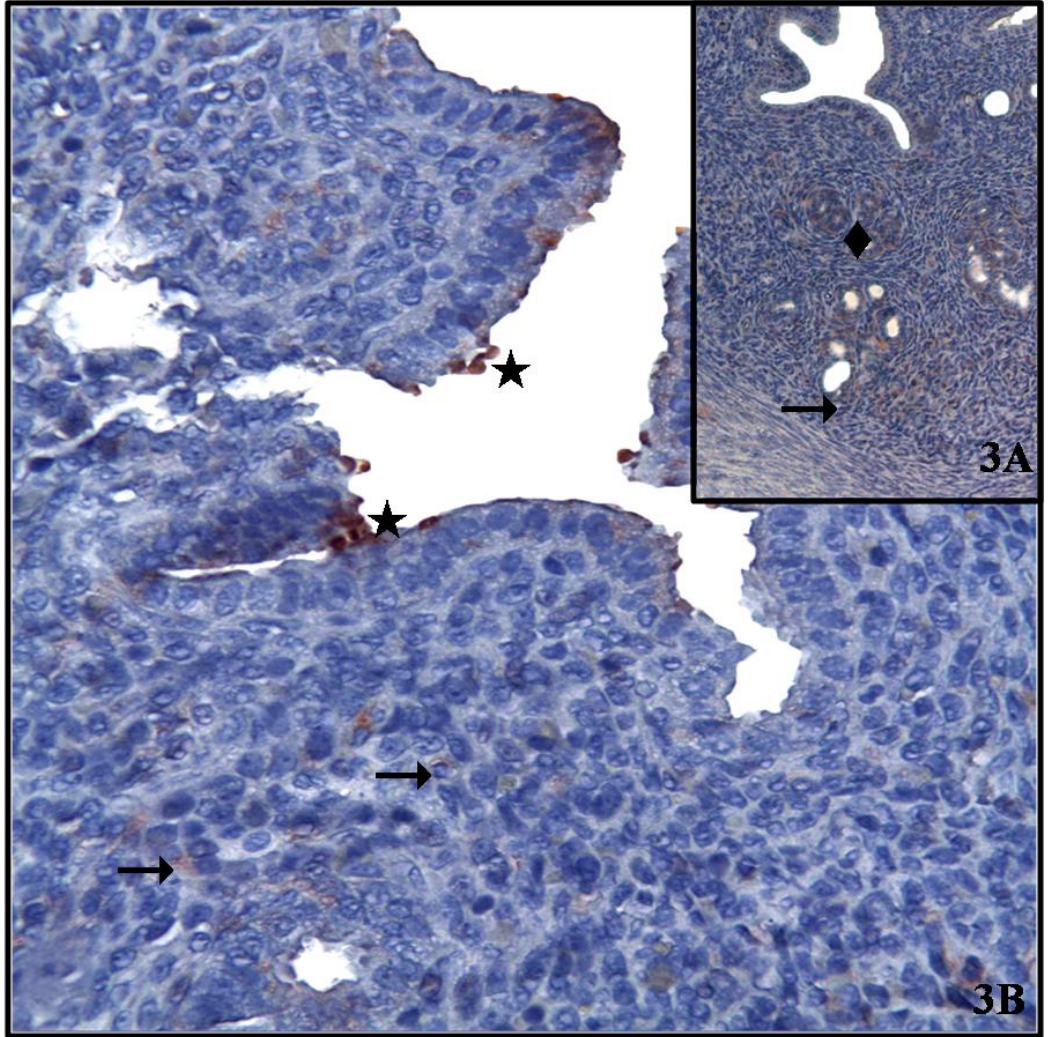
Tuba uterina dokusundaki Ki-67 boyanması incelendiğinde gruplar arasında epitel tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Aynı şekilde gruplar arasında tuba uterina Kaspaz-3 tutulumunda da istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,001$). Gruplar arasında tuba uterina VEGF tutulumu istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$).



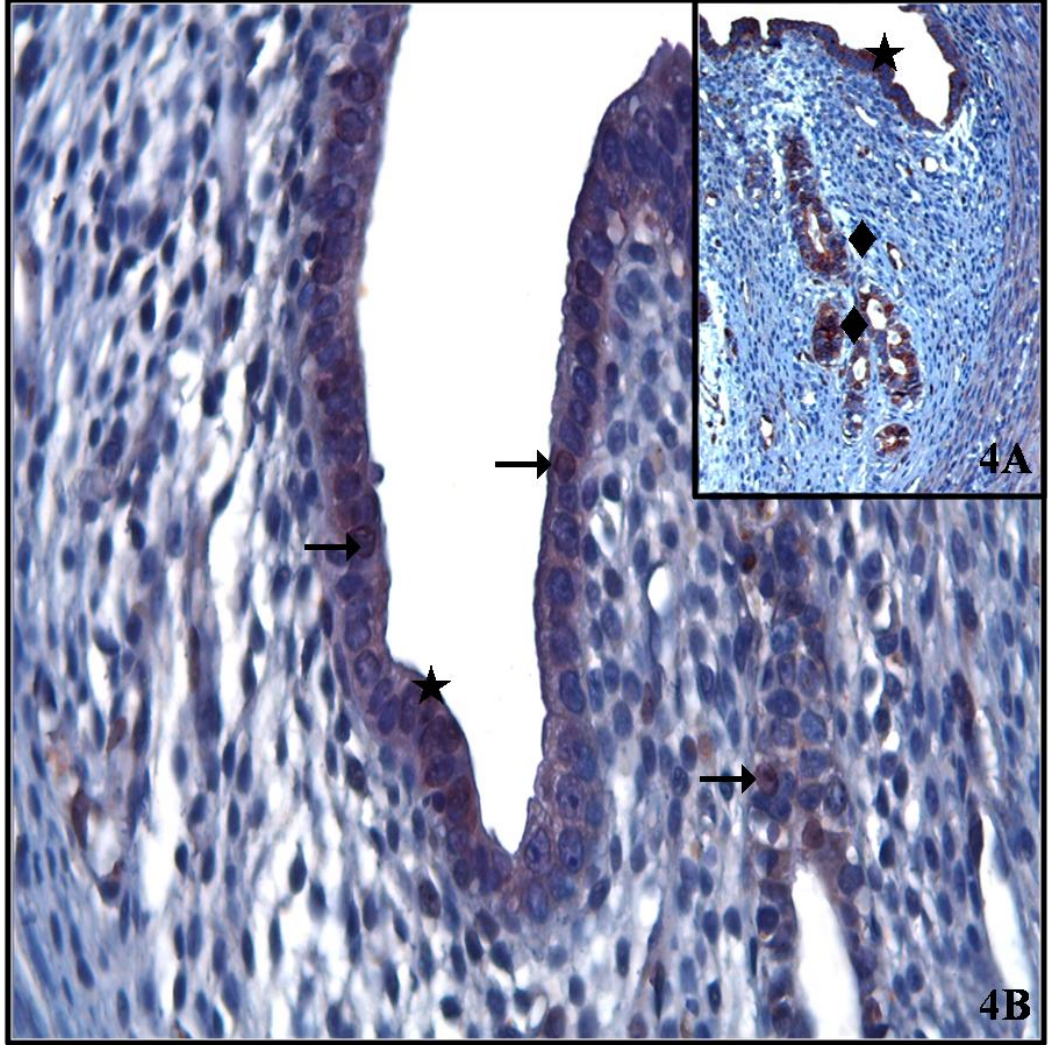
Resim 1A, B: Ki-67 boyaması yapılan kontrol grubuna ait uterus dokusunda; epitel (★) ve lamina propriada bazı hücrelerde tutulum olduğu (→) görülüyor. Bazı bez hücrelerinde de (◆) Ki-67 immünreaktivitesi izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



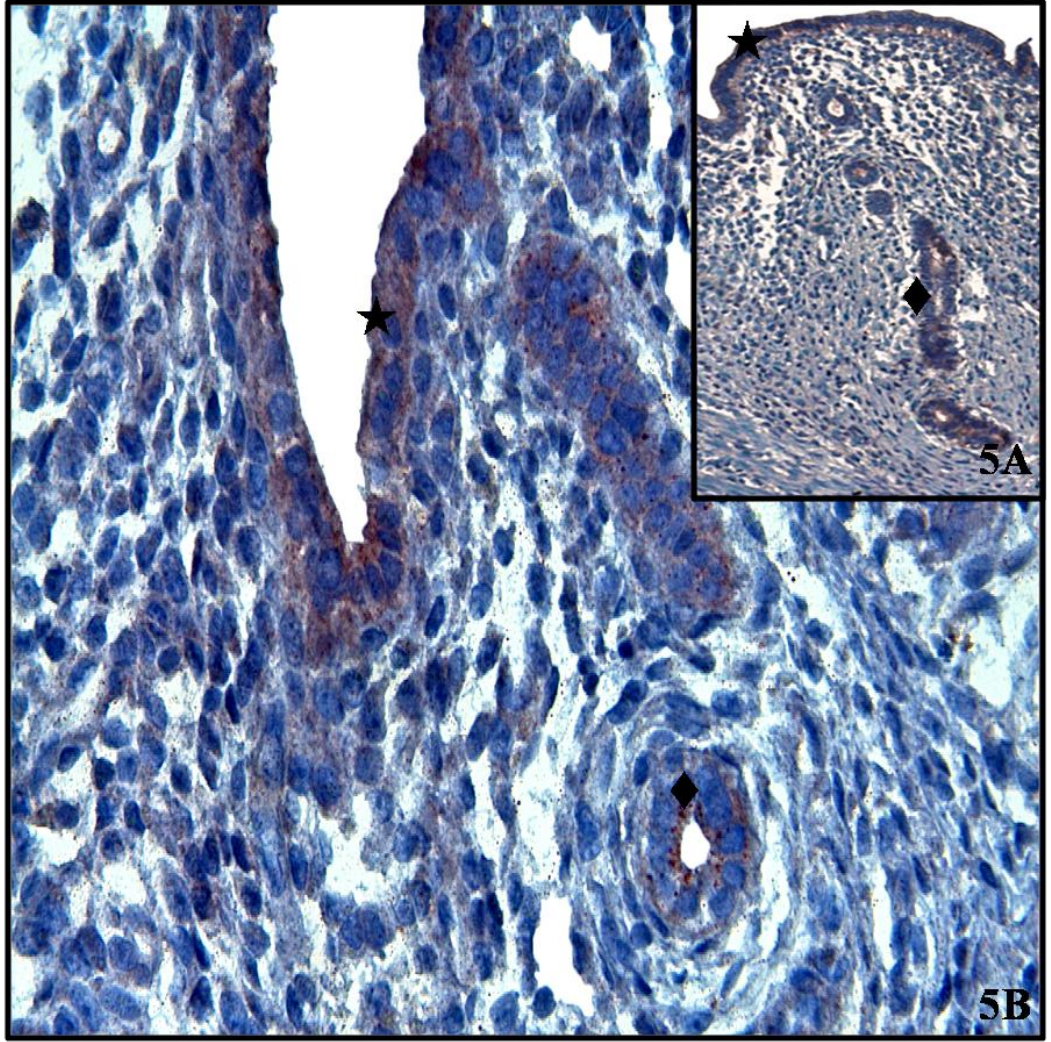
Resim 2A, B: Ki-67 boyaması yapılan kanser grubuna ait uterus dokusunda; tüm epitel (★) ve bez hücrelerinde (◆) oldukça yoğun tutulum izlenirken, düz kas hücrelerinde (→) de ortadan zayıfa değişen bir tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



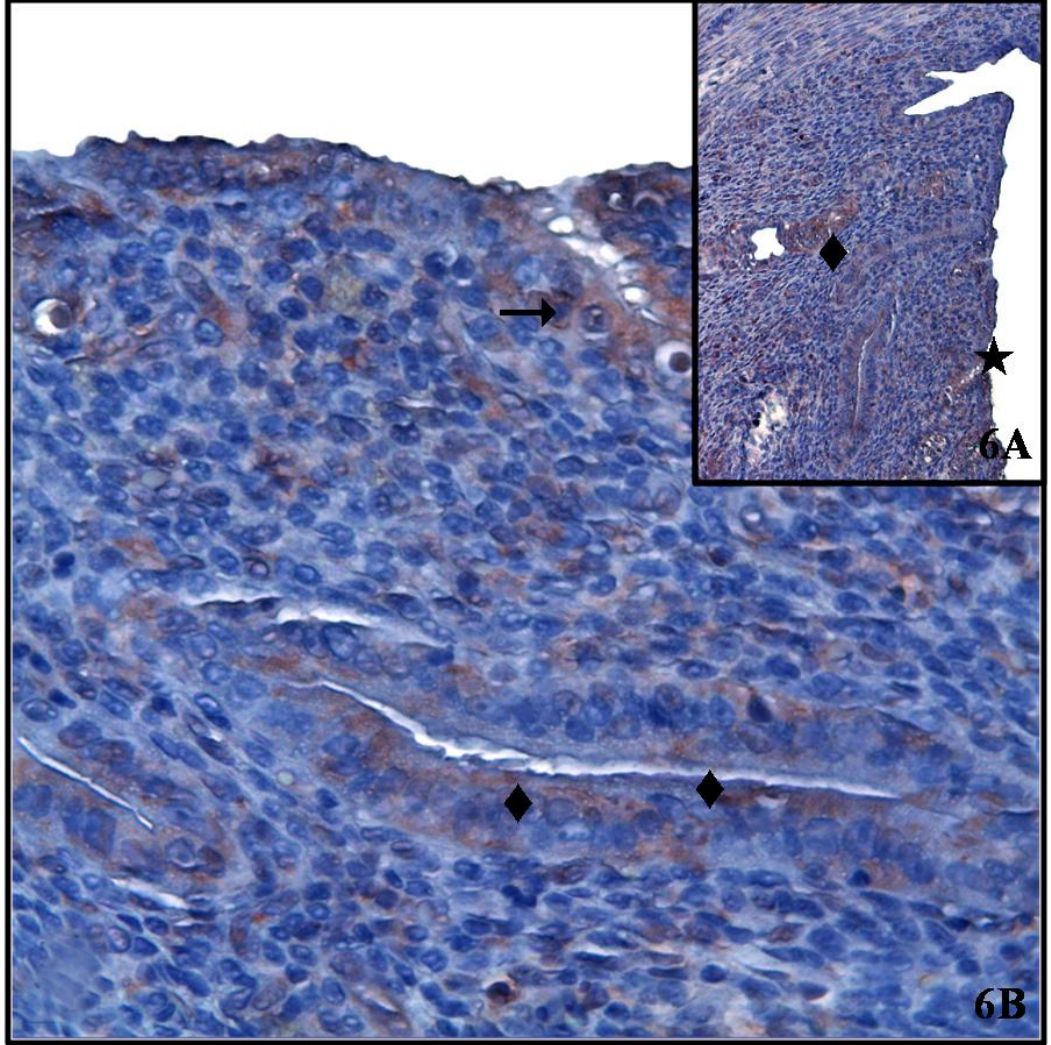
Resim 3A, B: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosamid uygulanan gruba ait uterus dokusunda; küçük büyütmeli resimlerde, tutulumun son derece zayıf olduğu izlenirken (→), büyük büyütmeli resimlerde boyanmanın hemen hiç olmadığı görülüyor. Apikal hücre zarlarında (★) ve lamina propriyada bazı hücrelerde (→) yer yer Ki-67 tutulumu izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



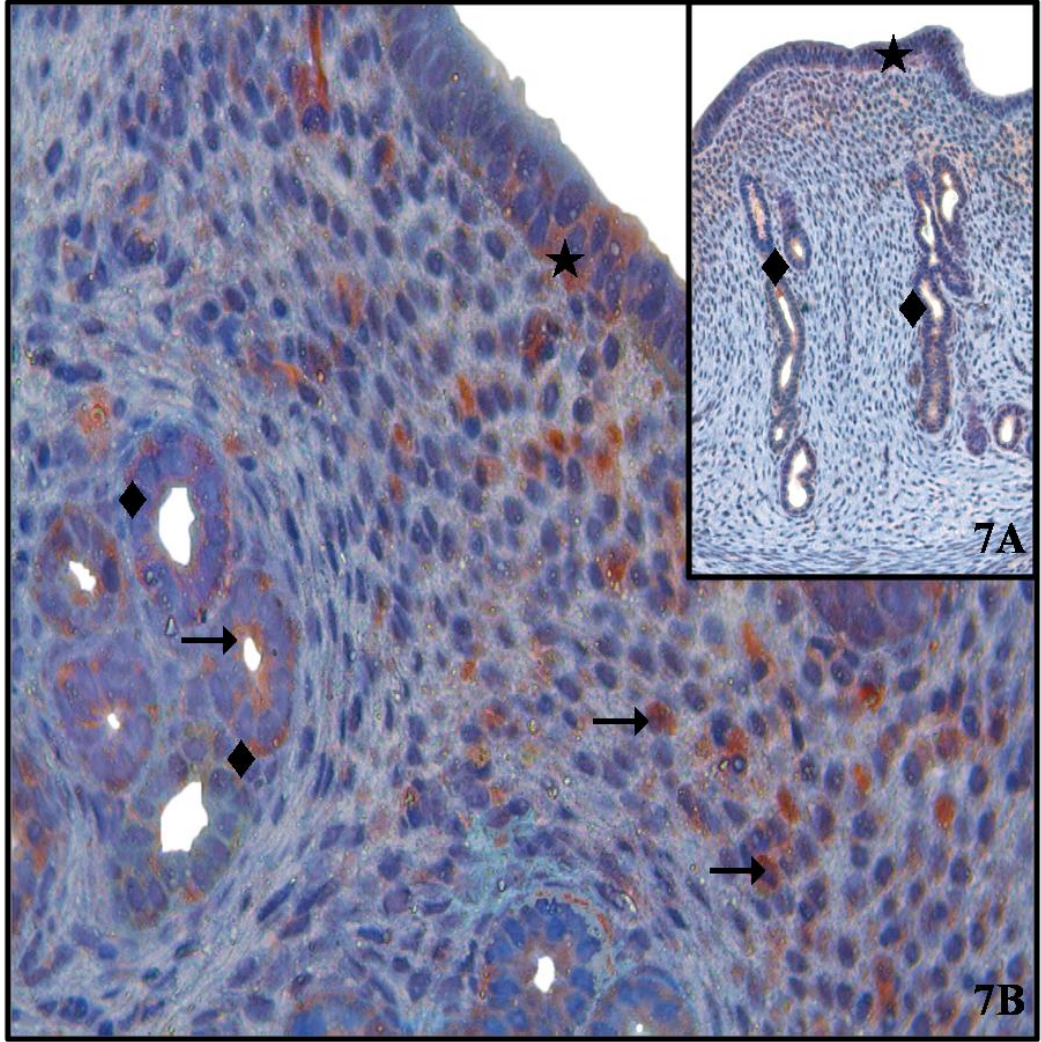
Resim 4A, B: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) kuvvetliden ortaya değişen bir tutulum görülüyor. Yine epitel ve bez epitellerinde çekirdek tutulumunun (→) yanı sıra sitoplazmada da orta dereceli tutulum izleniyor ( mm nperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



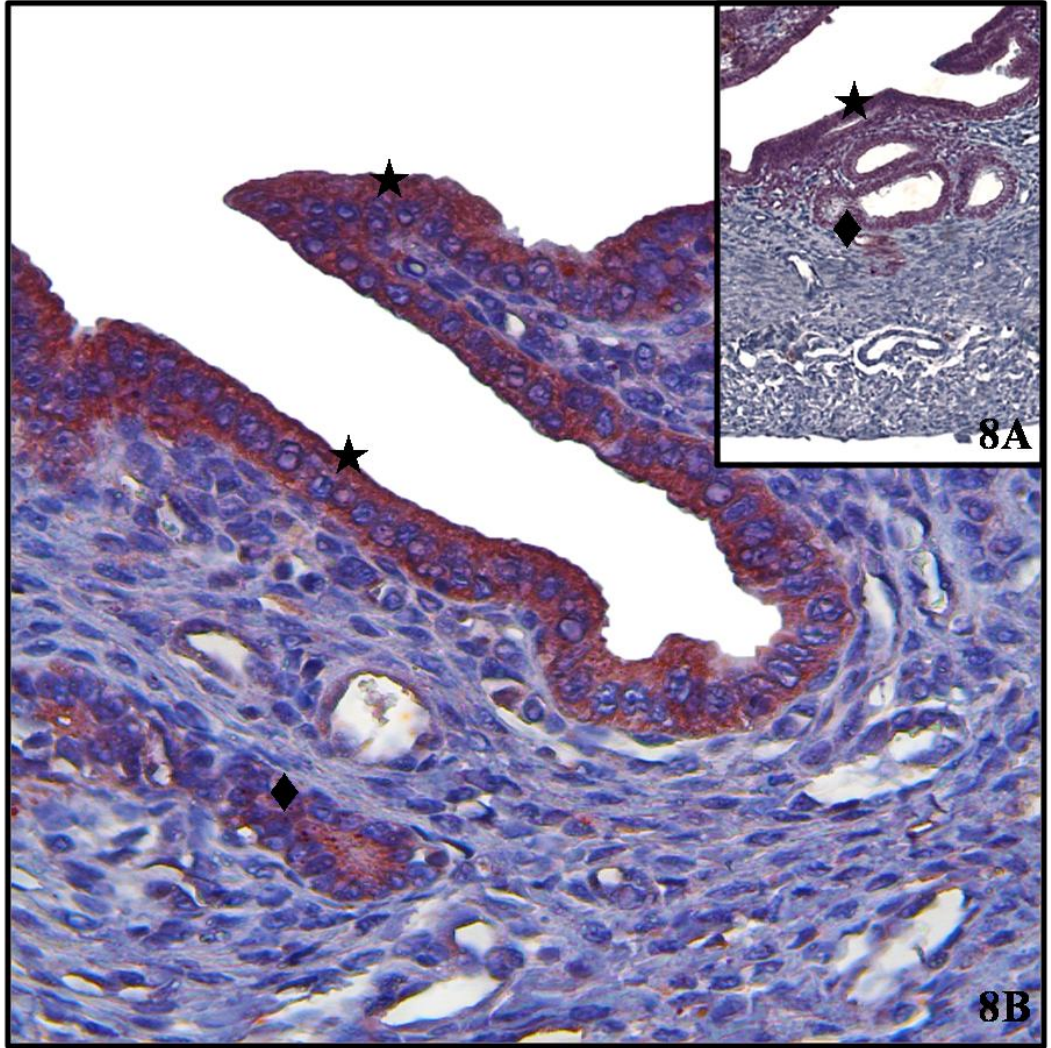
Resim 5A, B: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda; tutulumun küçük ve büyük büyültmeli resimlerde epitel (★) ve bez epitelinde (◆) kontrole yakın olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



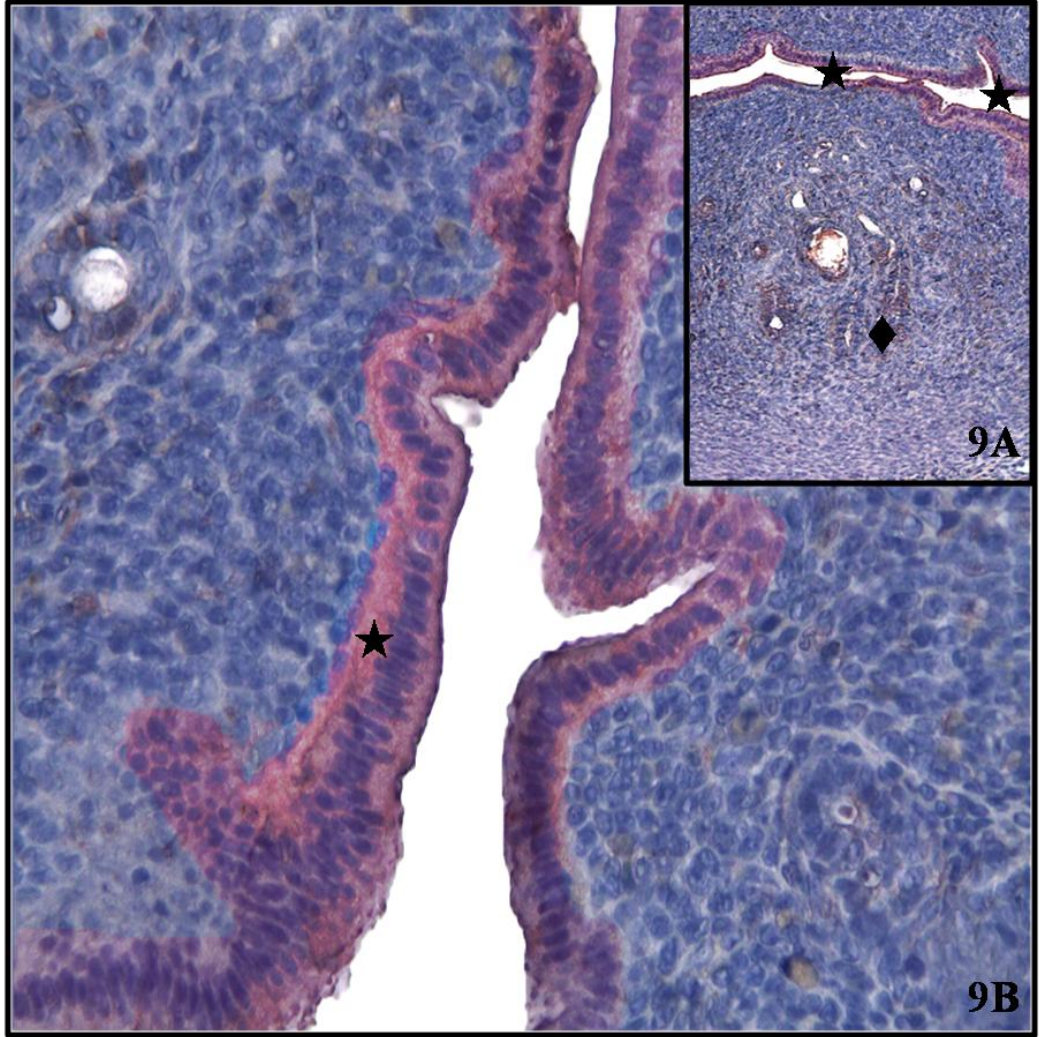
Resim 6A, B: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel (★), bez epiteli (◆) ve lamina propriya hücrelerinde tutulumun daha çok sitoplazmik olduğu görülüyor. Epitel ve lamina propriyada bazı hücrelerde (→) çekirdek tutulumunun yoğunluğu dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



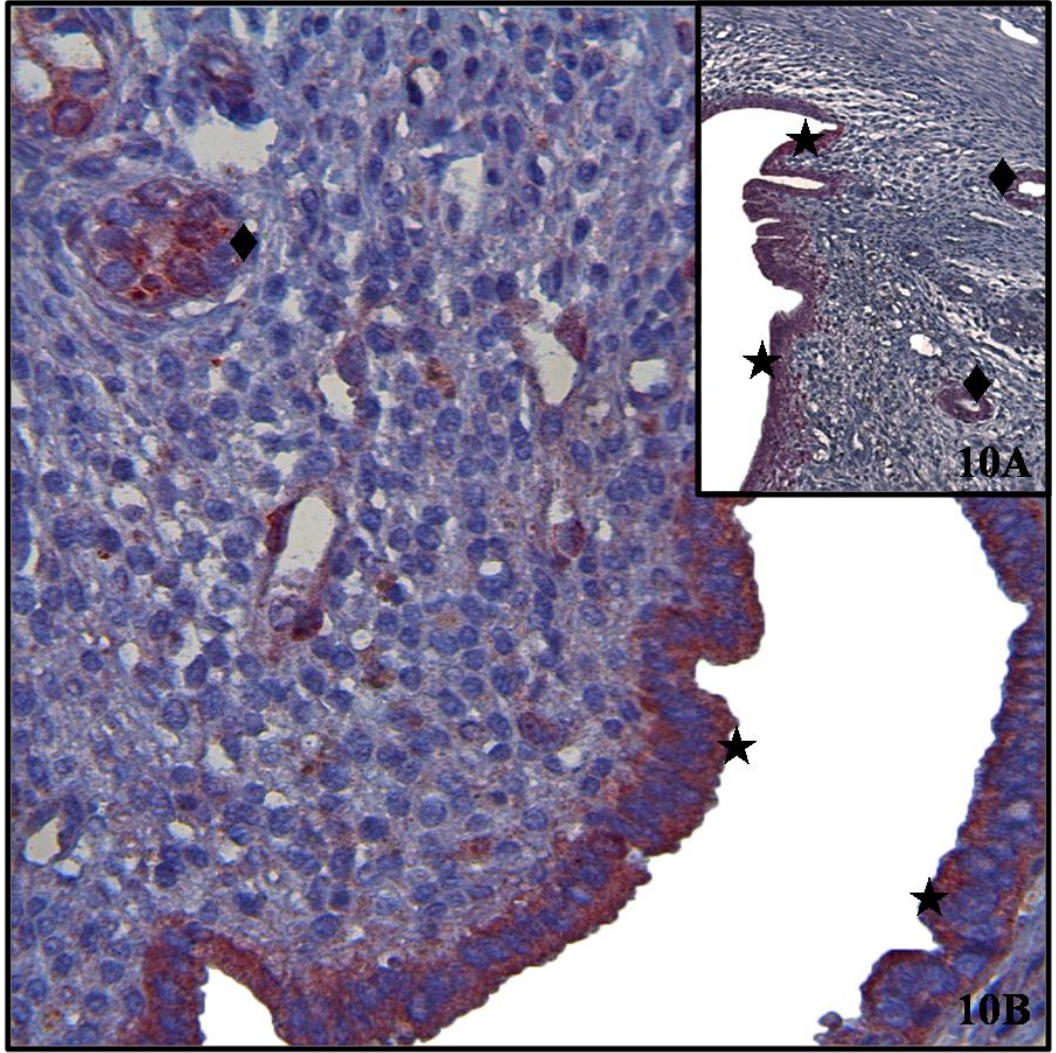
Resim 7A, B: Kaspaz-3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait uterus dokusunda; bazı epitel (★), bez hücreleri (◆) ve lamina propriya hücrelerinde (→) kuvvetli tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



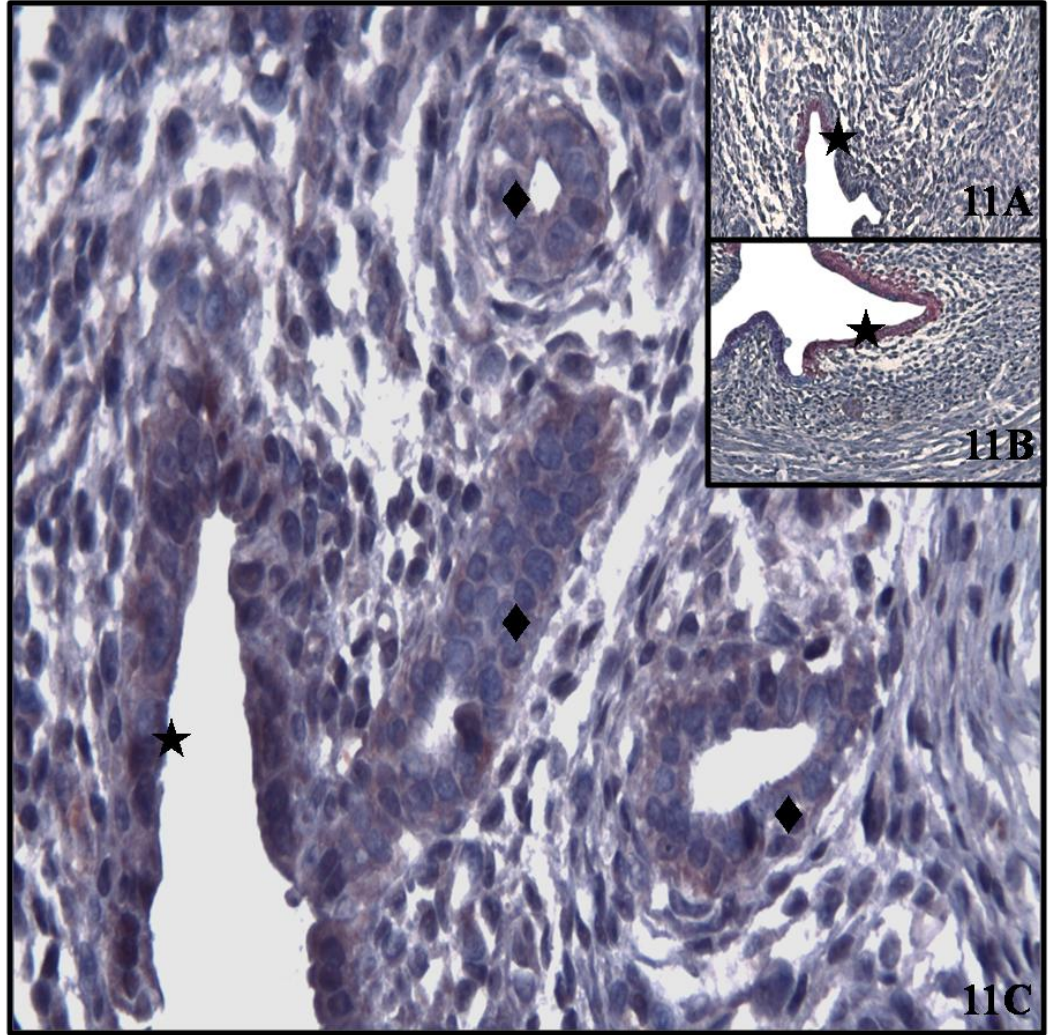
Resim 8A, B: Kaspaz-3 boyaması yapılan kanser grubuna ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (♦) son derece kuvvetli tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



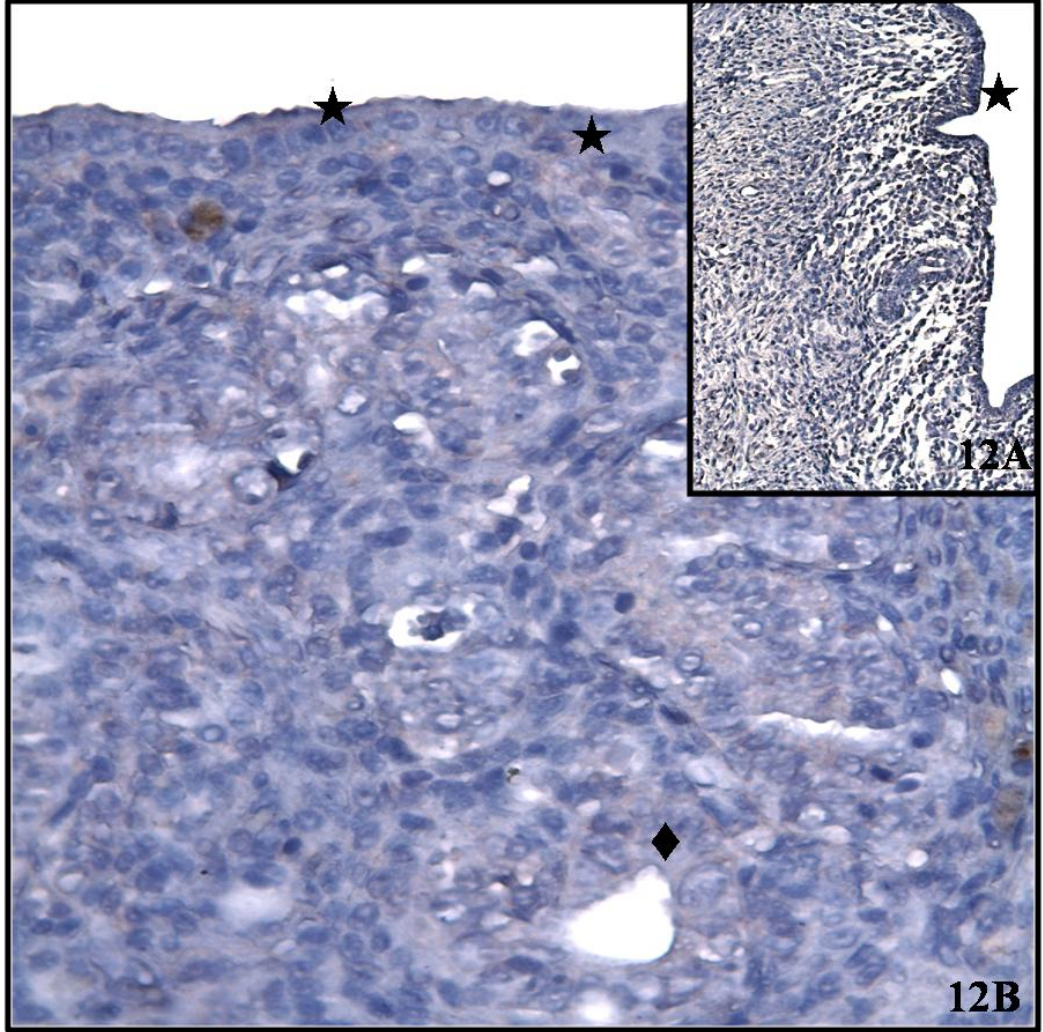
Resim 9A, B: Kaspaz-3 boyaması yapılan Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) orta dereceli tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



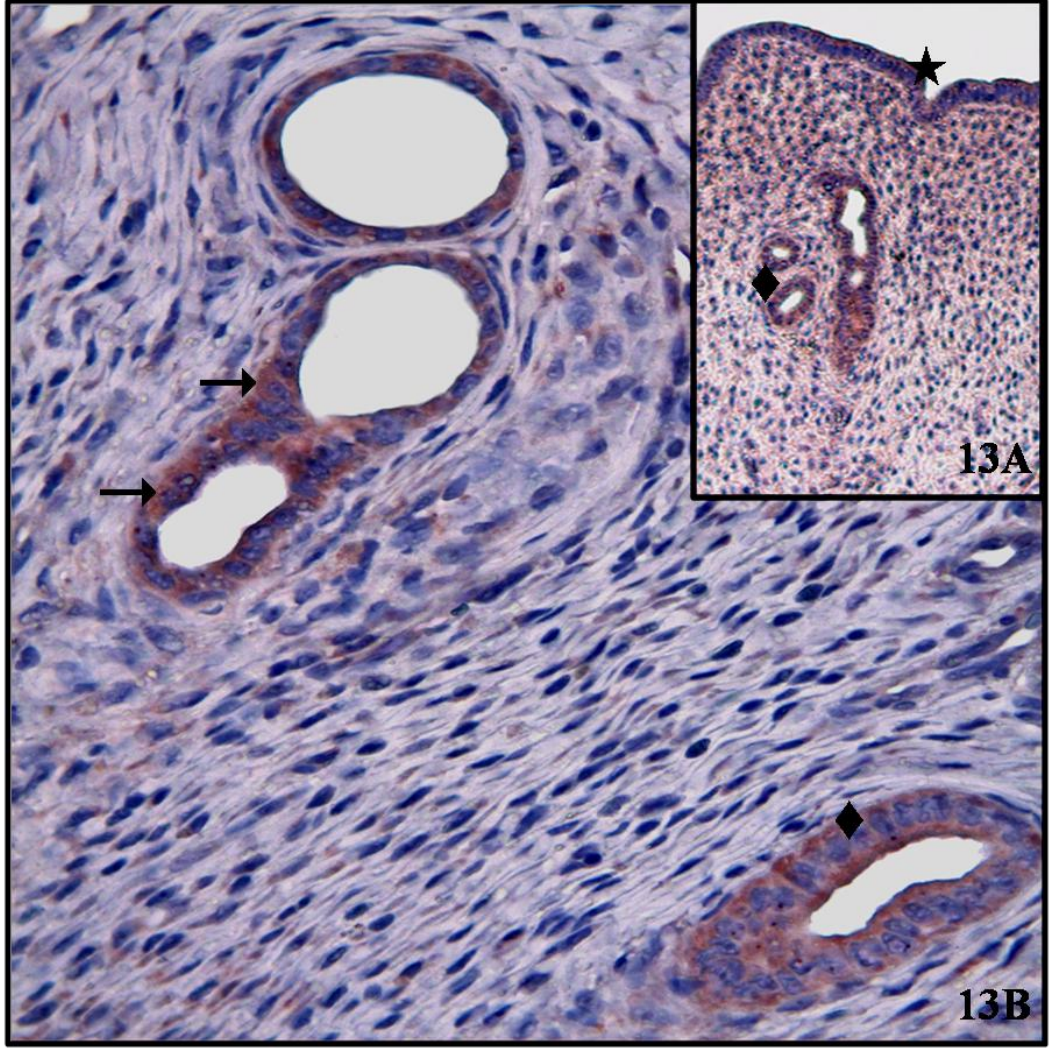
Resim 10A, B: Kaspaz-3 boyaması yapılan Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) kuvvetli-orta dereceli tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



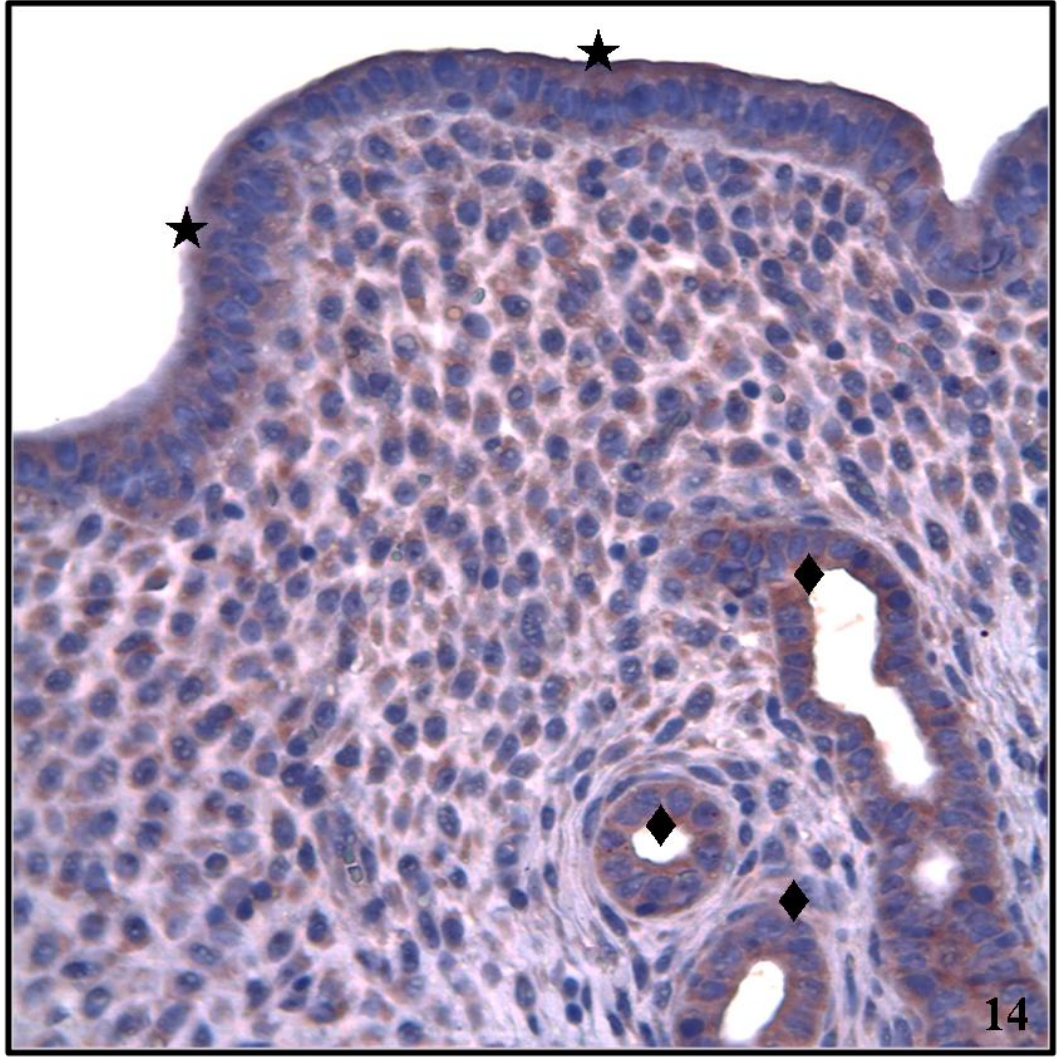
Resim 11A, B, C: Kaspaz-3 boyaması yapılan Siklofosamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) orta dereceli tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX100, CX400).



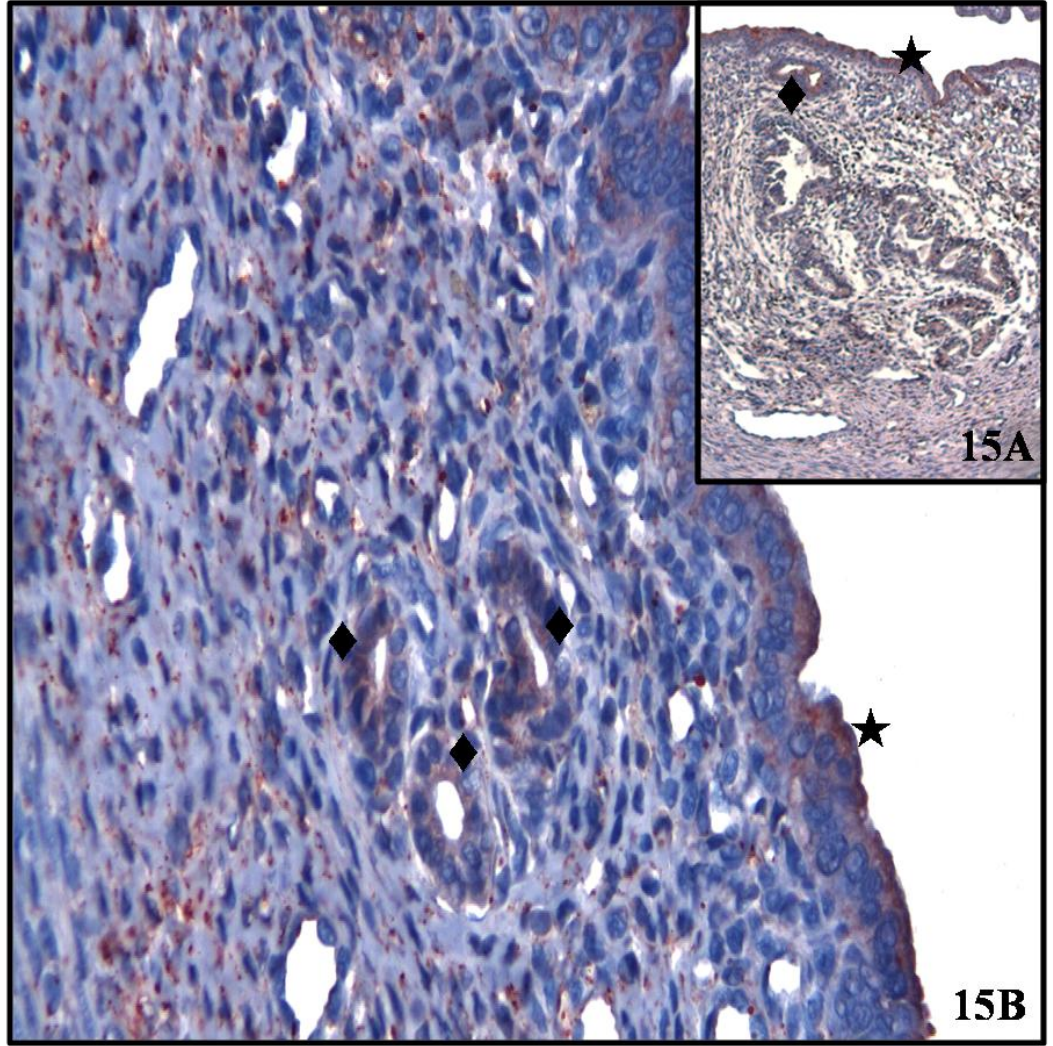
Resim 12A, B: Kaspaz-3 boyaması yapılan Siklofosamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) tutulumun oldukça zayıf olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



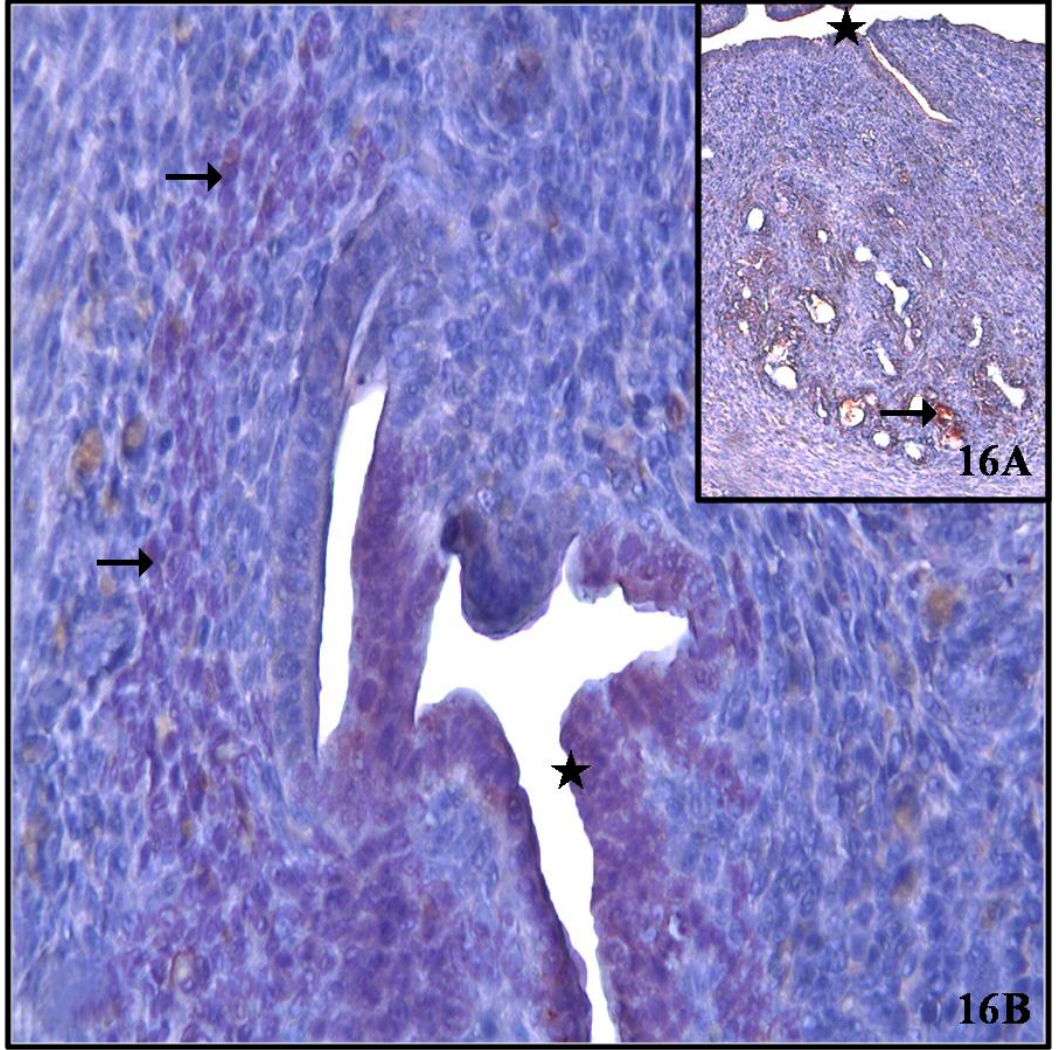
Resim 13A, 13B: VEGF boyaması yapılan kontrol grubuna ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) belirgin VEGF tutulumu görülüyor. Bazı hücrelerde kuvvetli tutulum dikkati çekiyor. Damar endotelinde tutulum orta-zayıf izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



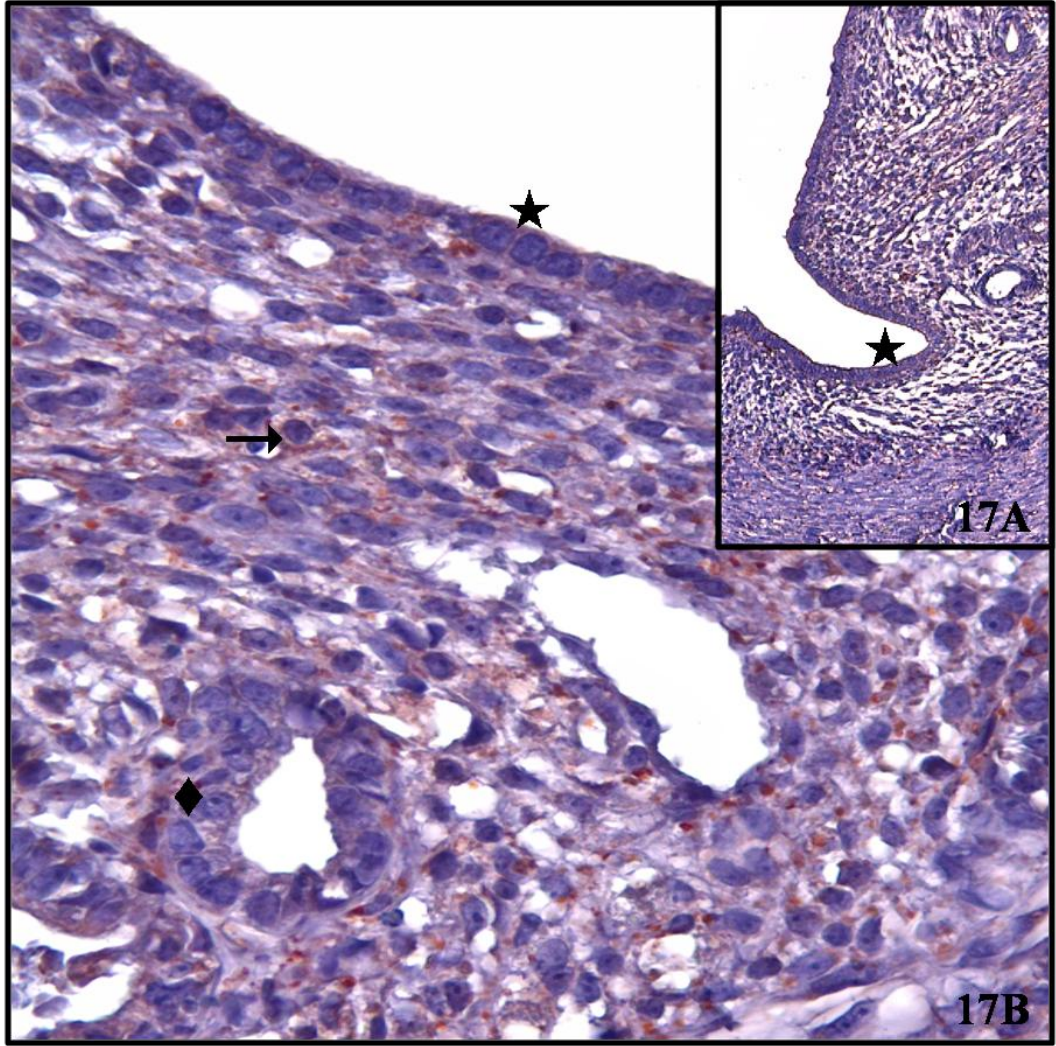
Resim 14: VEGF boyaması yapılan kontrol grubuna ait uterus dokusunda; epitel (★) ve bez epitelinde (◆) belirgin VEGF tutulumu görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



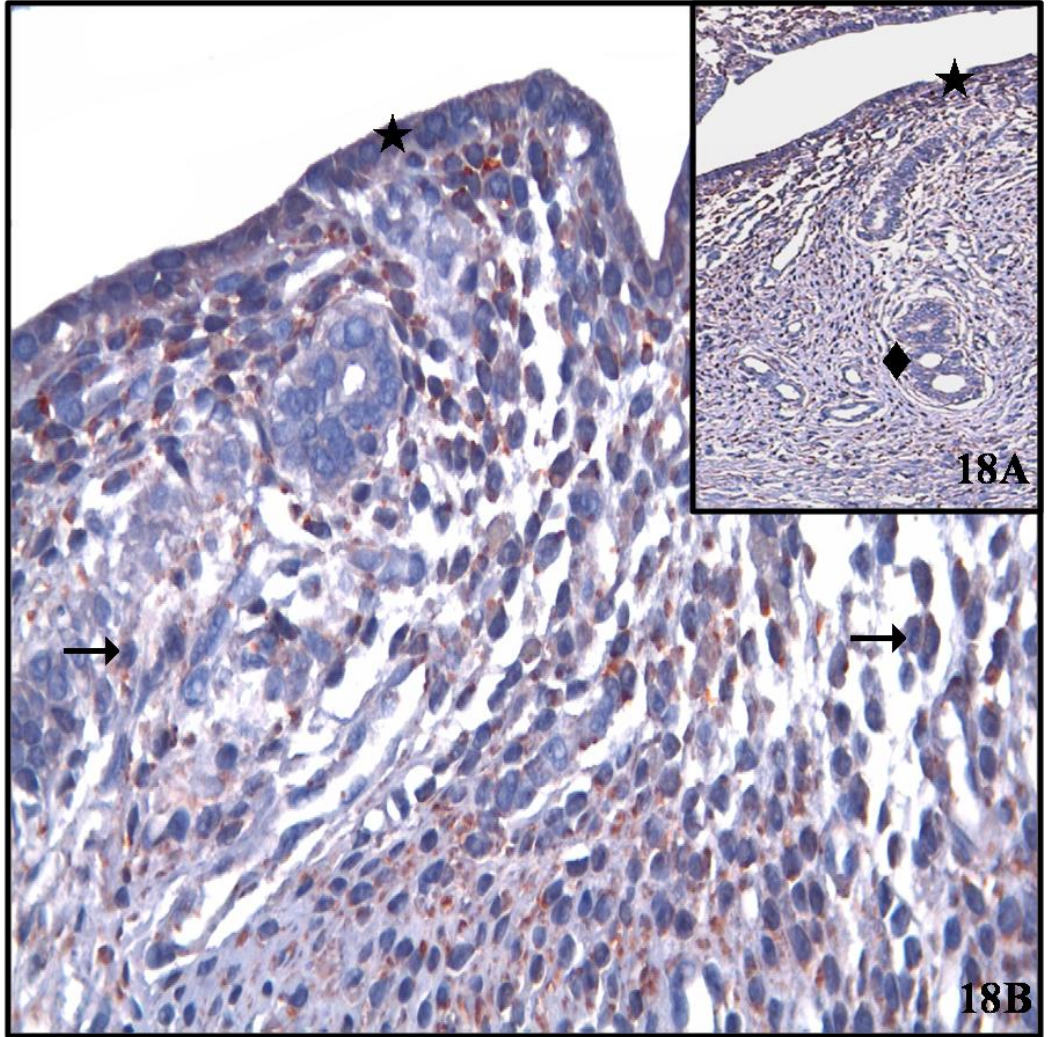
Resim 15A, B: VEGF boyaması yapılan kanser grubuna ait uterus dokusunda; kontrol grubuna eşdeğer şekilde epitel (★) ve bez epitelinde (◆) belirgin VEGF tutulumu izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



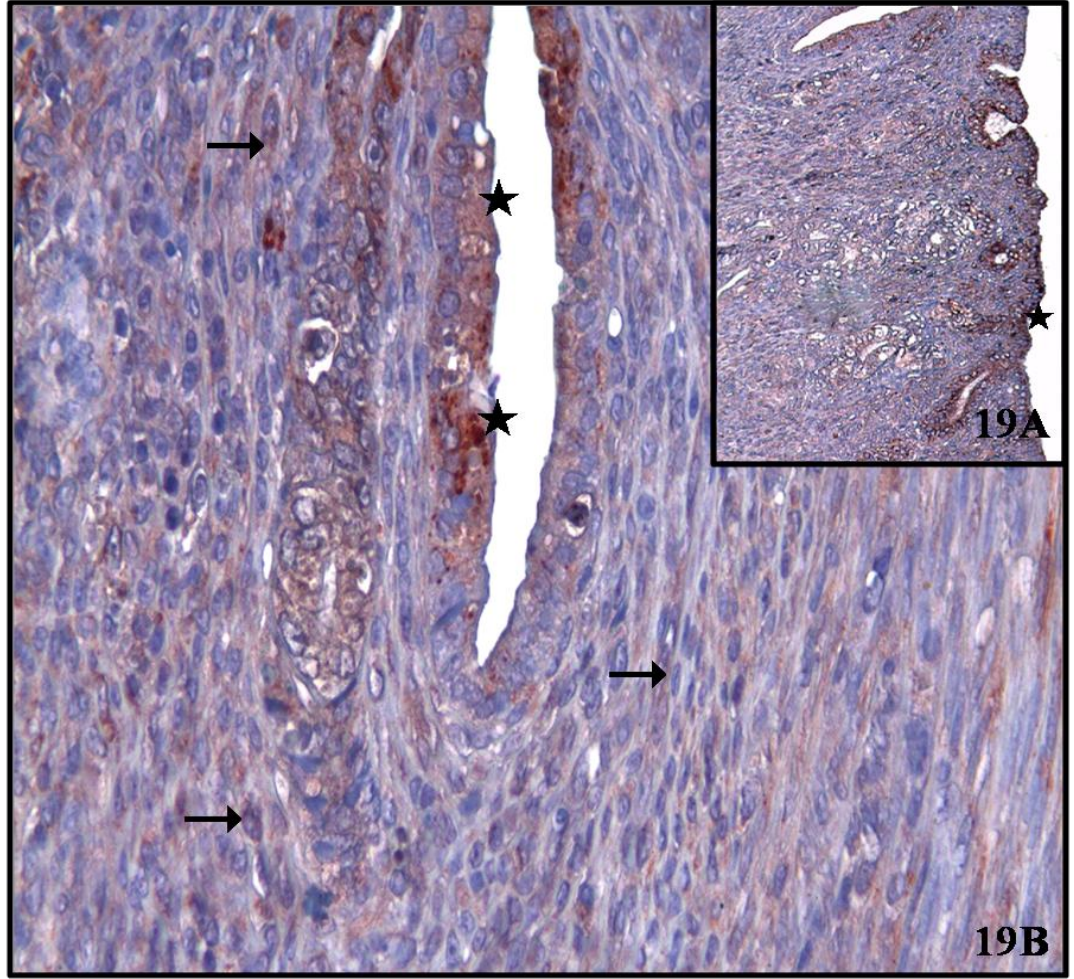
Resim 16A, B: VEGF boyaması yapılan Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel hücrelerinde (★) ve bez epitelinde (◆) tutulumun ortadan kuvvetliye değiştiği izleniyor. Lamina propriyada bazı hücrelerde (→) yaygın tutulumun varlığı görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



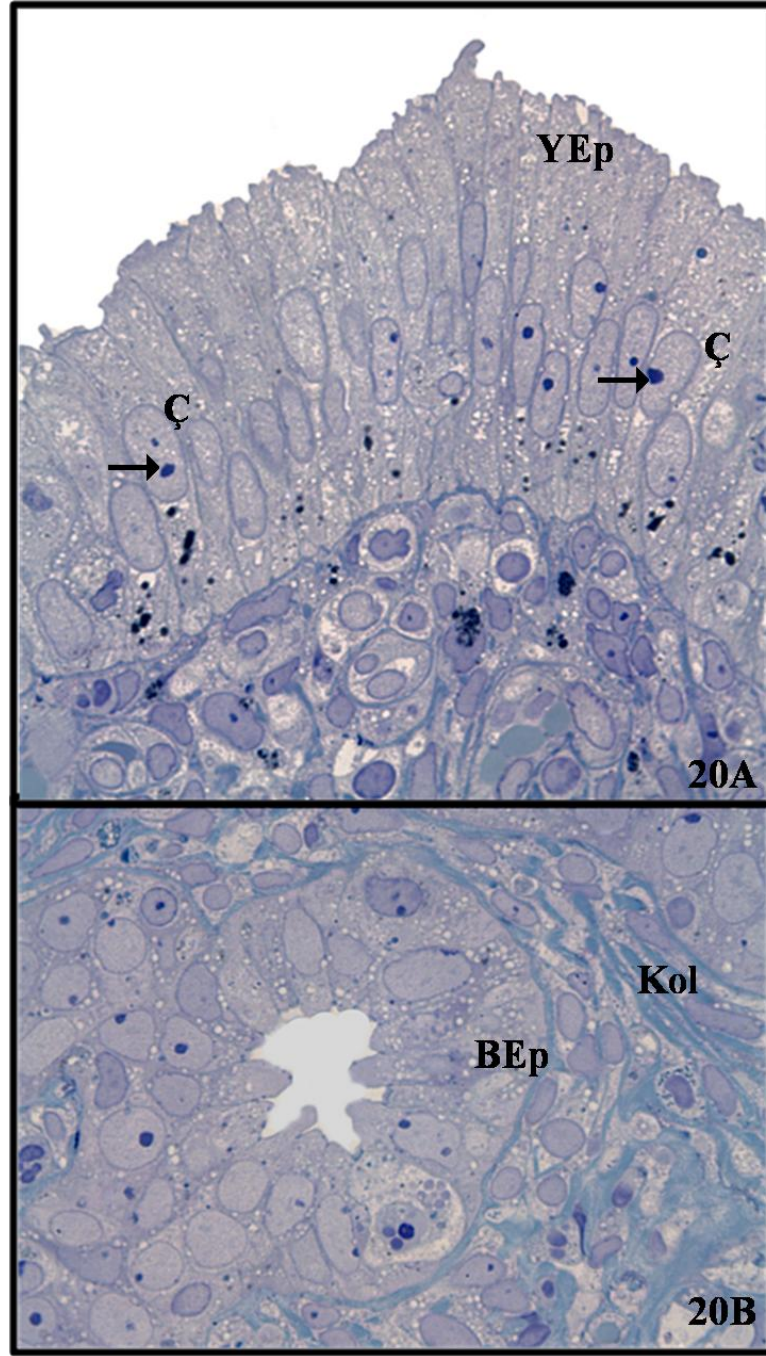
Resim 17A, B: VEGF boyaması yapılan Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel hücrelerinde (★) ve bez epitelinde (◆) orta dereceli VEGF tutulumu (→) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



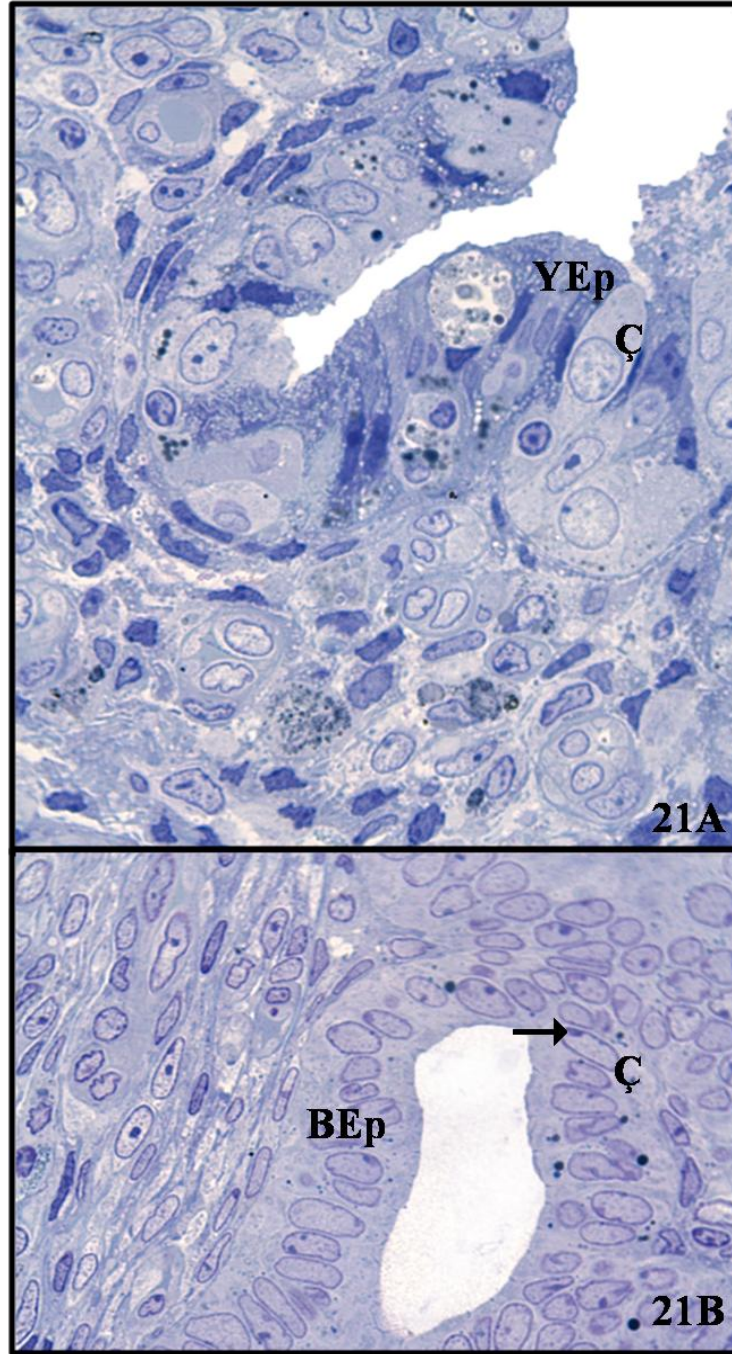
Resim 18A, B: VEGF boyaması yapılan Siklofosamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel hücrelerinde (★) ve bez epitelinde (◆) orta dereceli VEGF tutulumu (→) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



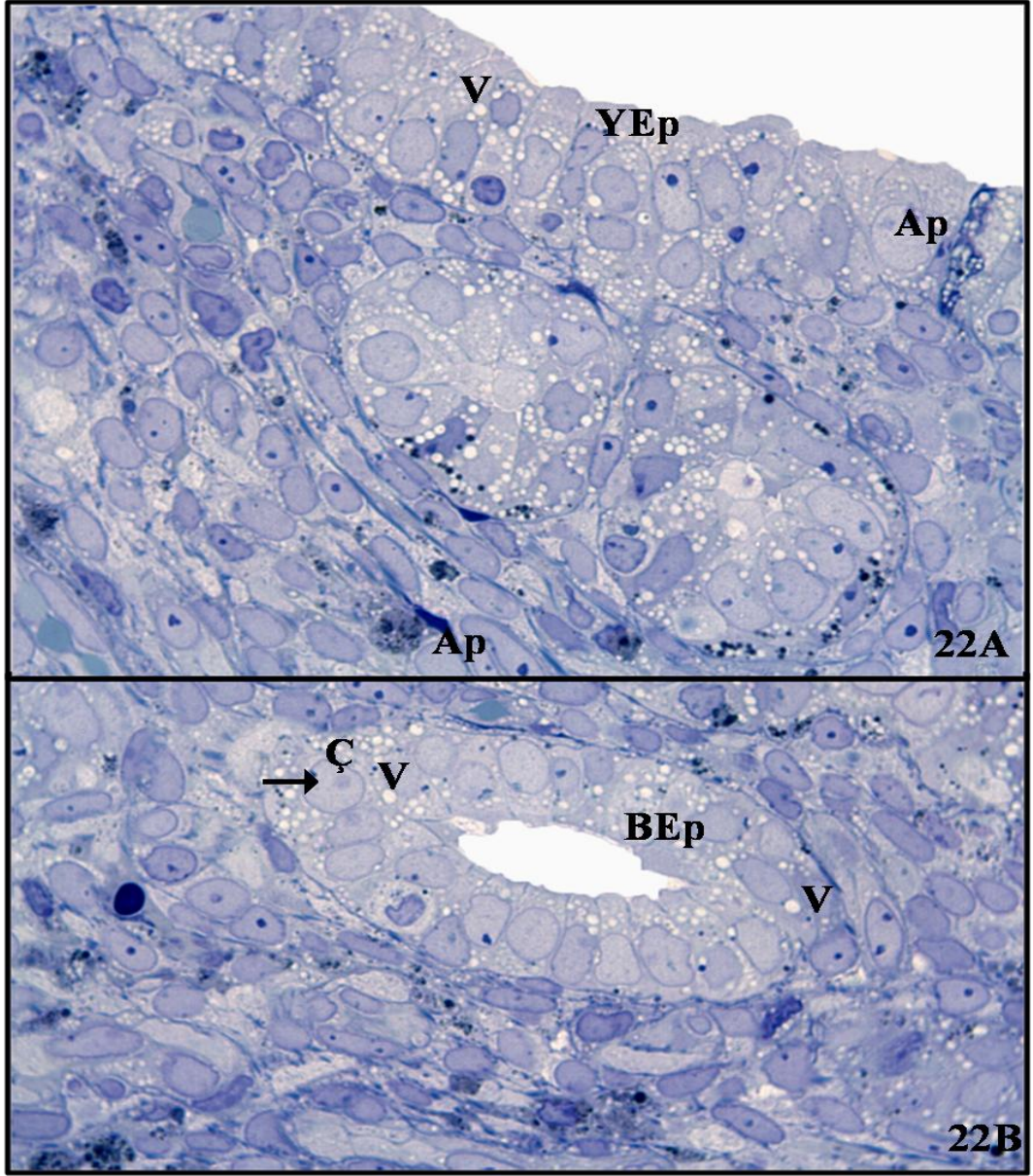
Resim 19A, B: VEGF boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusunda; epitel hücrelerinde (★) ve bez epitelinde orta dereceli VEGF tutulumu (→) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



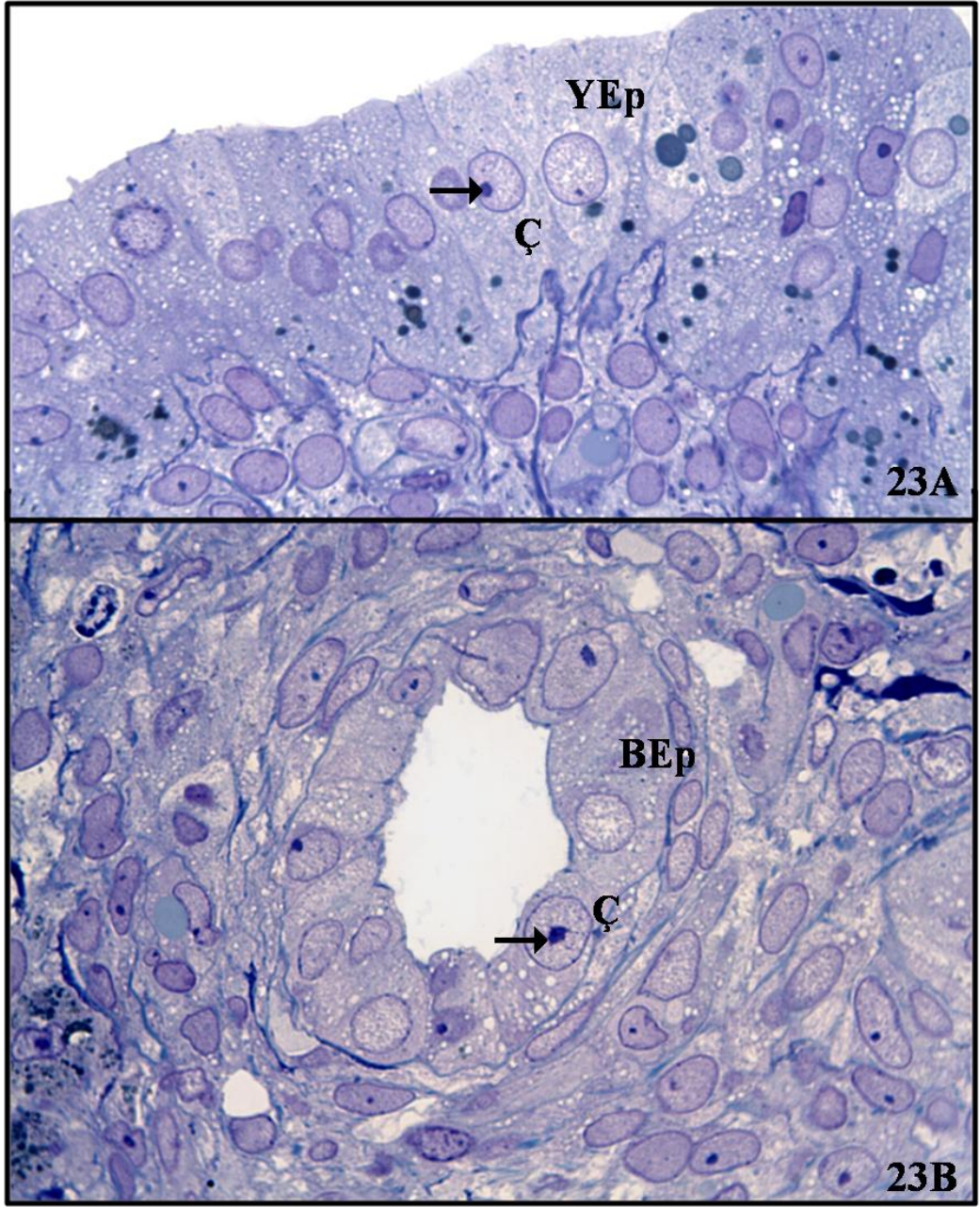
Resim 20A, B: Kontrol grubuna ait uterus dokusu yarı ince kesitlerinde; endometriyum yüzey epitelinin tek sıralı prizmatik yapısı belirgin olarak görülüyor. (YE): Yüzey epiteli, (BE): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Kol): Kollagen (Toluidin blue AX1000, BX1000).



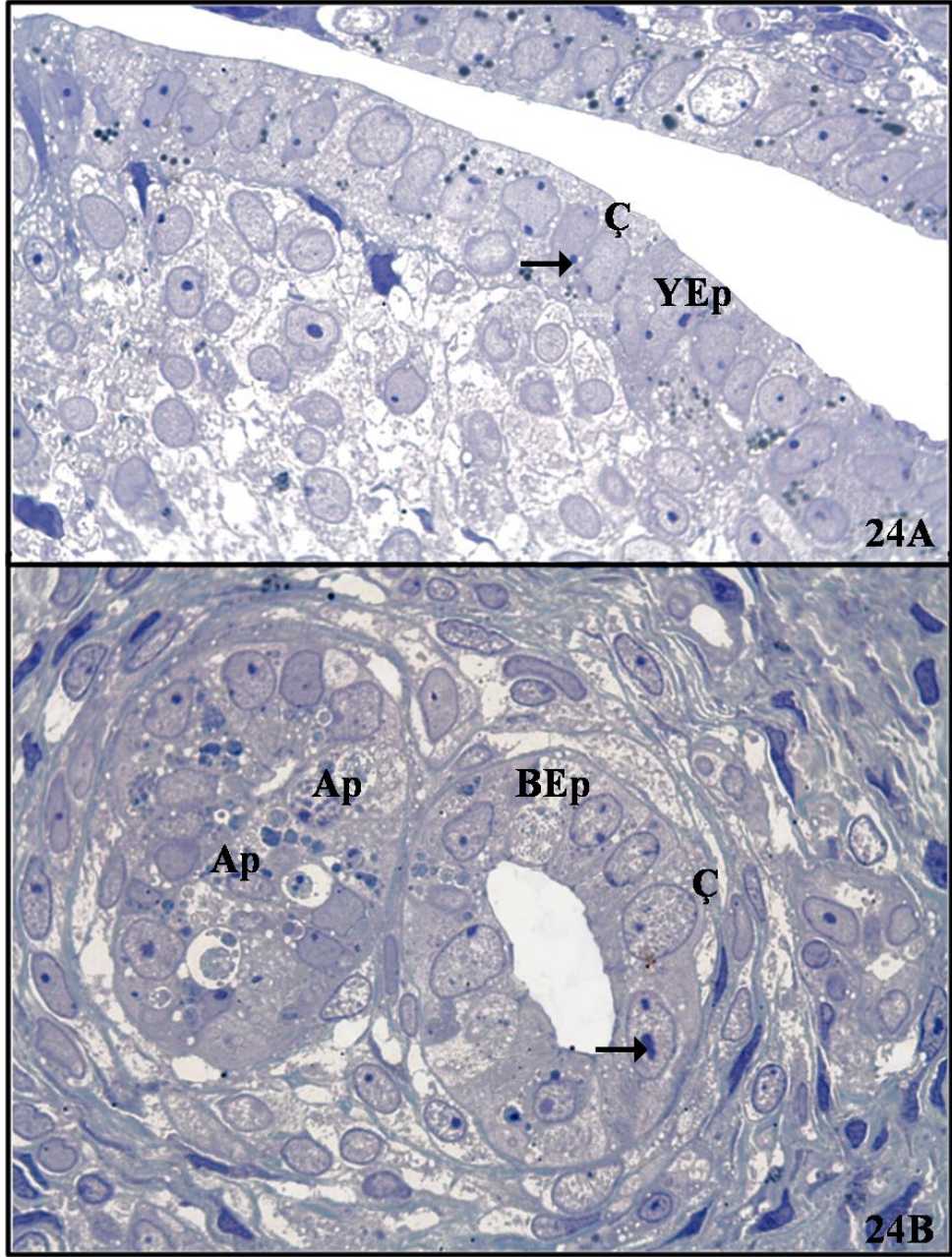
Resim 21A, B: Kanser grubuna ait uterus dokusu yarı ince kesitlerinde; epitelin boyunun kontrole karşı daha alçak olduğu ve üst yüz hücre zarının düz olduğu izleniyor. (YE): Yüzey epiteli, (BE): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik (Toluidin blue AX1000, BX1000).



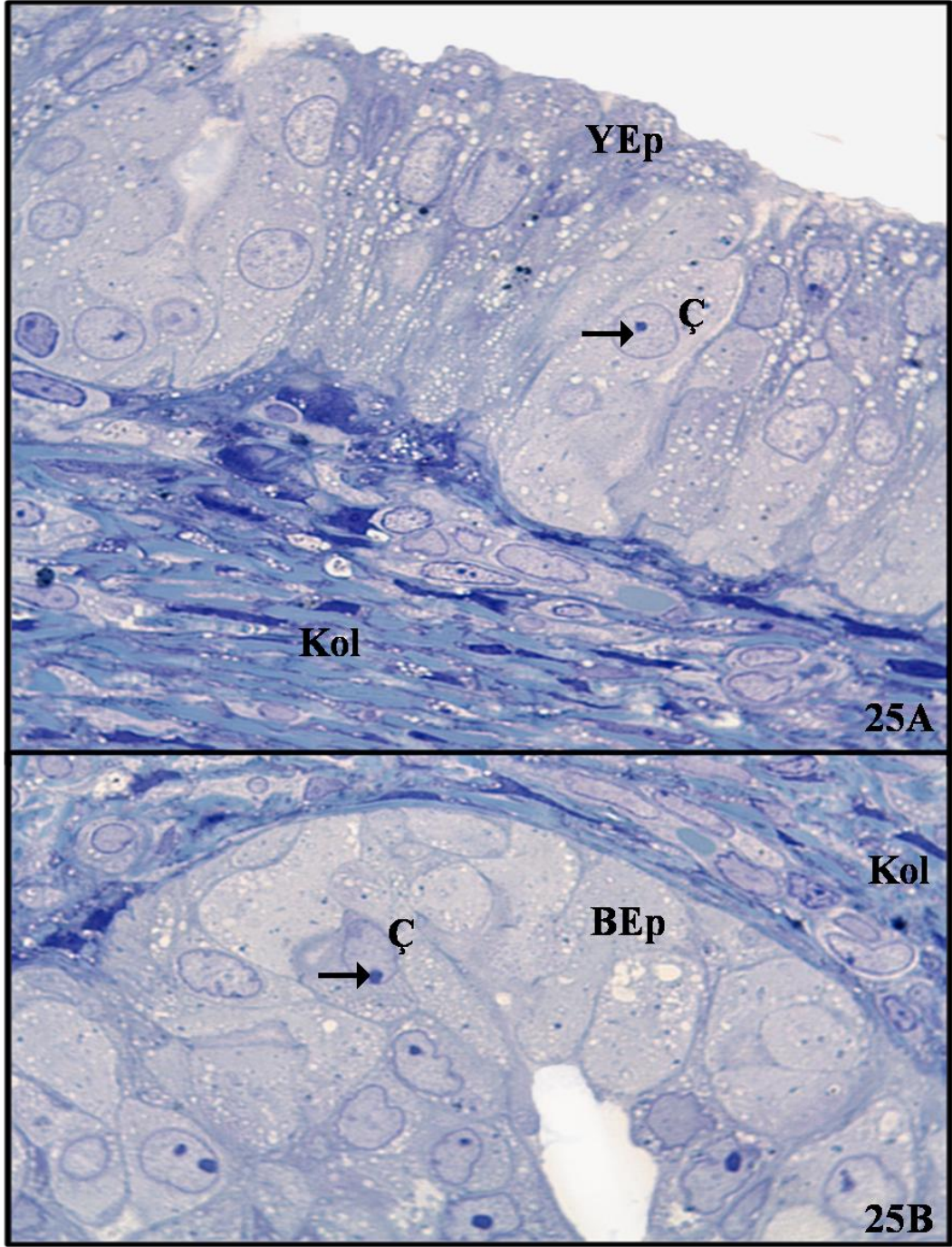
Resim 22A, B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesitlerinde; epitel ve bez epitel hücrelerindeki vakuolizasyon dikkati çekiyor. Epitel ve bez epitelinde apoptozise giden hücre görünümü ayırt ediliyor. (YE): Yüzey epitel, (BE): Bez epitel, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (V): Vakuol, (Ap): Apoptotik görünüm (Toluidin blue AX1000, BX1000).



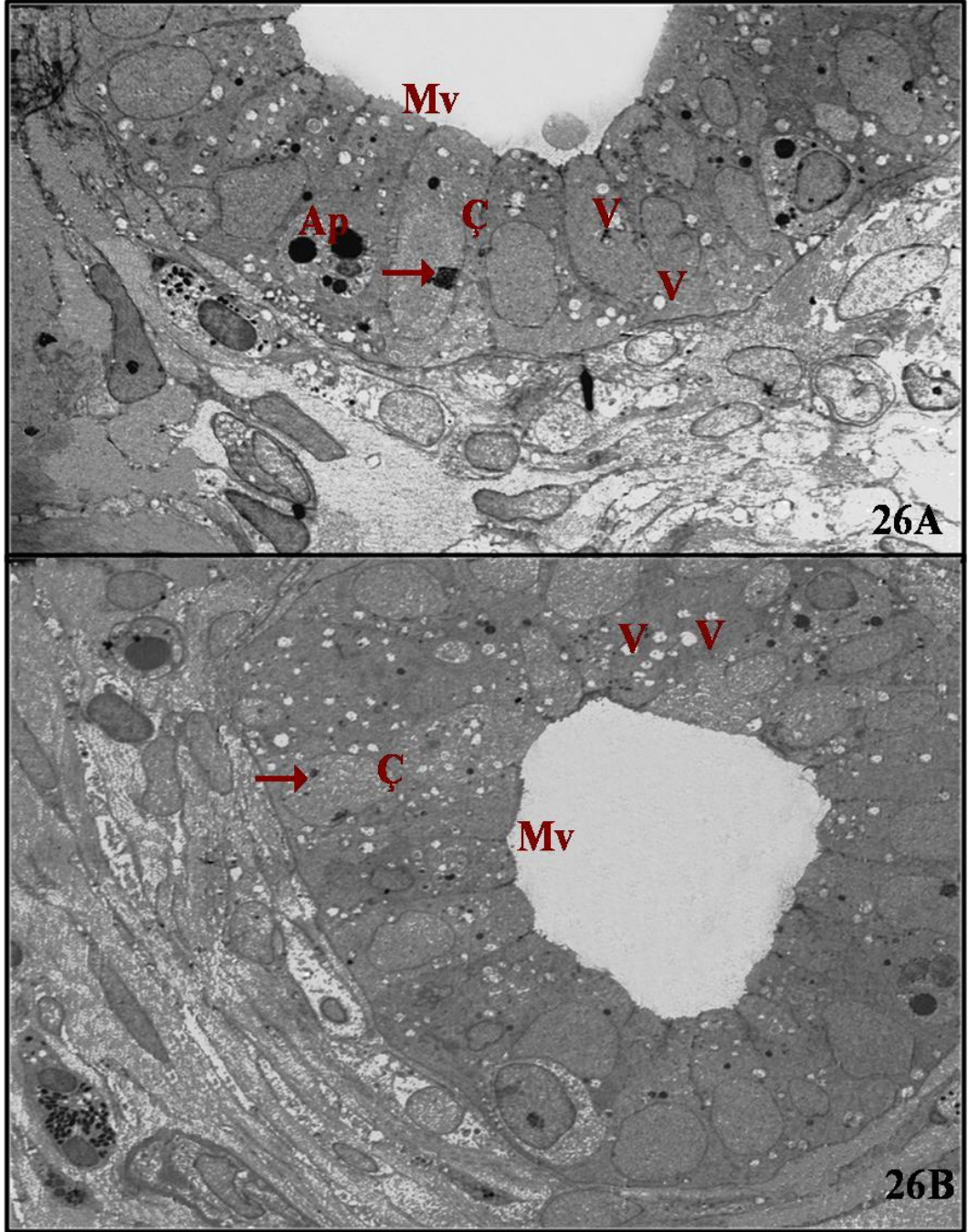
Resim 23A, B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesitlerinde normale yakın görünüm ayırt ediliyor. (YE_p): Yüzey epiteli, (BE_p): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik (Toluidin blue AX1000, BX1000).



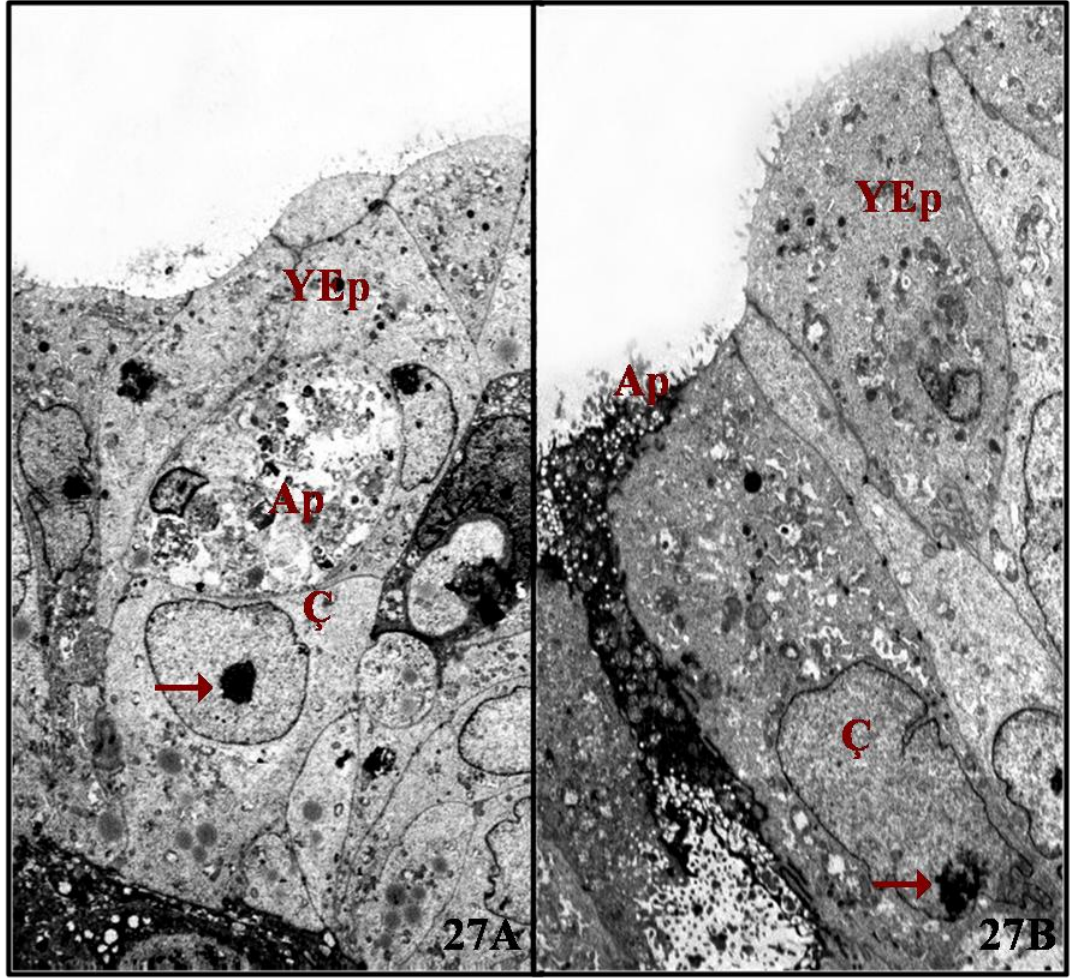
Resim 24A, B: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesitlerinde; normale yakın görünüm ayırt edilmekle birlikte yer yer izlenen apoptotik yapılar görülüyor. (YE): Yüzey epiteli, (BE): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Ap): Apoptotik görünüm (Toluidin blue AX1000, BX1000).



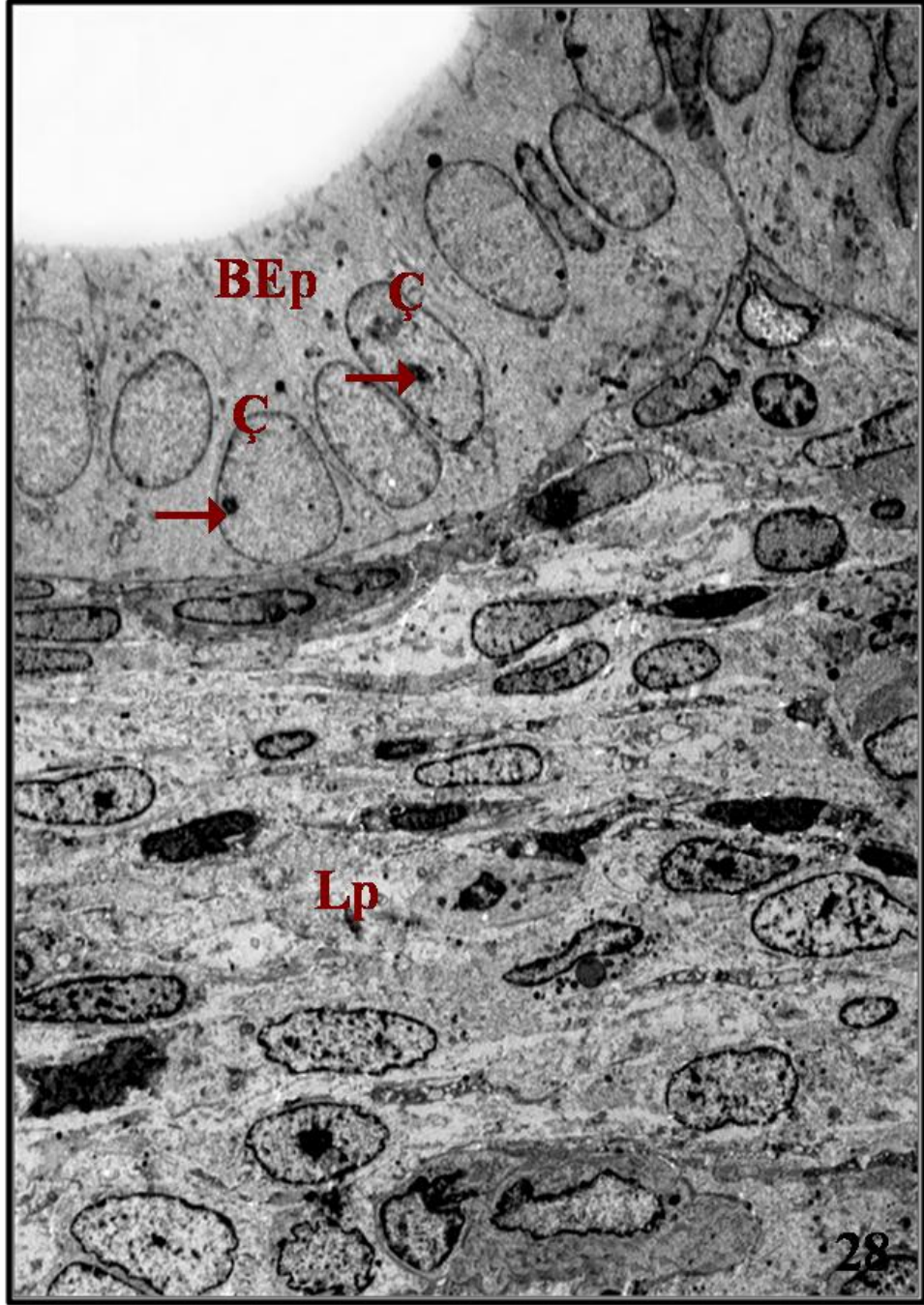
Resim 25A, B: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusu yarı ince kesitlerinde yapının normale yakın olduğu görülüyor. (YEp): Yüzey epiteli, (BEp): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Kol): Kollagen, (Toluidin blue AX1000, BX1000).



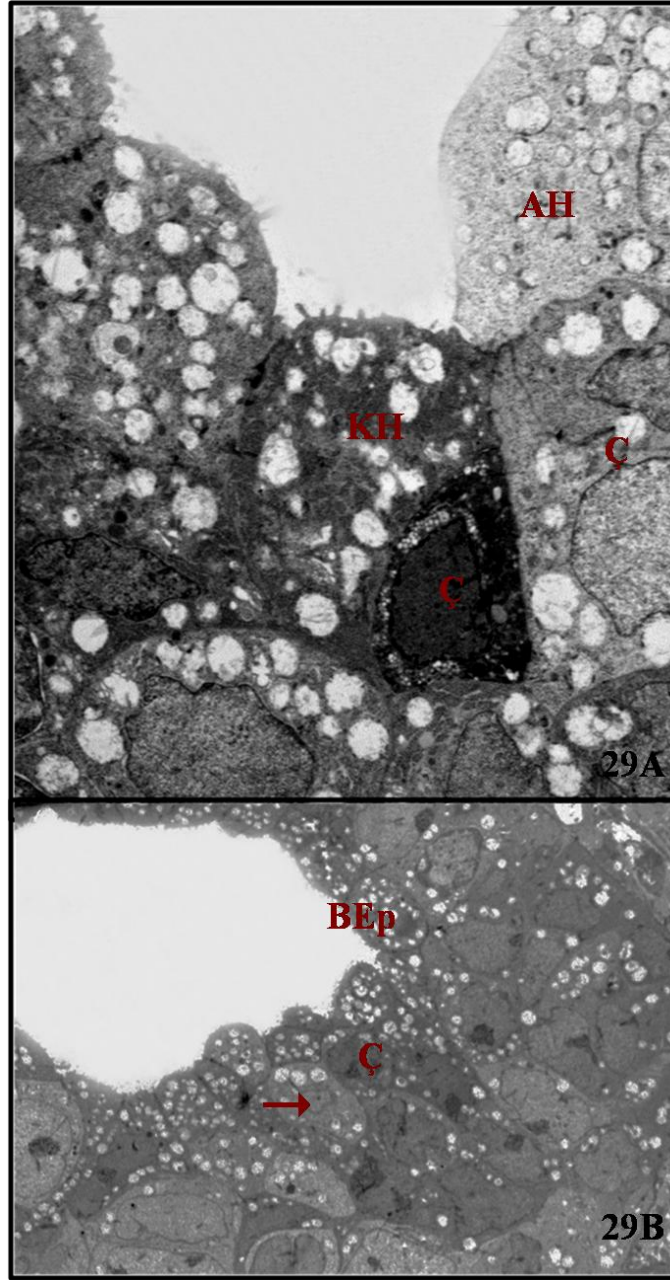
Resim 26A, B: Kontrol grubuna ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; normal görünümdeki dokuda apoptotik cisimlerin varlığı izleniyor. (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (V): Vakuol, (Ap): Apoptotik görünüm (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4240, BX2900)



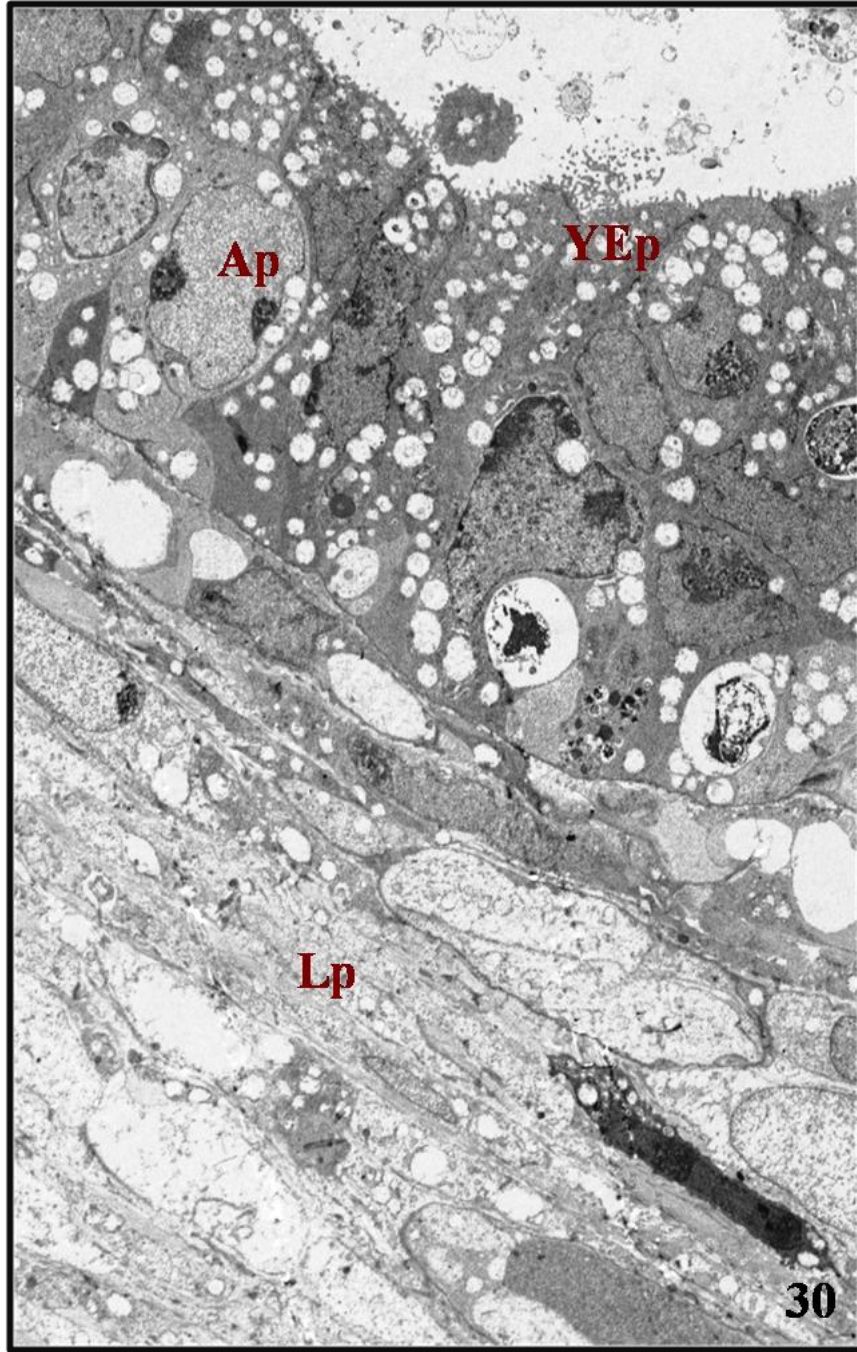
Resim 27A, B: Kanser grubuna ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; apoptotik cisimler, apoptozisin çeşitli aşamalarında olan hücresel görünüm dikkati çekiyor. (YEp): Yüzey epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Ap): Apoptotik görünüm (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4550, BX7490)



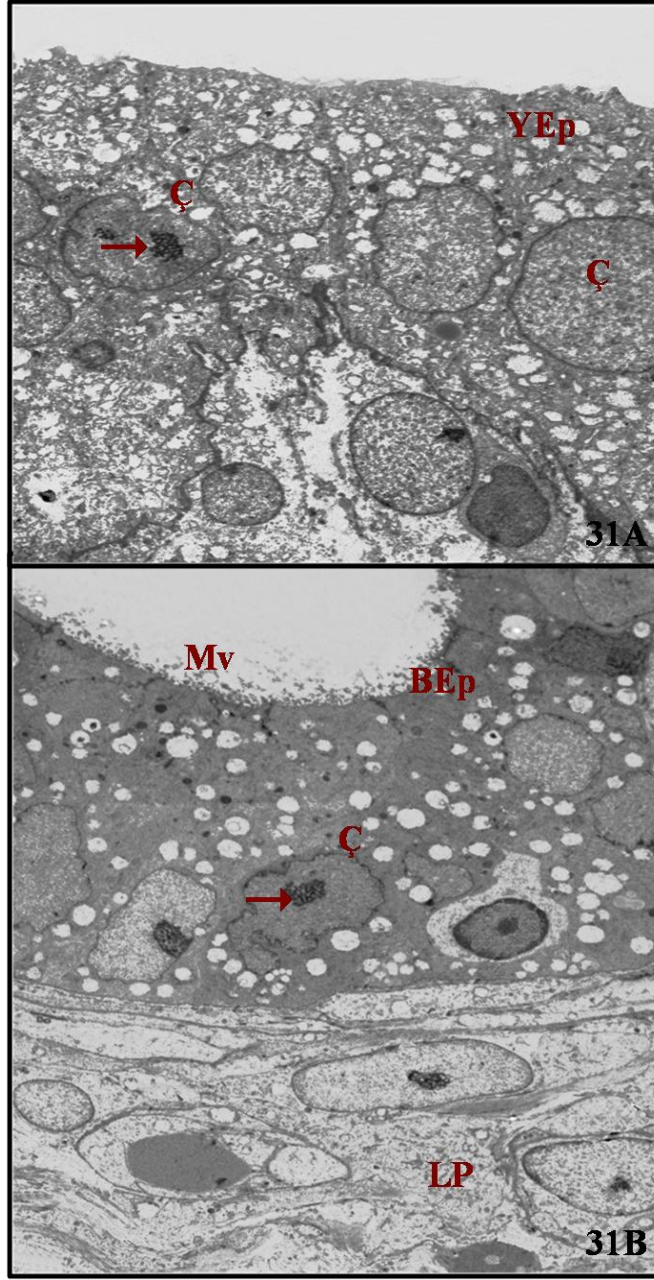
Resim 28: Kanser grubuna ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; lamina propriyanın normal yapıda olduğu görülüyor. (BEp): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Lp): Lamina propriya (Uranil asetat-Kurşun sitrat X4180)



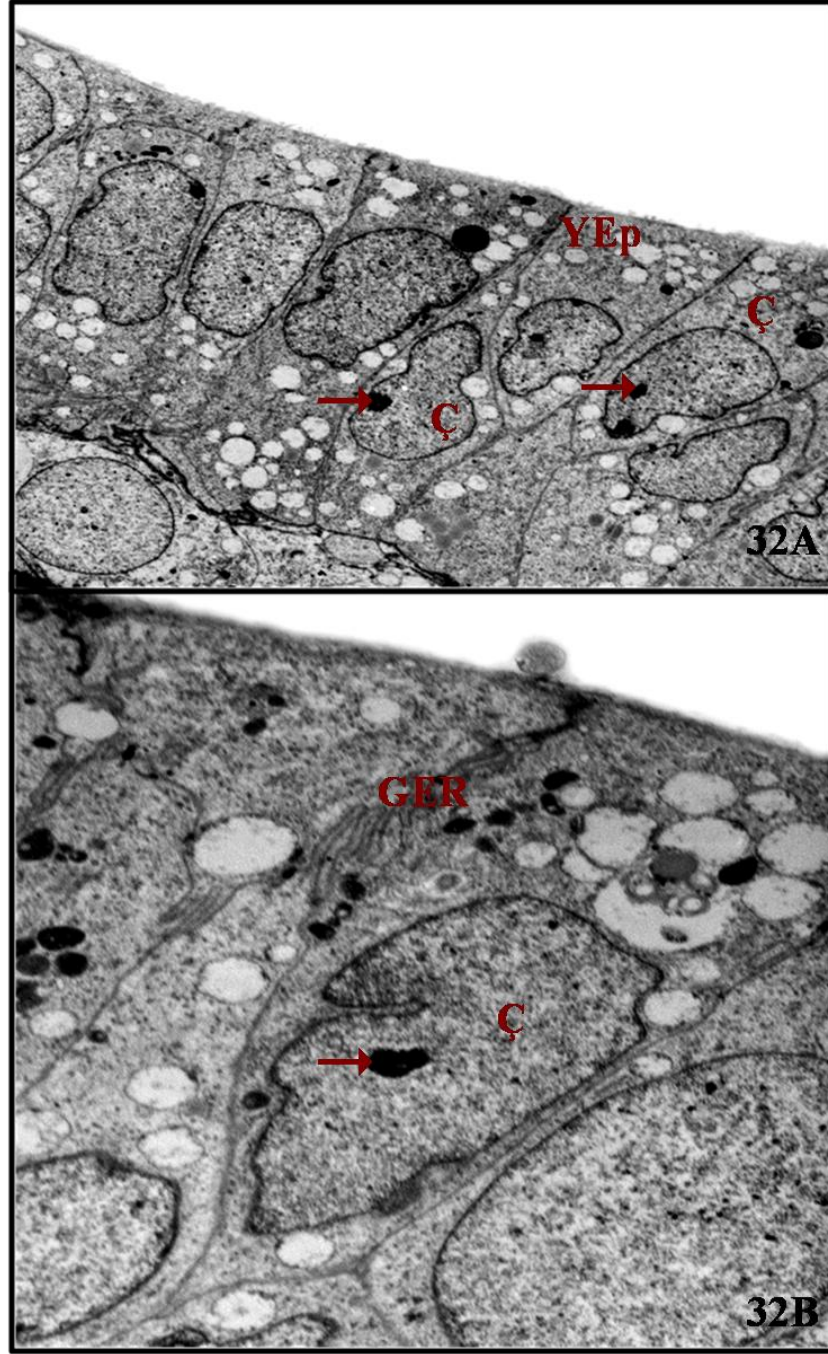
Resim 29A, B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; kanser grubunda görülen değişimlerin sürdüğü görülüyor. epitelde koyu ve açık hücrelerin varlığı izleniyor. (KH):Koyu hücreler, (AH): Açık hücreler, (BEp): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX1217, BX3220)



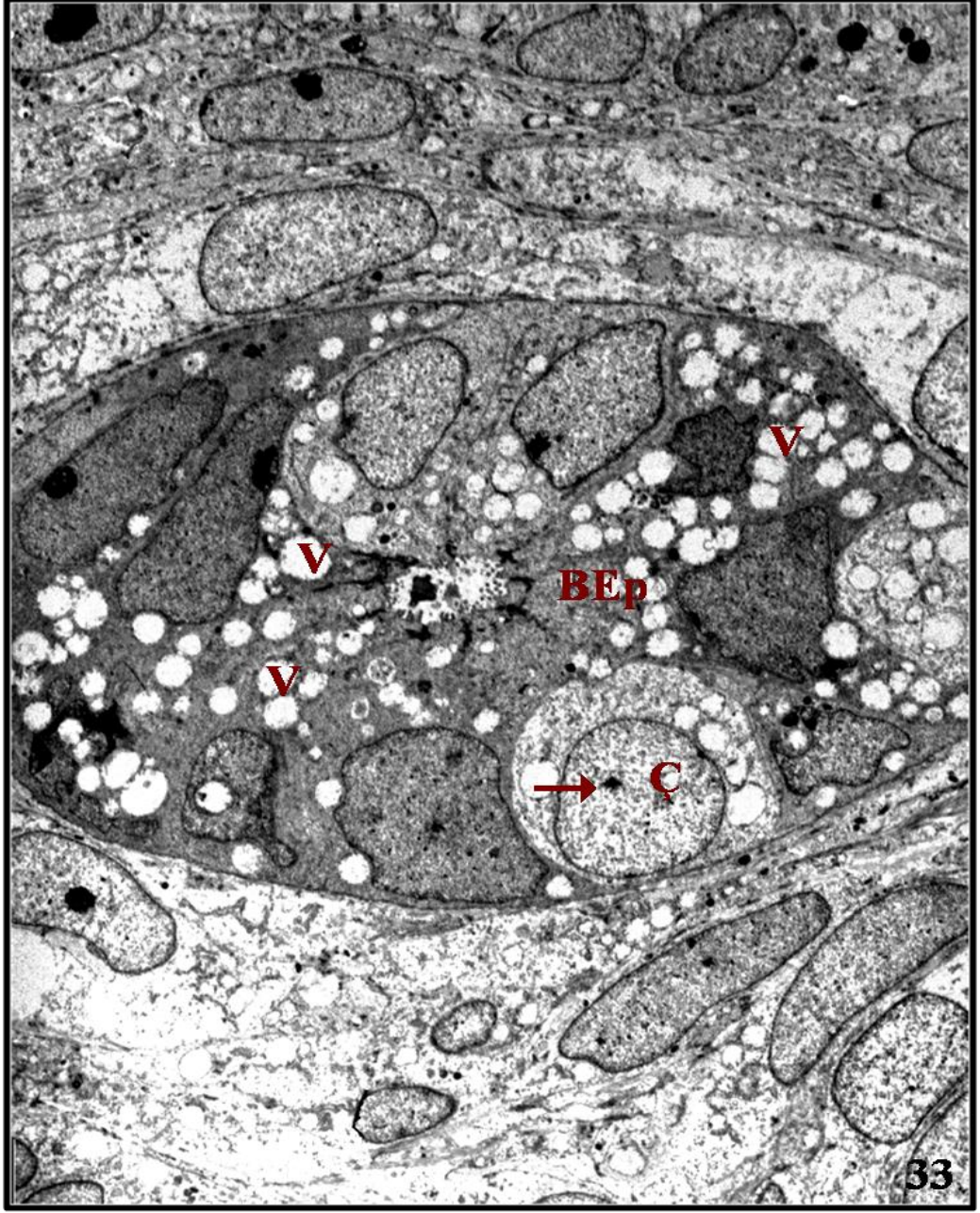
Resim 30: Siklofosfamid uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; apoptotik cisimlerin varlığı izleniyor. Lamina propriyadaki hücreler ayırt ediliyor. (YEp): Yüzey epiteli, (Ap): Apoptotik görünüm (Uranil asetat-Kurşun sitrat X5080).



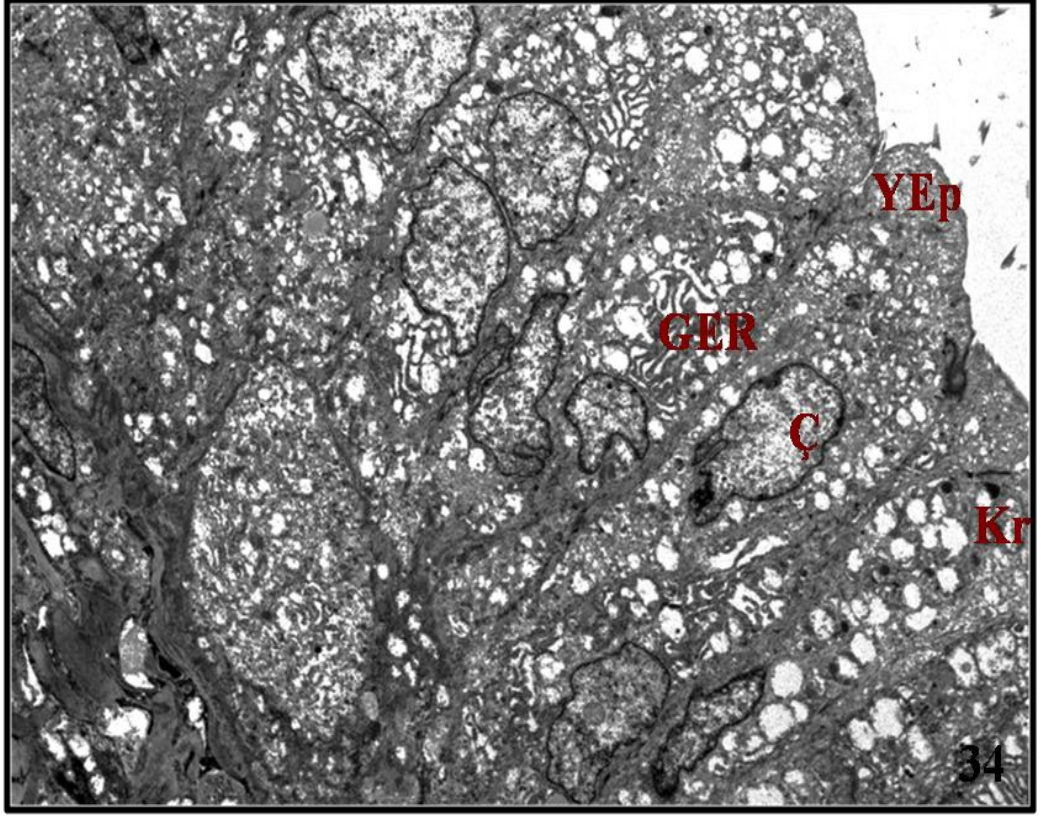
Resim 31A, B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; genel yapının siklofosfomid ve kanser grubuna benzediği görülüyor. (YE): Yüzey epiteli, (BE): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (Lp): Lamina propriya, (Mv): Mikrovillus (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX5840, BX5840).



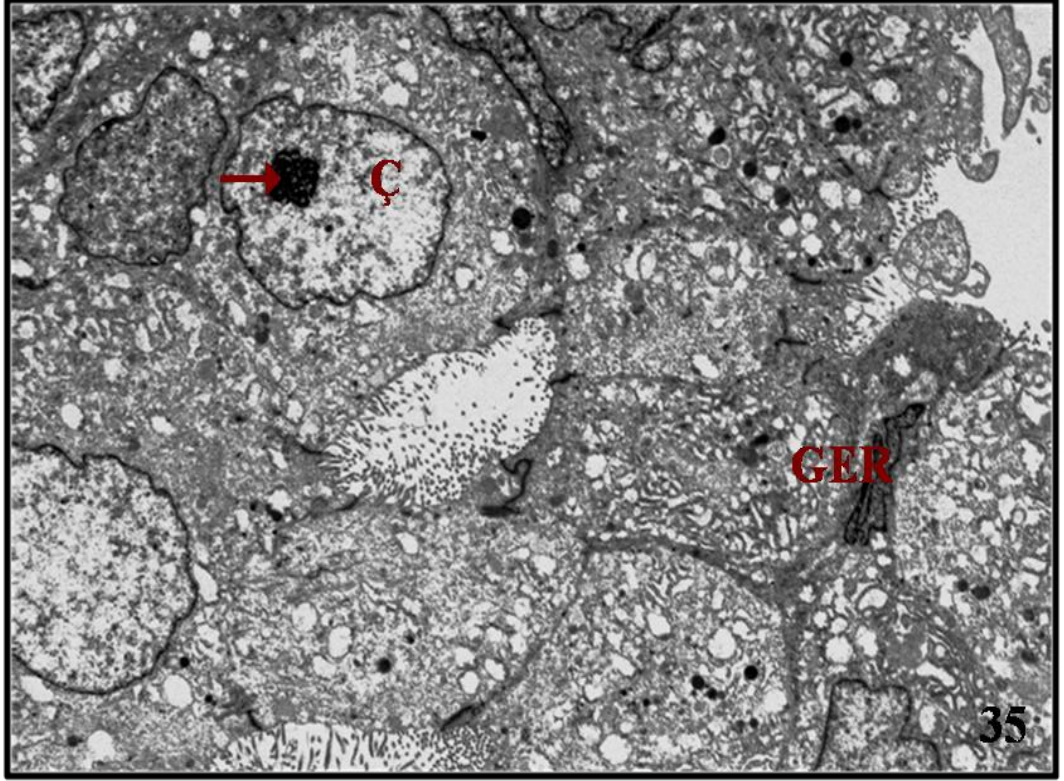
Resim 32A, B: Siklofosamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; epitelde yapının kontrol grubunda eşdeğer olduğu görülüyor. (YE): Yüzey epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (GER): Granüllü endoplazmik retikulum (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX6000, BX1628)



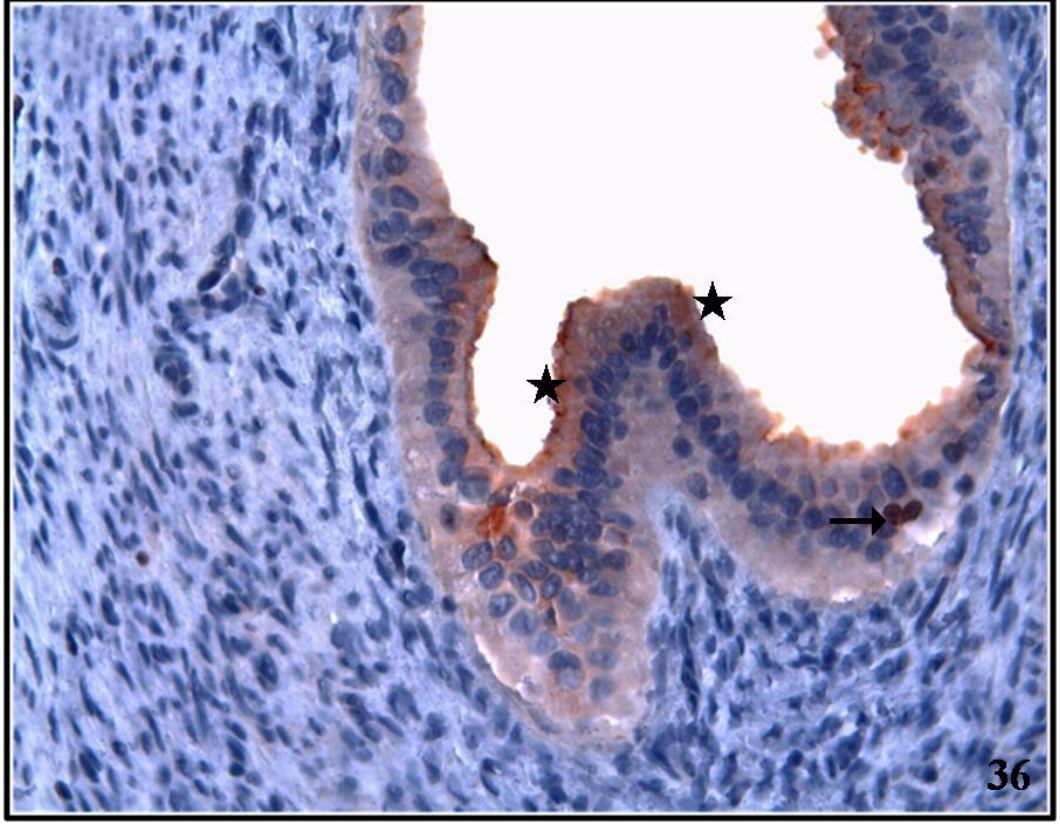
Resim 33: Siklofosamid ve E vitamini uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; bez epiteli ve Lamina propriyada yapının kontrol grubunda benzer olduğu görülüyor. (BEp): Bez epiteli, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik (Uranil asetat-Kurşun sitrat X5440)



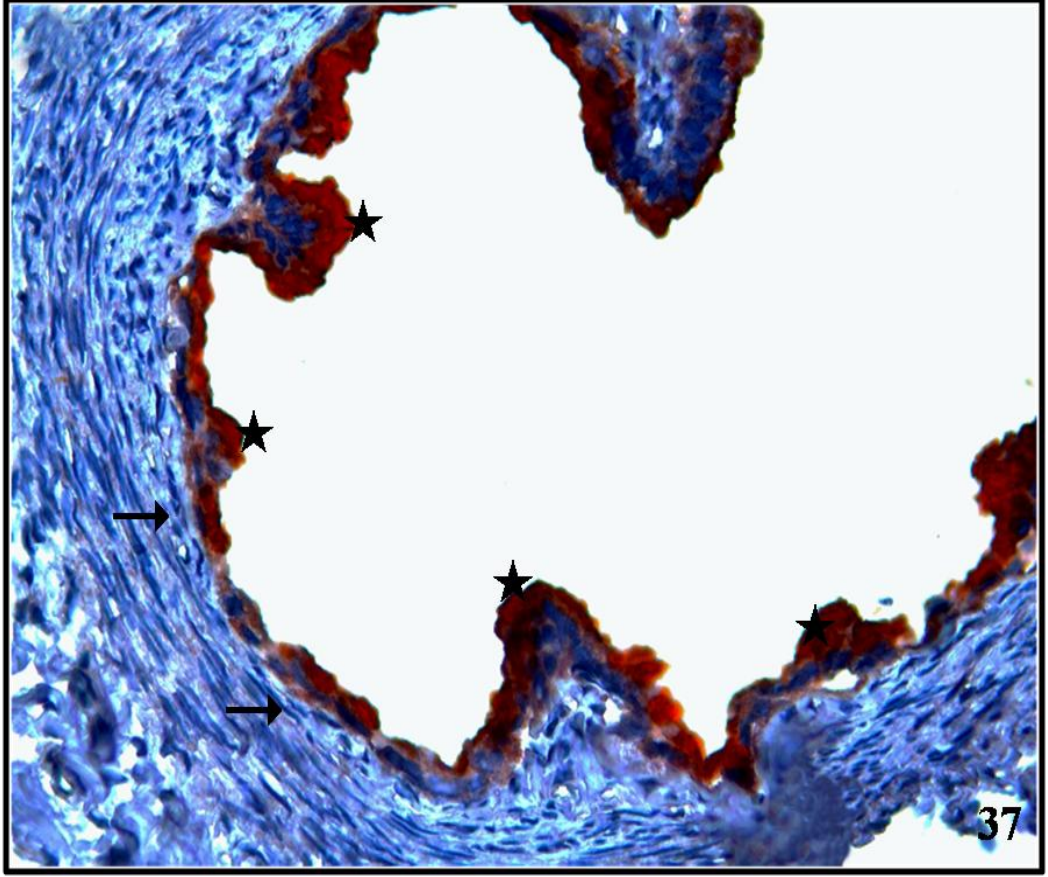
Resim 34: Siklofosamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; yapının bozulduğu ve aşırı genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum tubulusları görülüyor. (YEp): Yüzey epiteli, (Ç): Çekirdek, (GER): Granüllü endoplazmik retikulum (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX6840)



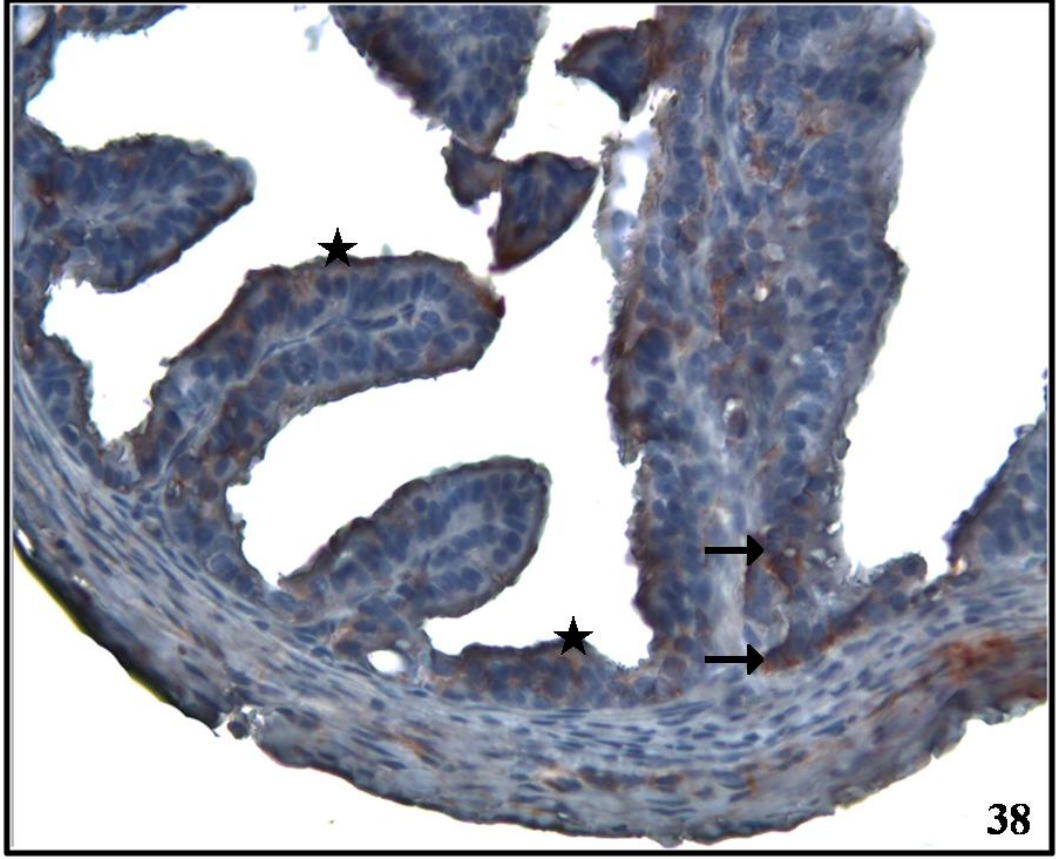
Resim 35: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait uterus dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; genel yapıda bozulma olduğu görülüyor. (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekçik, (GER): Granüllü endoplazmik retikulum (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7320)



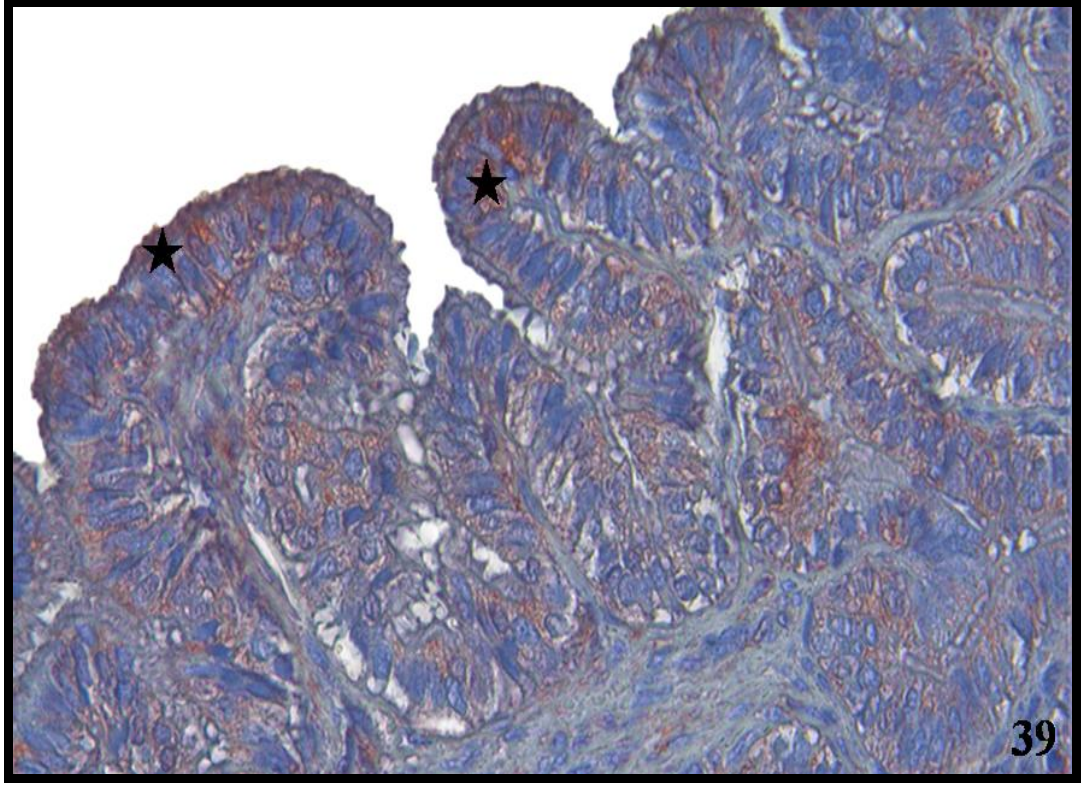
Resim 36: Ki-67 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) apikal yüzde kuvvetli olduğu izleniyor. Bazı hücre çekirdeklerinde kuvvetli (→) tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



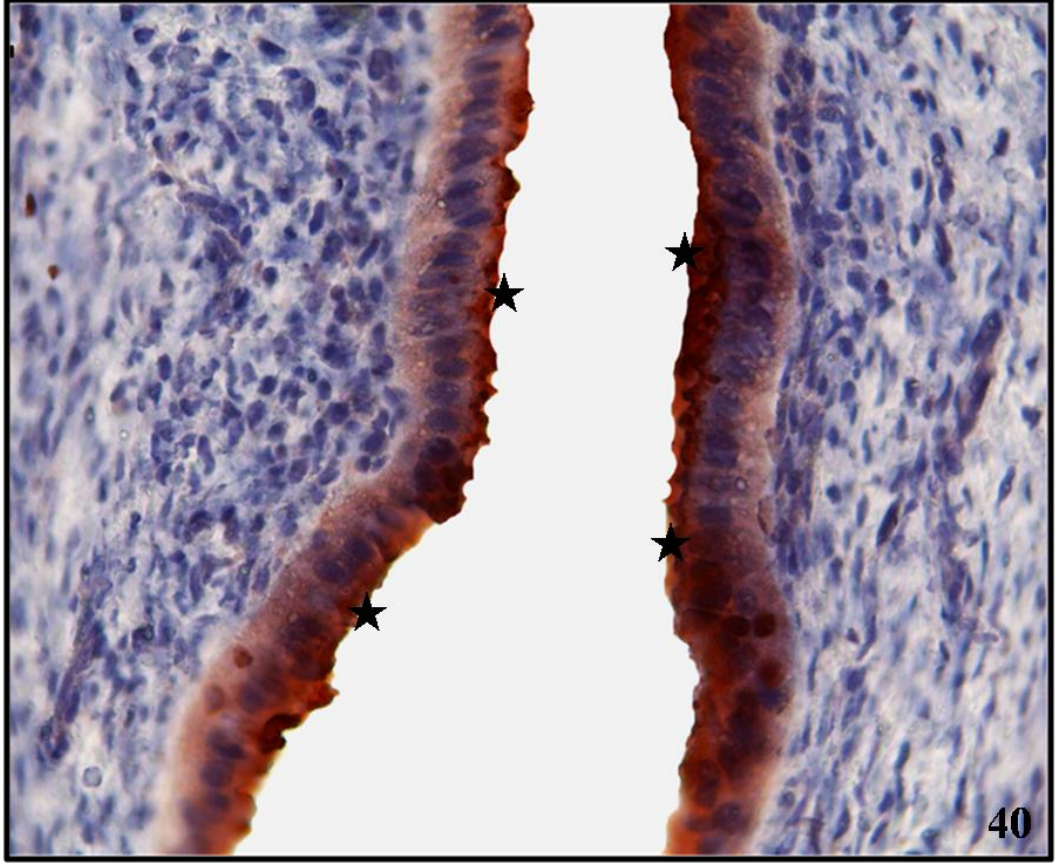
Resim 37: Ki-67 boyaması yapılan kanser grubuna ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) çekirdek ve sitoplazma düzeyinde oldukça yoğun olduğu izleniyor. Bağ dokuda bazı hücrelerde (→) orta-zayıf dereceli tutulum olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



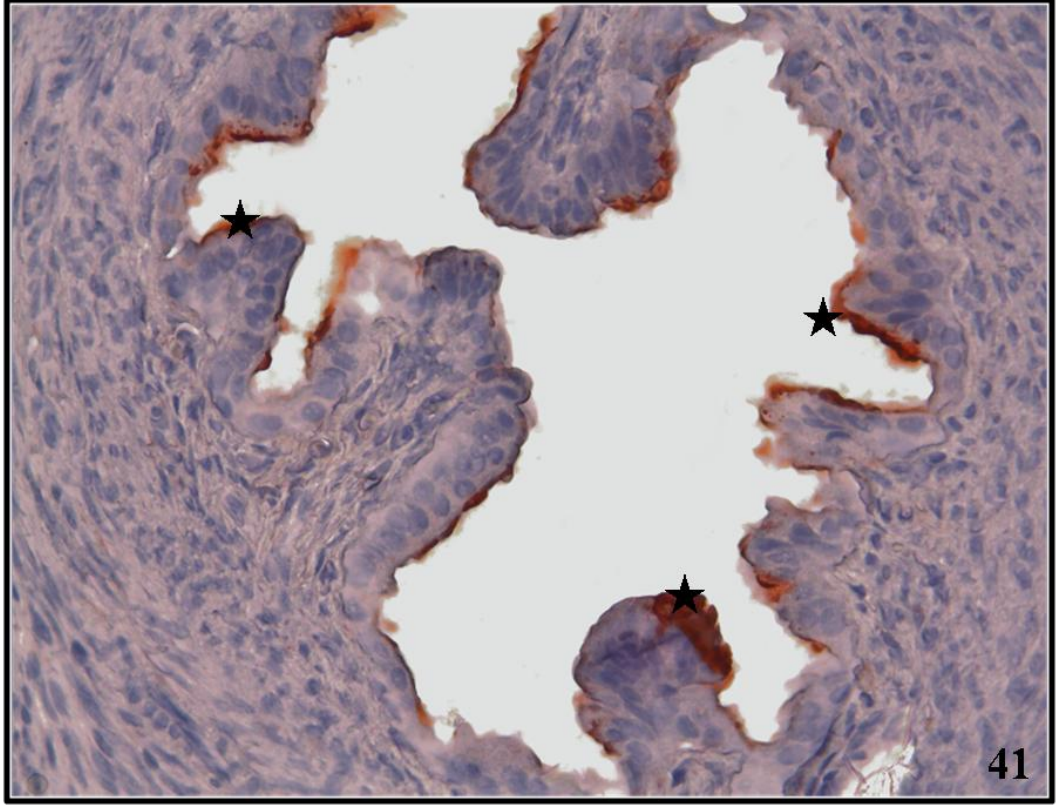
Resim 38: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) ve bazı hücrelerde (→) kontrole yakın olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



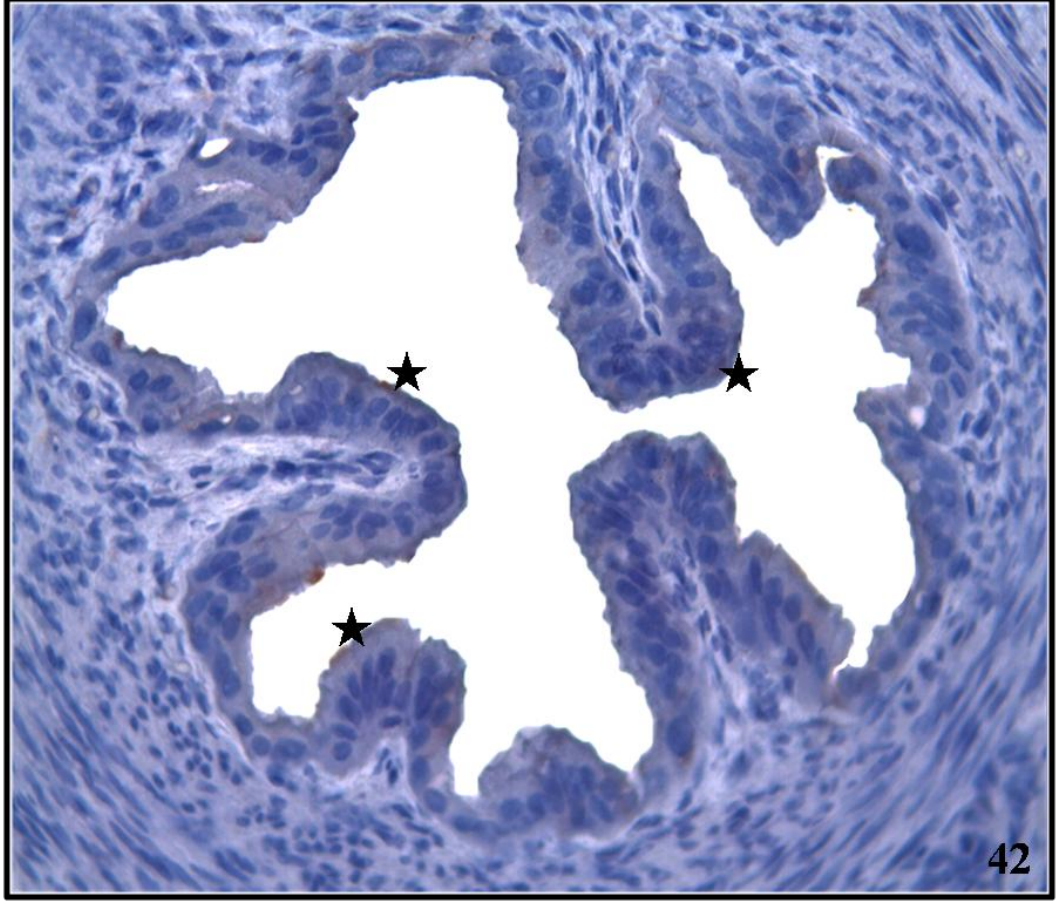
Resim 39: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (★) zayıftan ortaya değişen tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



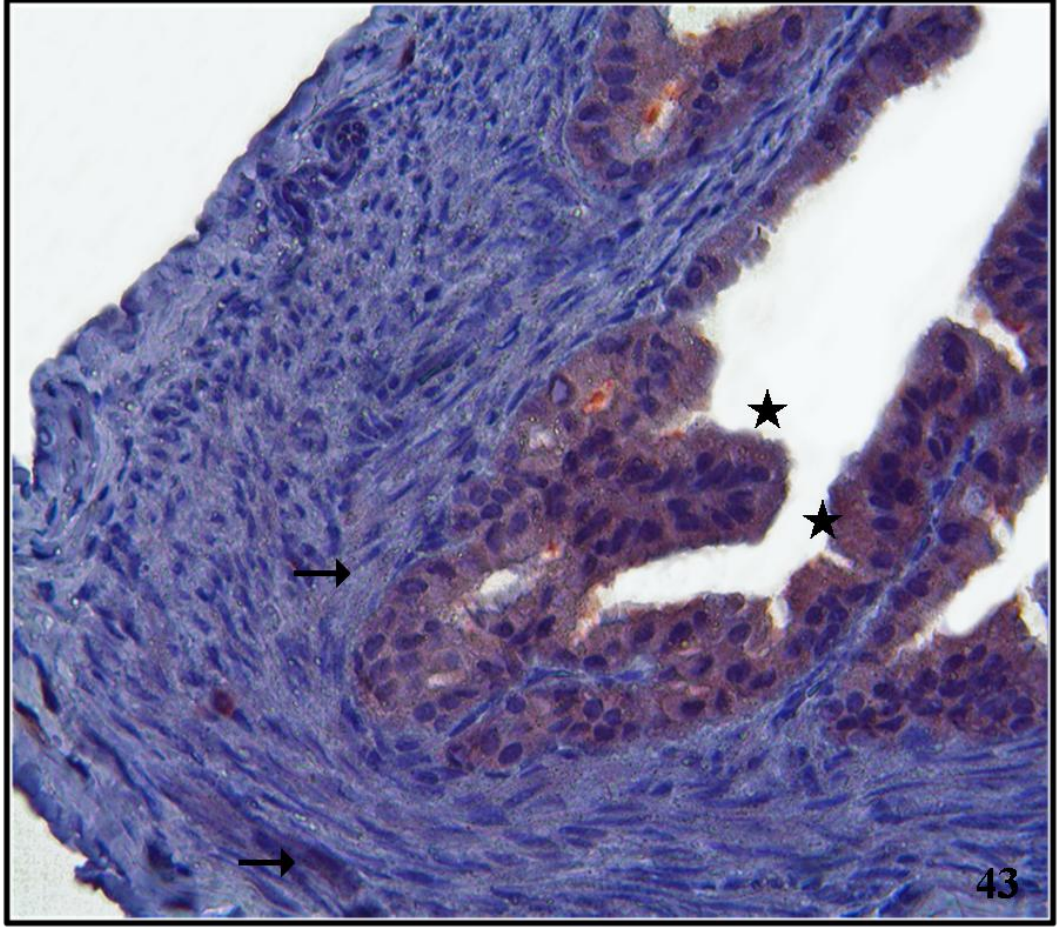
Resim 40: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) oldukça yoğun olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



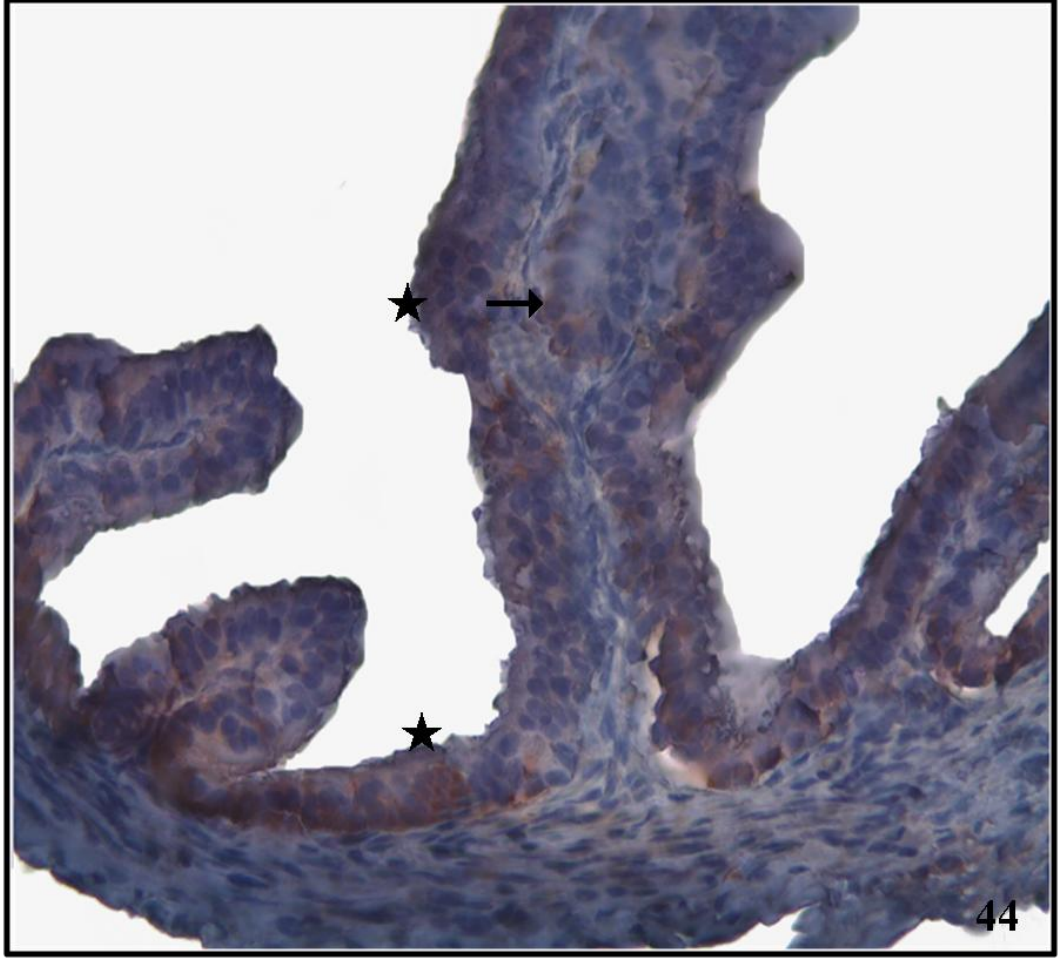
Resim 41: Ki-67 boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) daha çok apikal yüzde olduğu izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



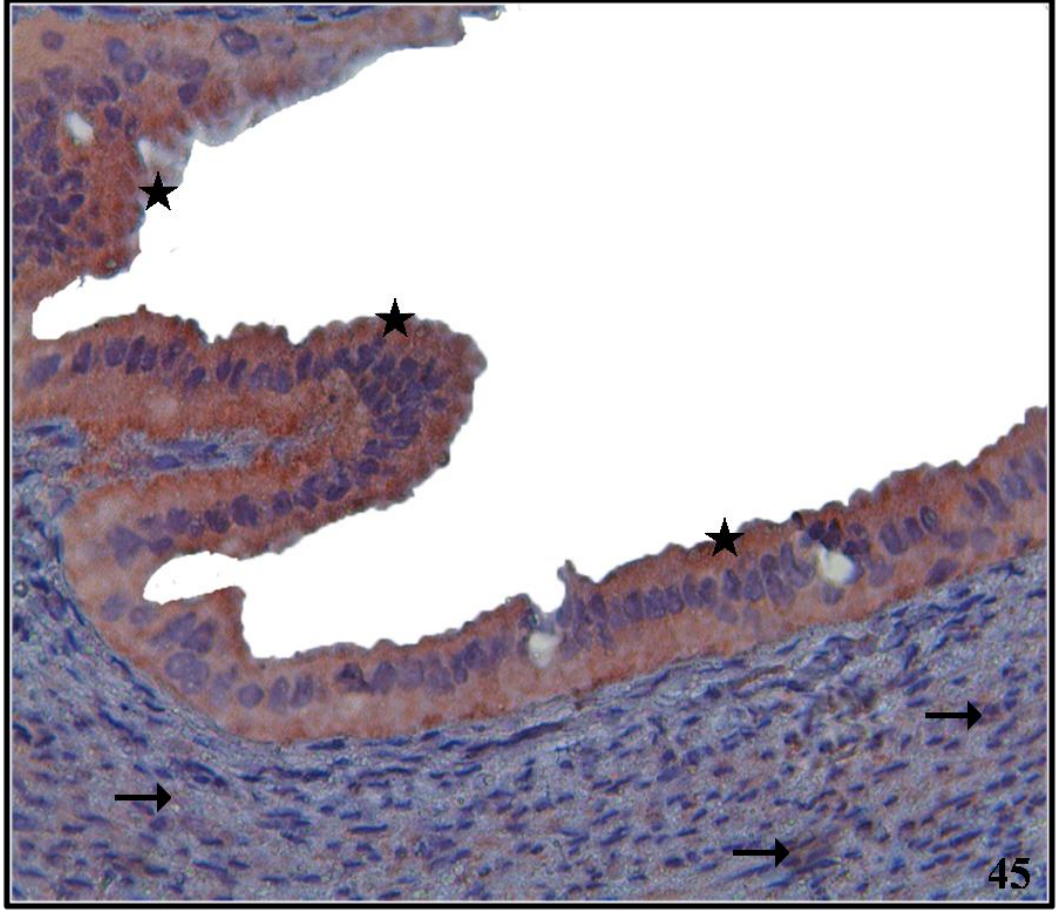
Resim 42: Kaspaz-3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinde (★) sitoplazmik düzeyde zayıf tutulum olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



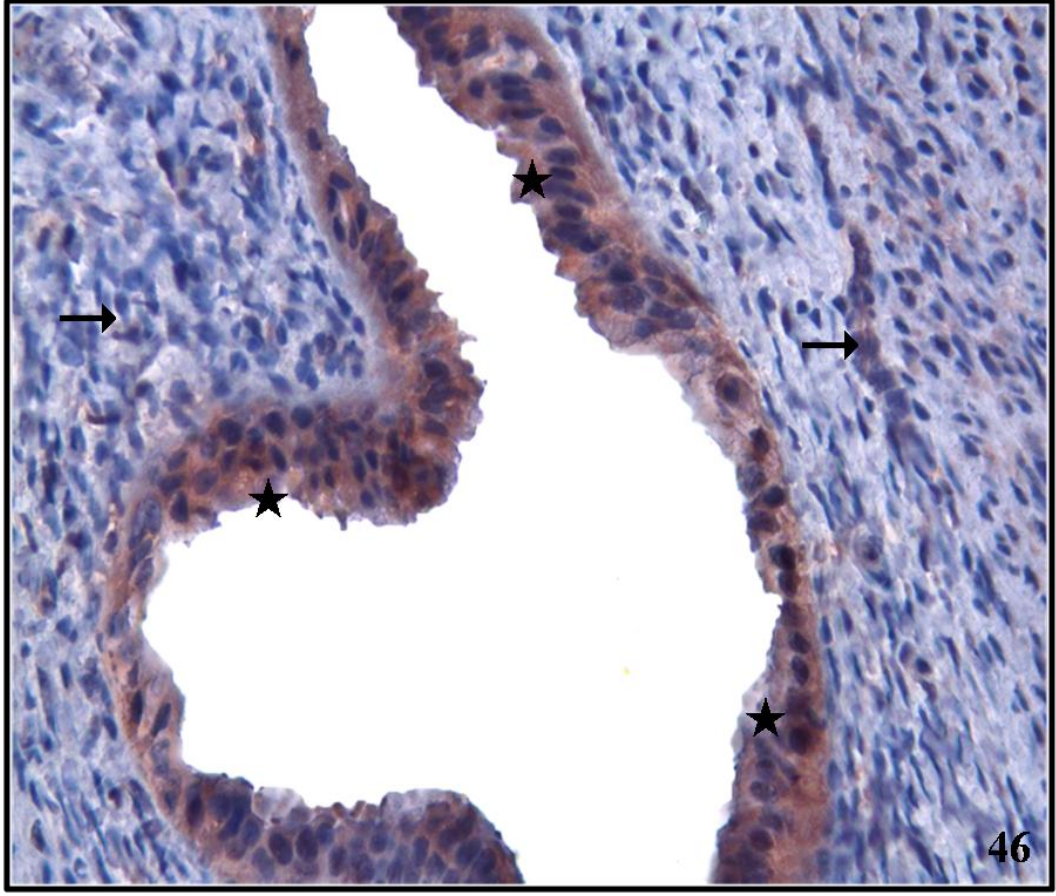
Resim 43: Kaspaz-3 boyaması yapılan kanser grubuna ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinde (★) oldukça yoğun, diğer bölgelerde ise (→) ise zayıf tutulum ayırt ediliyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



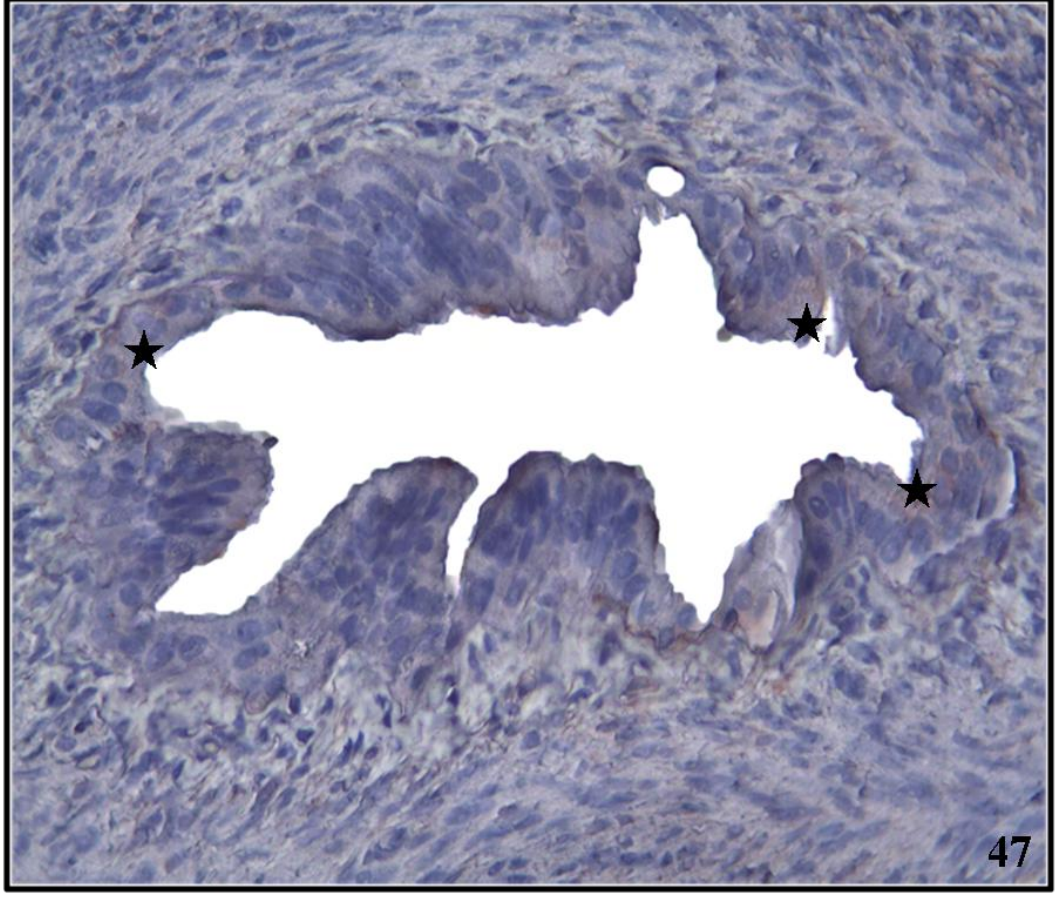
Resim 44: Kaspaz-3 boyaması yapılan siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel hücrelerinde (★) ve bazı hücrelerde (→) yer yer zayıftan ortaya değişen tutulum görülüyor. (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400)



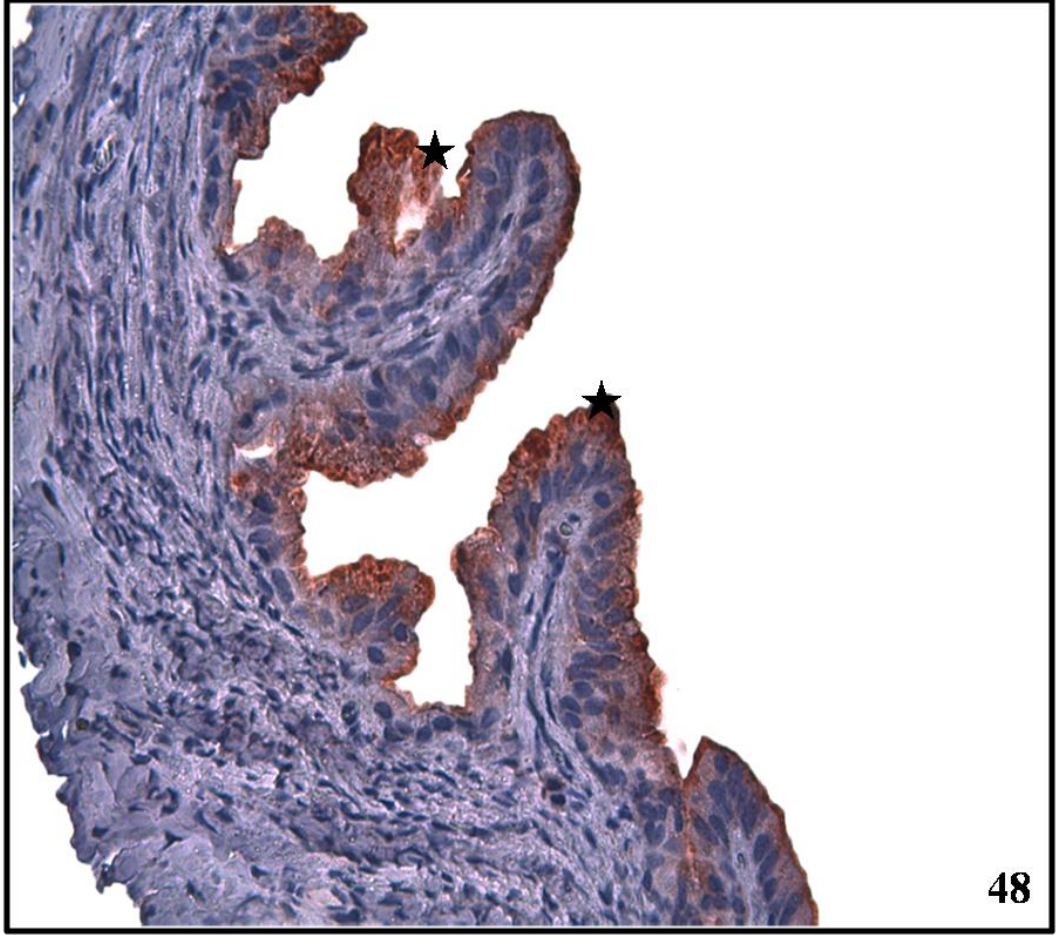
Resim 45: Kaspaz-3 boyaması yapılan siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitel (★) ve bazı bağ dokusu hücrelerinde (→) tutulumun oldukça yoğun olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



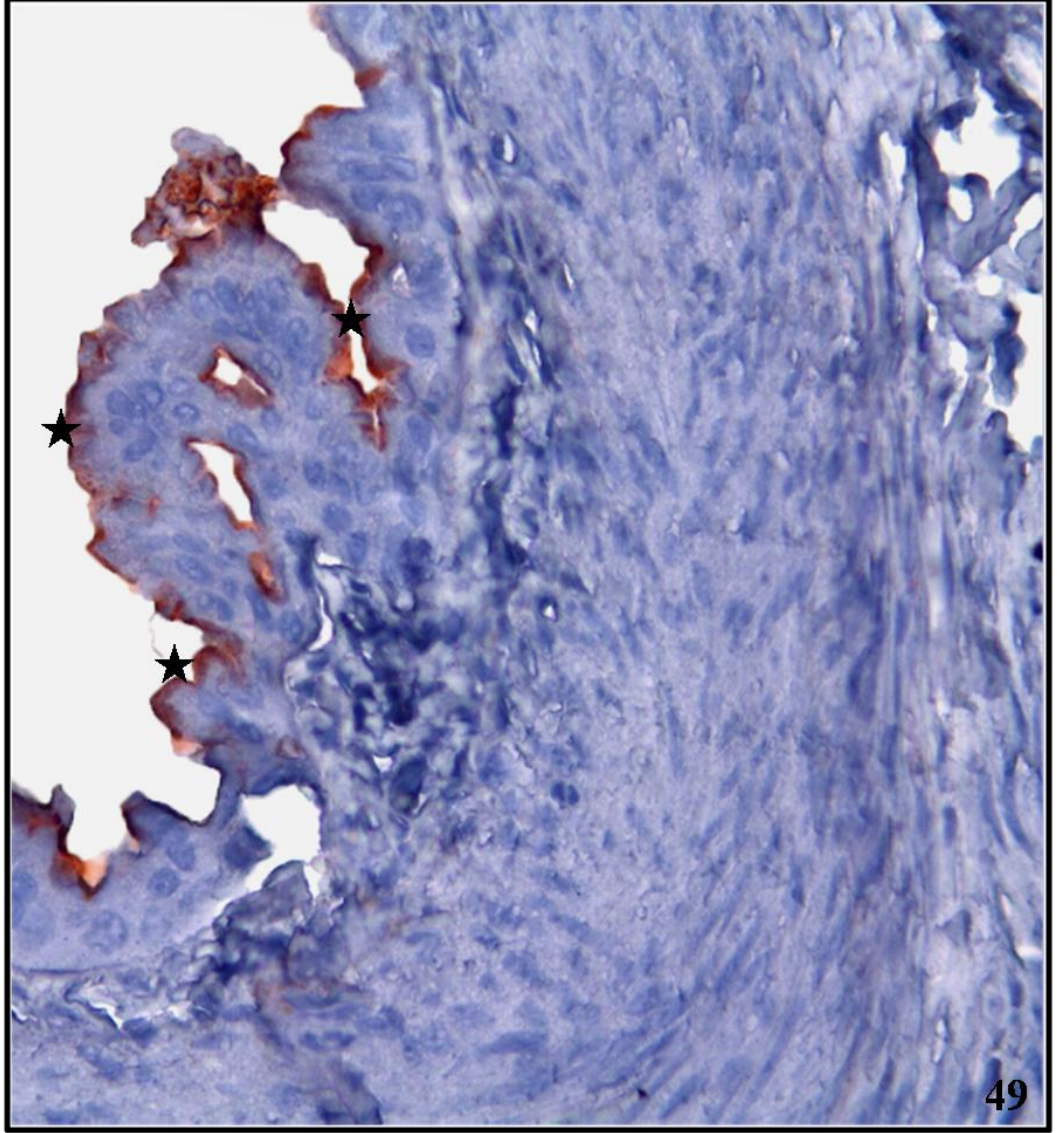
Resim 46: Kaspaz-3 boyaması yapılan siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) ve bağ dokusu hücrelerinde (→) siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba benzediği görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



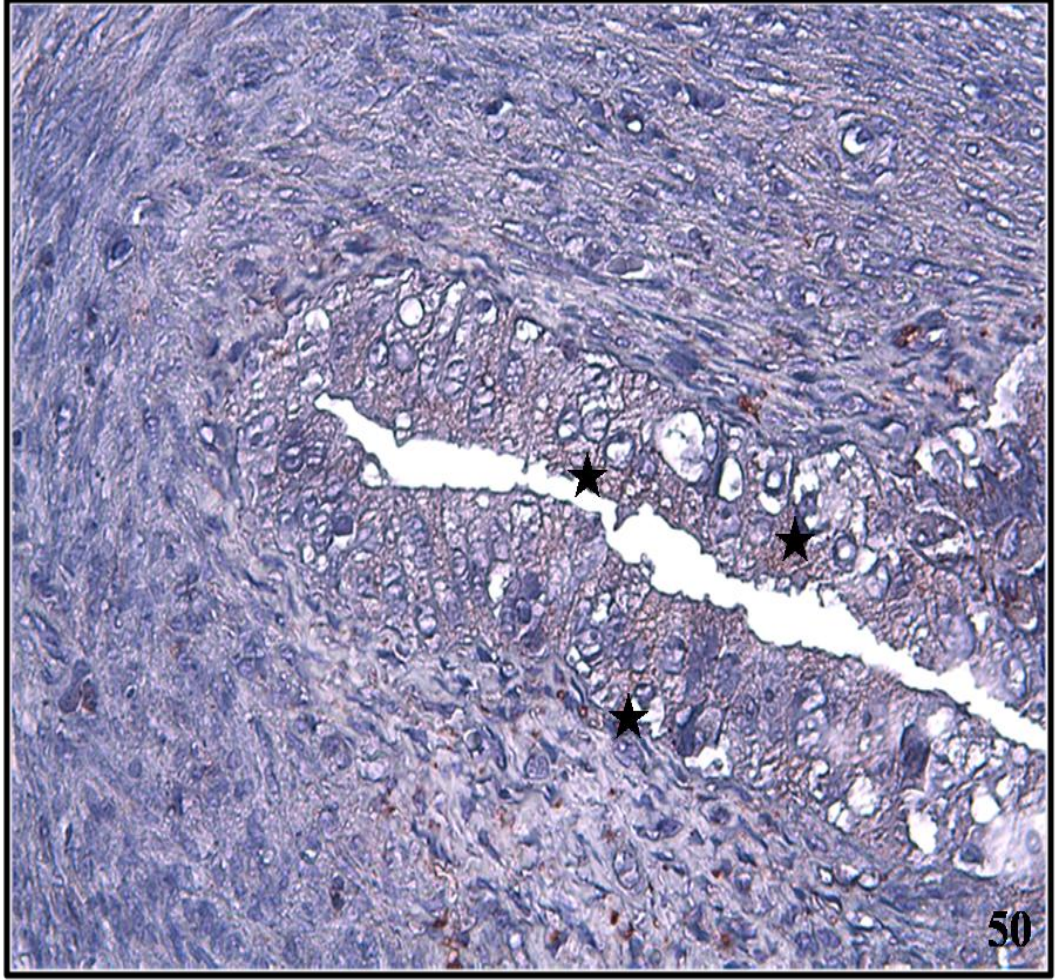
Resim 47: Kaspaz-3 boyaması yapılan siklofosamid ve selenyum uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; tutulum epitelde (★) ve doku genelinde kontrole eşdeğer olarak görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



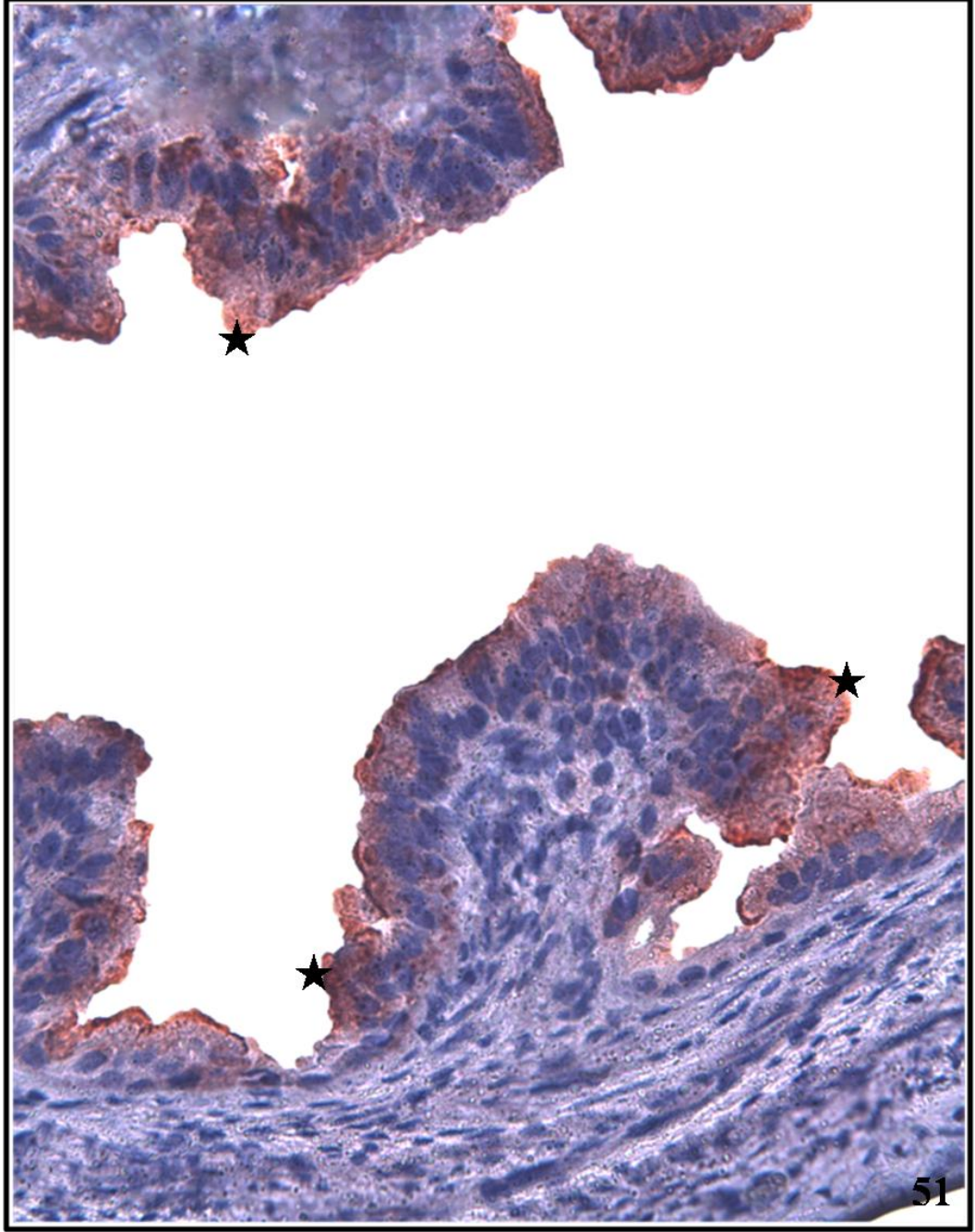
Resim 48: VEGF boyaması yapılan kontrol grubuna ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitel hücreleri (★) apikal hücre zarı ve sitoplazmasında olduğu ayırt ediliyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



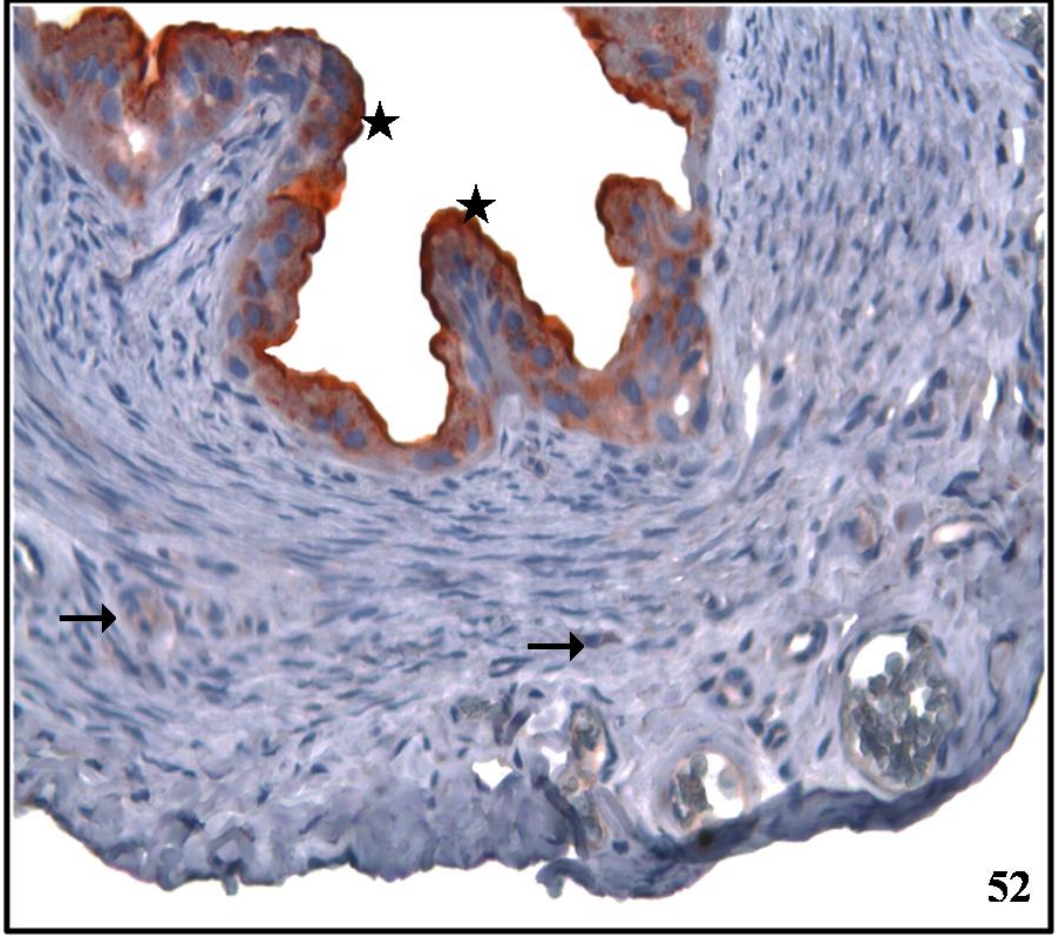
Resim 49: VEGF boyaması yapılan kanser grubuna ait tuba uterina dokusunda; tutulumun epitelde (★) ve doku genelinde kontrole benzediği görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



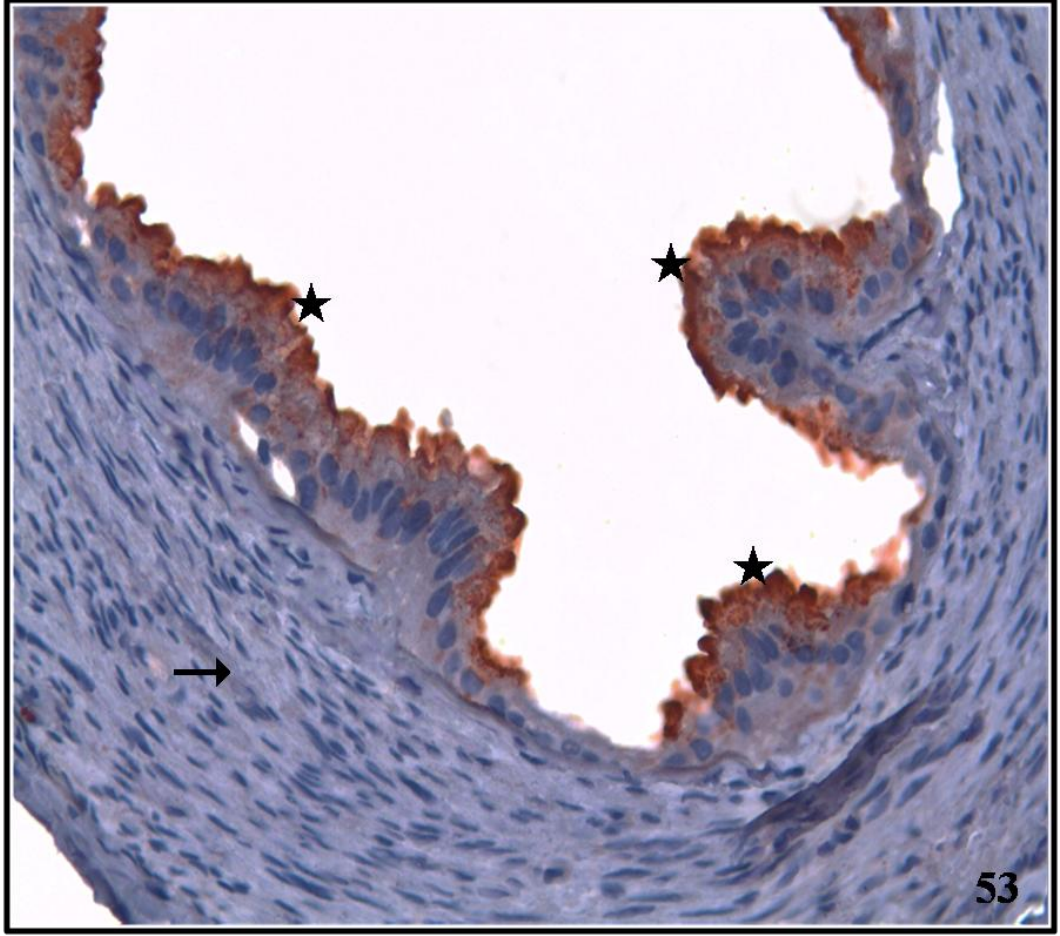
Resim 50: VEGF boyaması yapılan Siklofosamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (★) son derece zayıf tutulum olduğu ve tüm sitoplazmaya dağıldığı görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



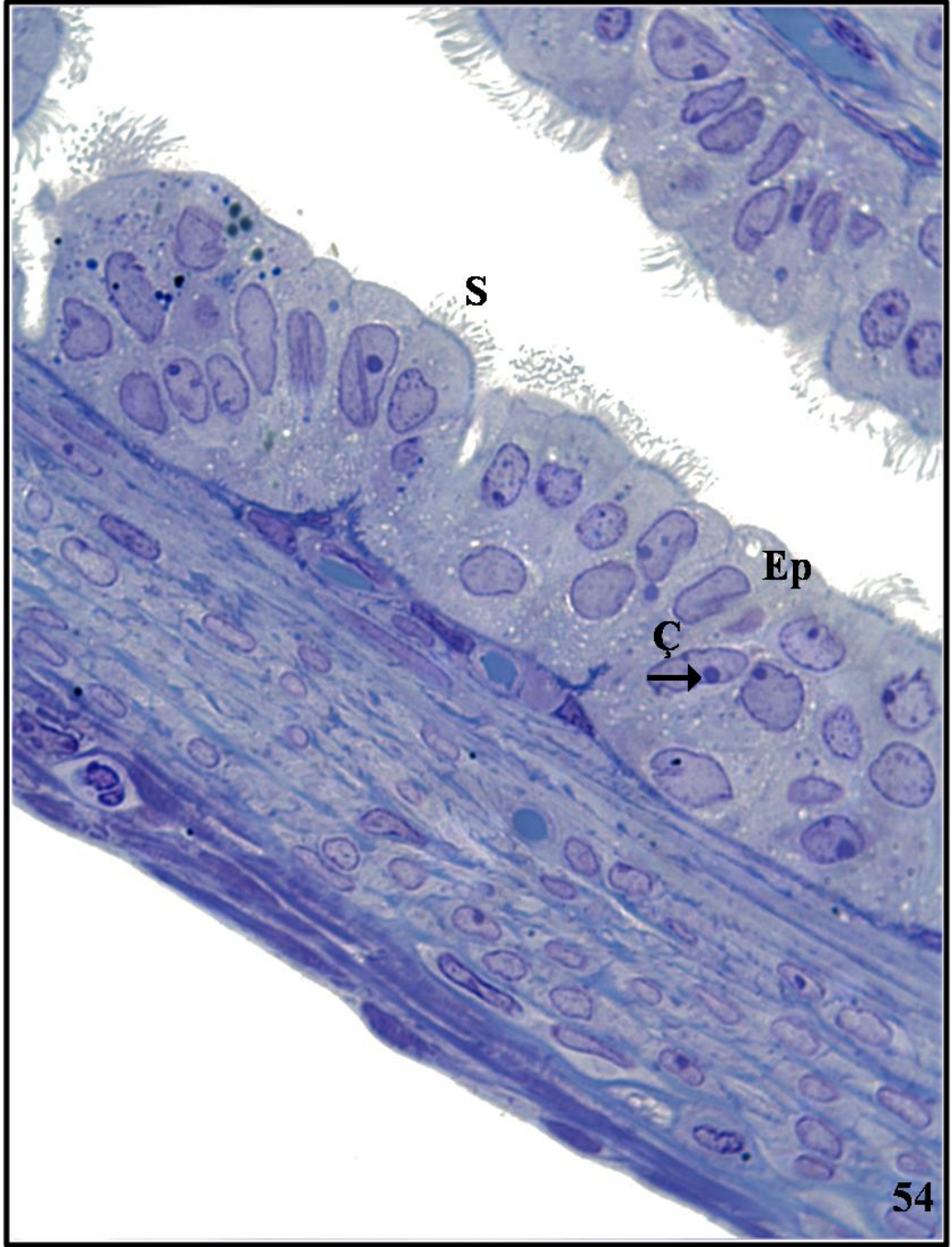
Resim 51: VEGF boyaması yapılan Siklofosamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (★) ve doku genelinde (→) kontrole benzer tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



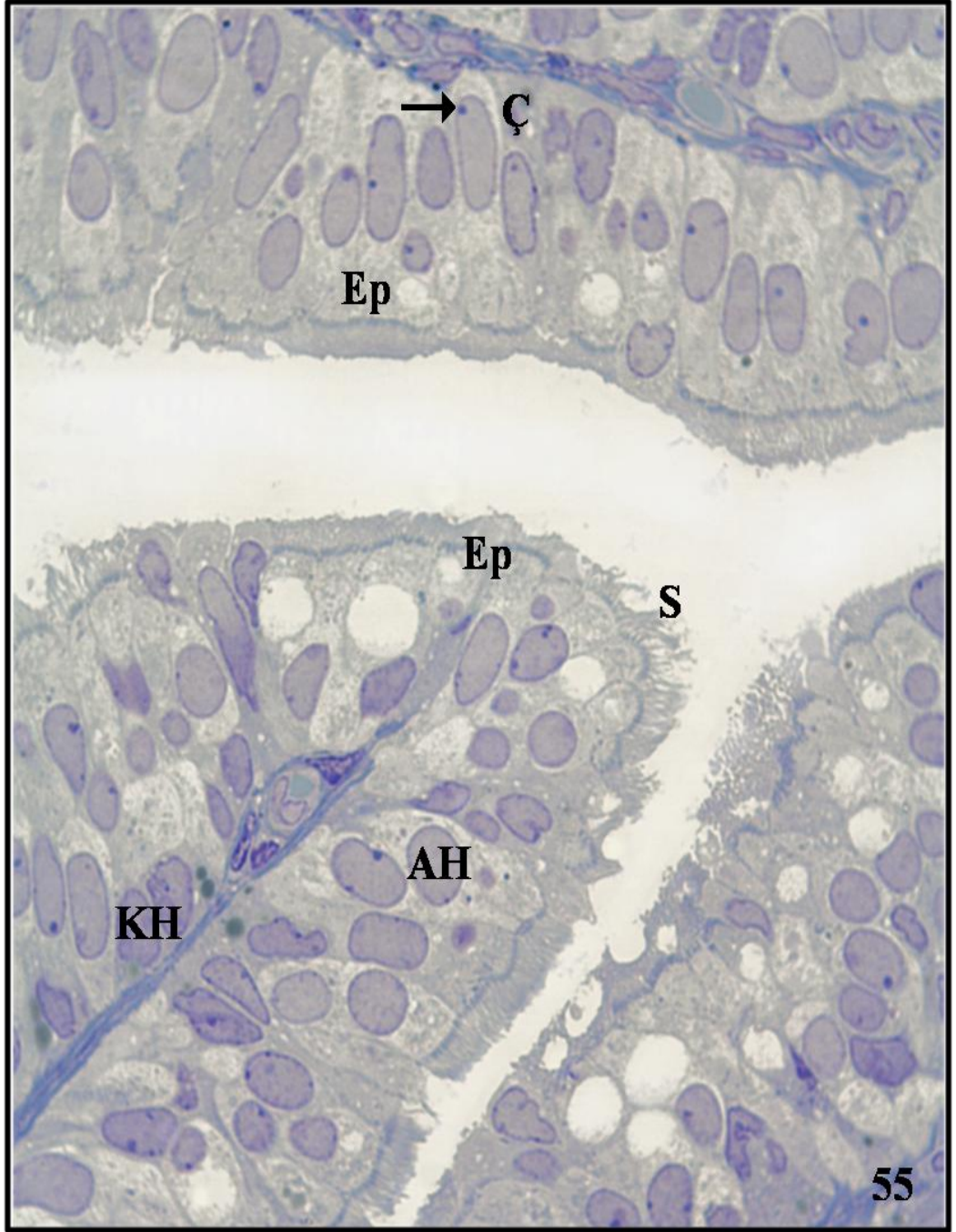
Resim 52: VEGF boyaması yapılan Siklofosamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (★) ve doku genelinde (→) kontrole benzer tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



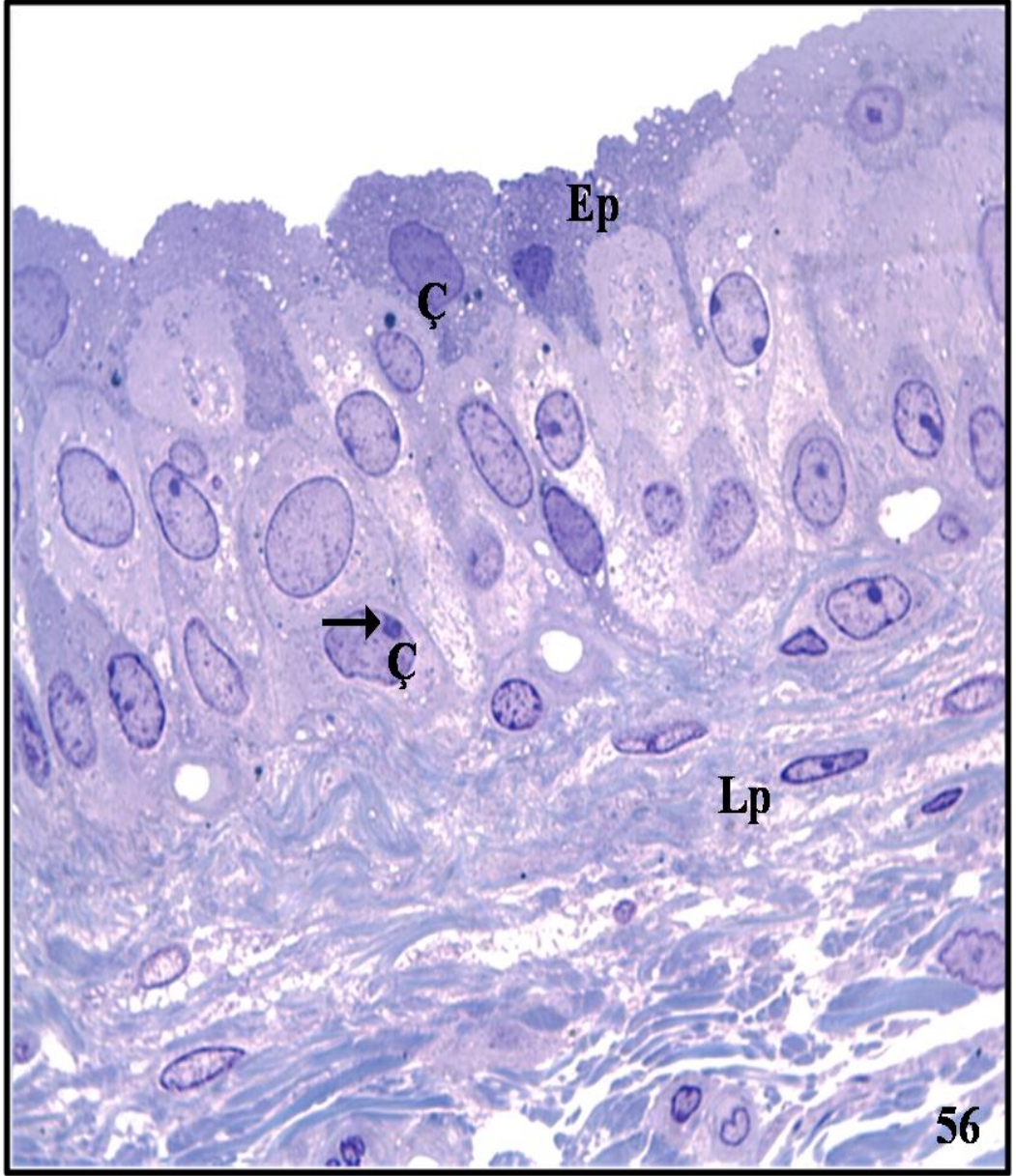
Resim 53: VEGF boyaması yapılan Siklofosamid ve selenyum uygulanan gruba ait tuba uterina dokusunda; epitelde (★) ve doku genelinde (→) kontrole benzer tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400).



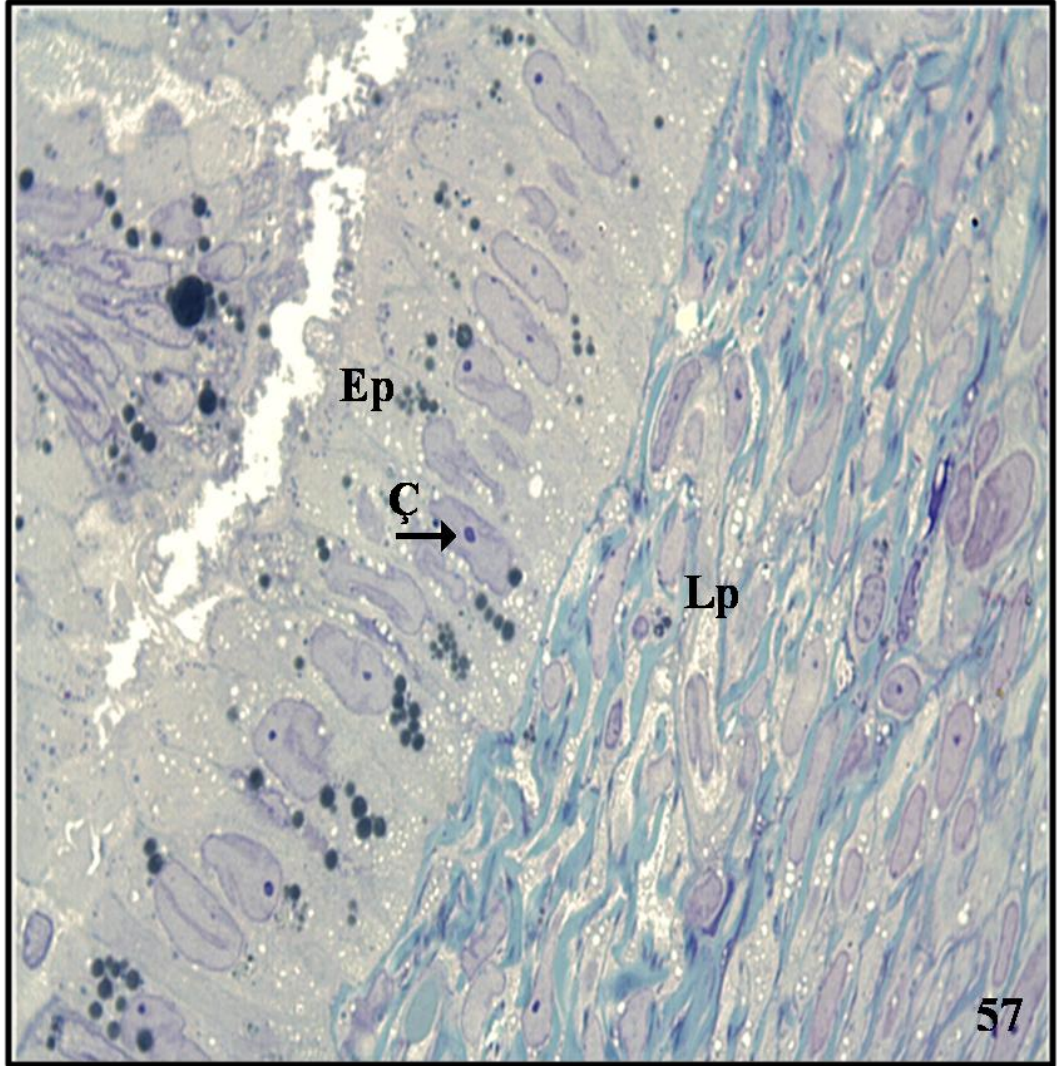
Resim 54: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusu yarı ince kesitlerinde; epitel hücrelerinin tek sıralı prizmatik yapısı, üst yüzde silyaların varlığı izleniyor. (Ep): Epitel, (S): Silya, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekcik (Toluidin blue AX1000).



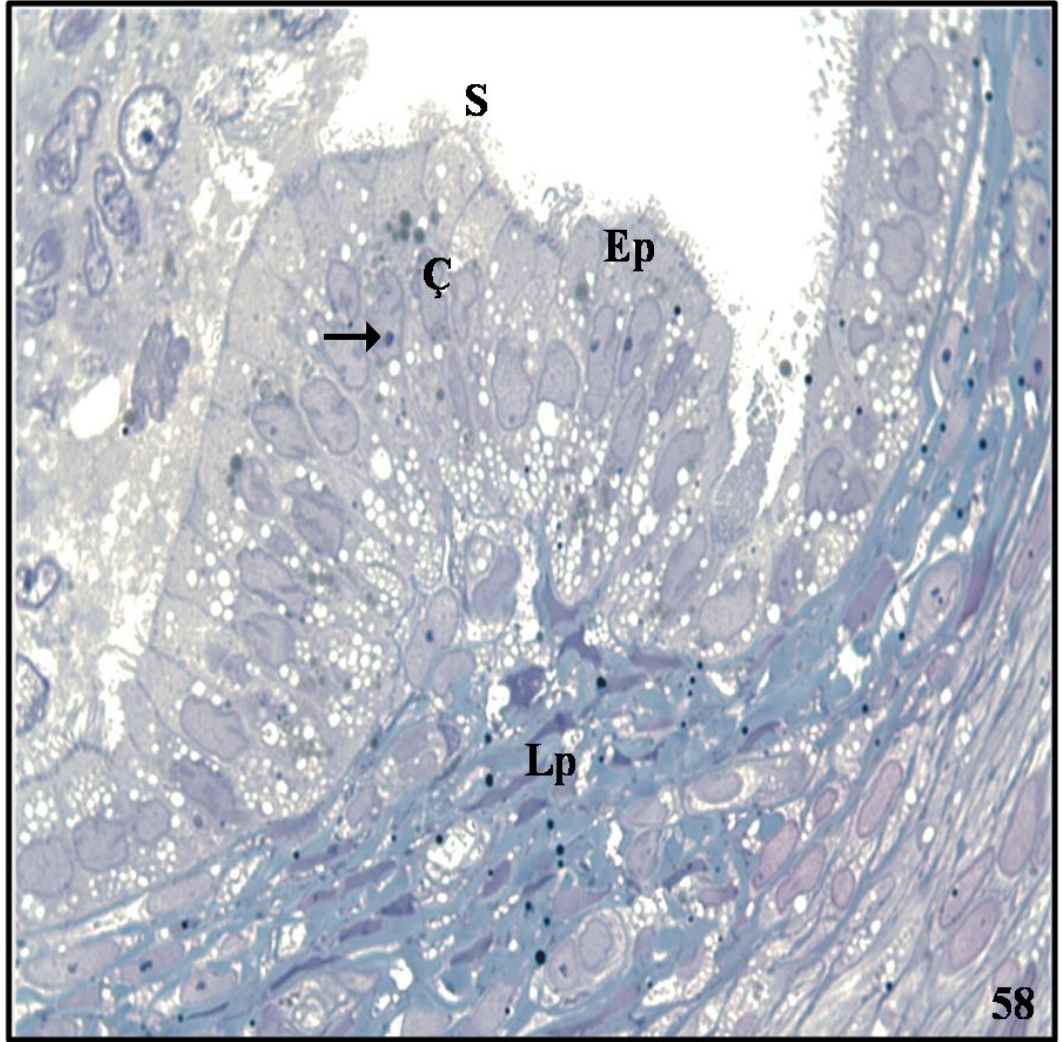
Resim 55: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusu yarı ince kesitlerinde; epitel hücrelerinde oldukça iri vakuoller olduğu izleniyor. Bazı hücrelerde sitoplazmada yoğunluk farkı olduğu görülüyor. (Ep): Epitel, (S): Silya, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekcik, (KH): Koyu hücre, (AH): Açık hücre (Toluidin blue AX1000).



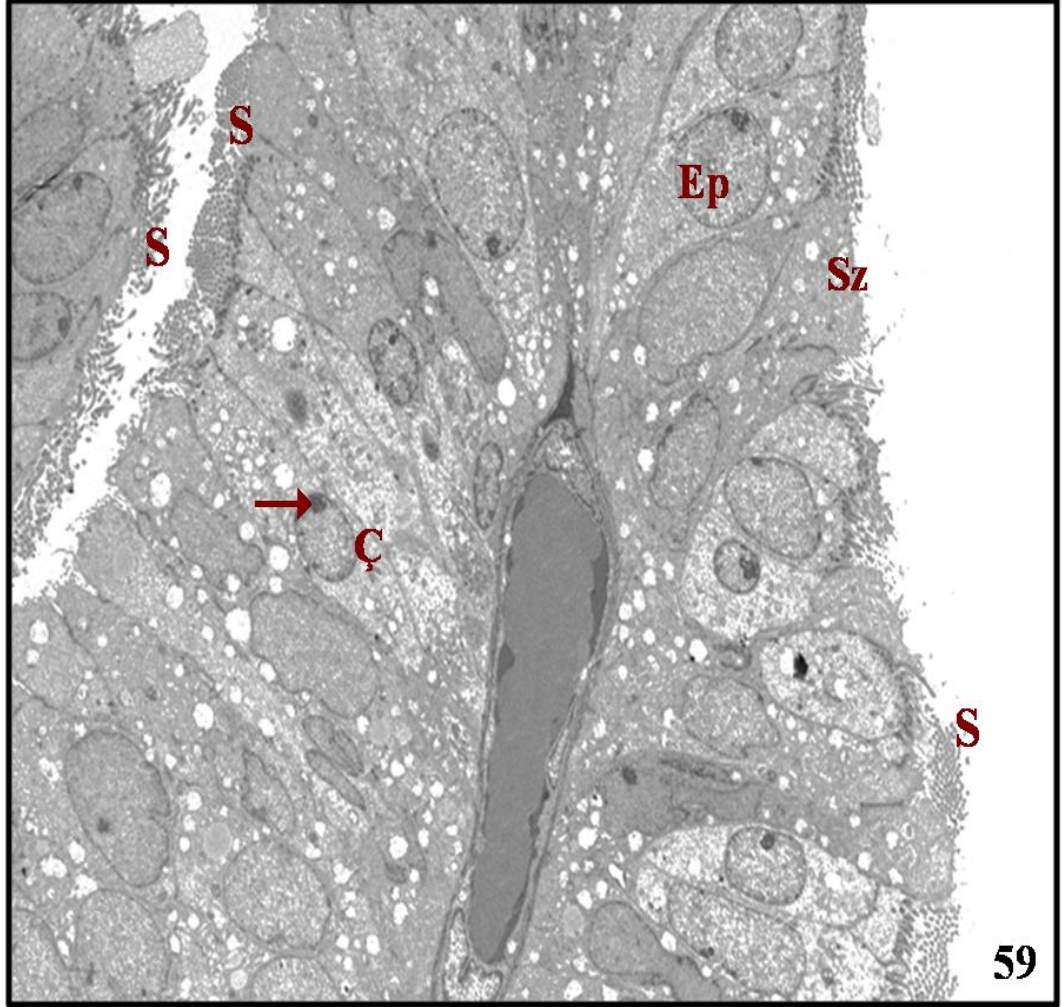
Resim 56: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu yarı ince kesitlerinde; epitelin çok sıralı görünümü ve üst sıradaki hücrelerdeki yoğunluk farkı izleniyor. (Ep): Epitel, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekcik, (Lp): Lamina propriya (Toluidin blue AX1000).



Resim 57: Siklofosamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu yarı ince kesitlerinde; yapının biraz daha normale döndüğü izleniyor. (Ep): Epitel, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekcik, (Lp): Lamina propriya (Toluidin blue AX1000).



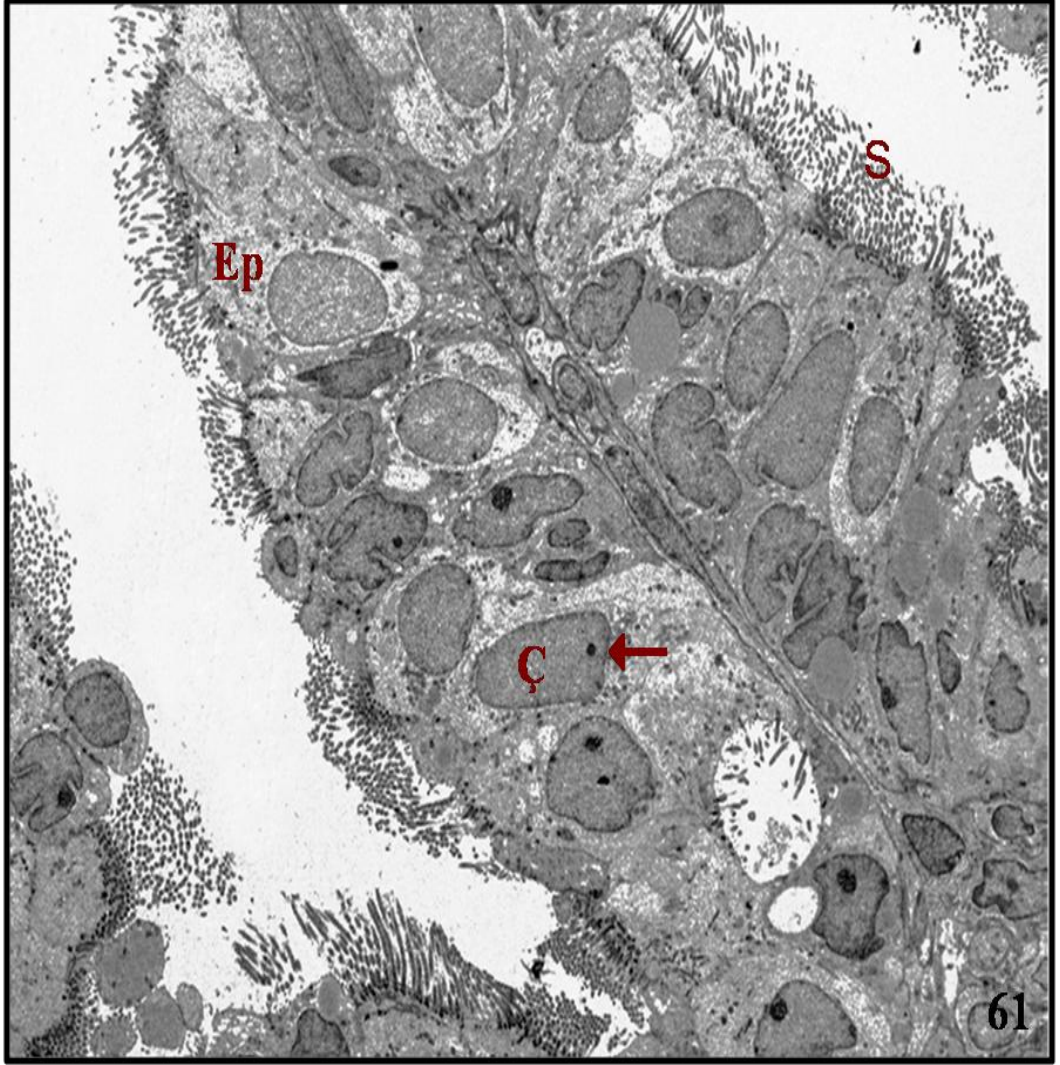
Resim 58: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu yarı ince kesitlerinde; epitelin biraz daha normal sıralanma gösterdiği ayırt edilirken, lümende dökülmüş epitel hücreleri ve yine epitel hücrelerinde yaygın vakuolizasyon görülüyor. (Ep): Epitel, Ç: Çekirdek, (→): Çekirdekcik, (Lp): Lamina propriya (Toluidin blue AX1000).



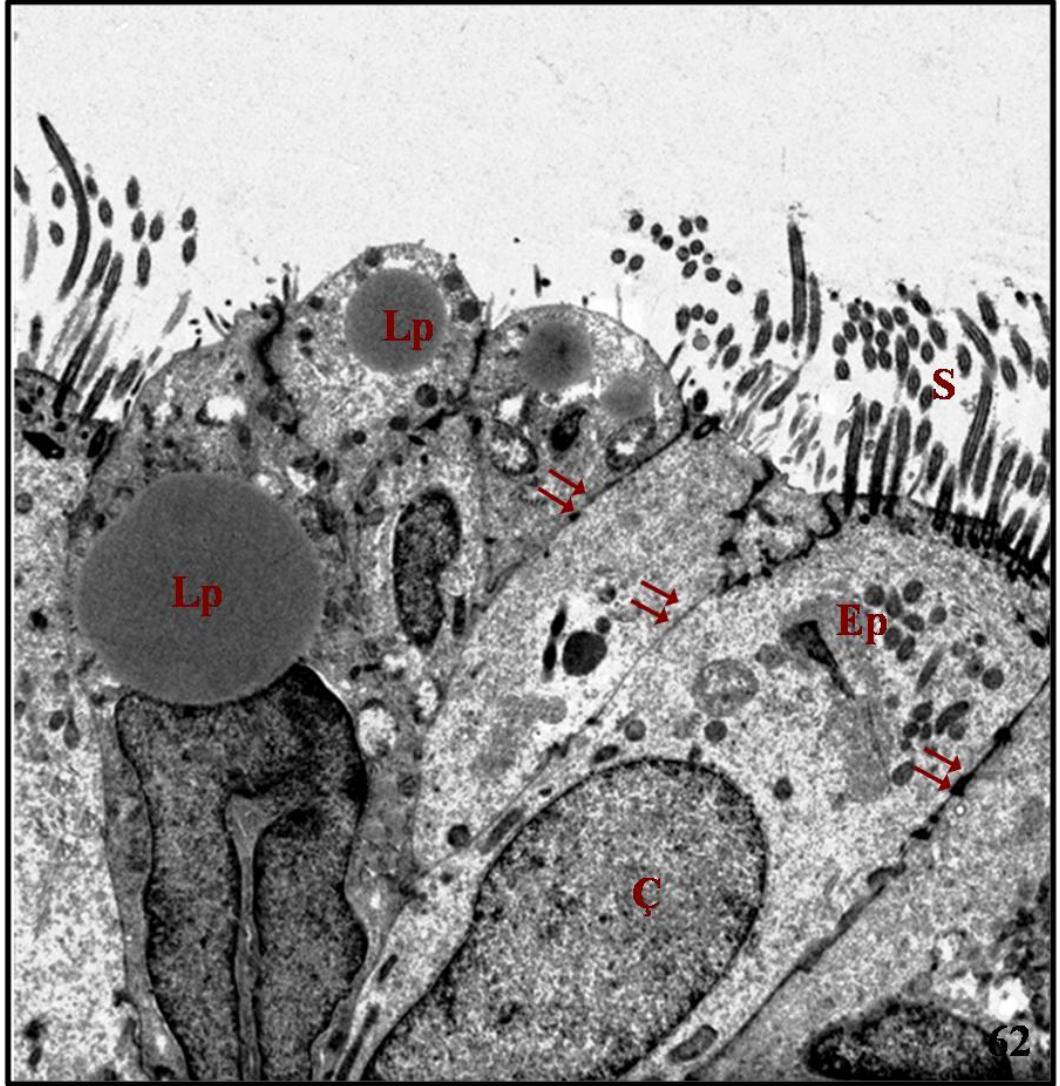
Resim 59: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; epitel hücreleri, çekirdekleri ve silyaları normal yapıda görülüyor. . (Ep): Epitel, (S): Silya, (Sz): Silyasız hüreler, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekcik (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3870)



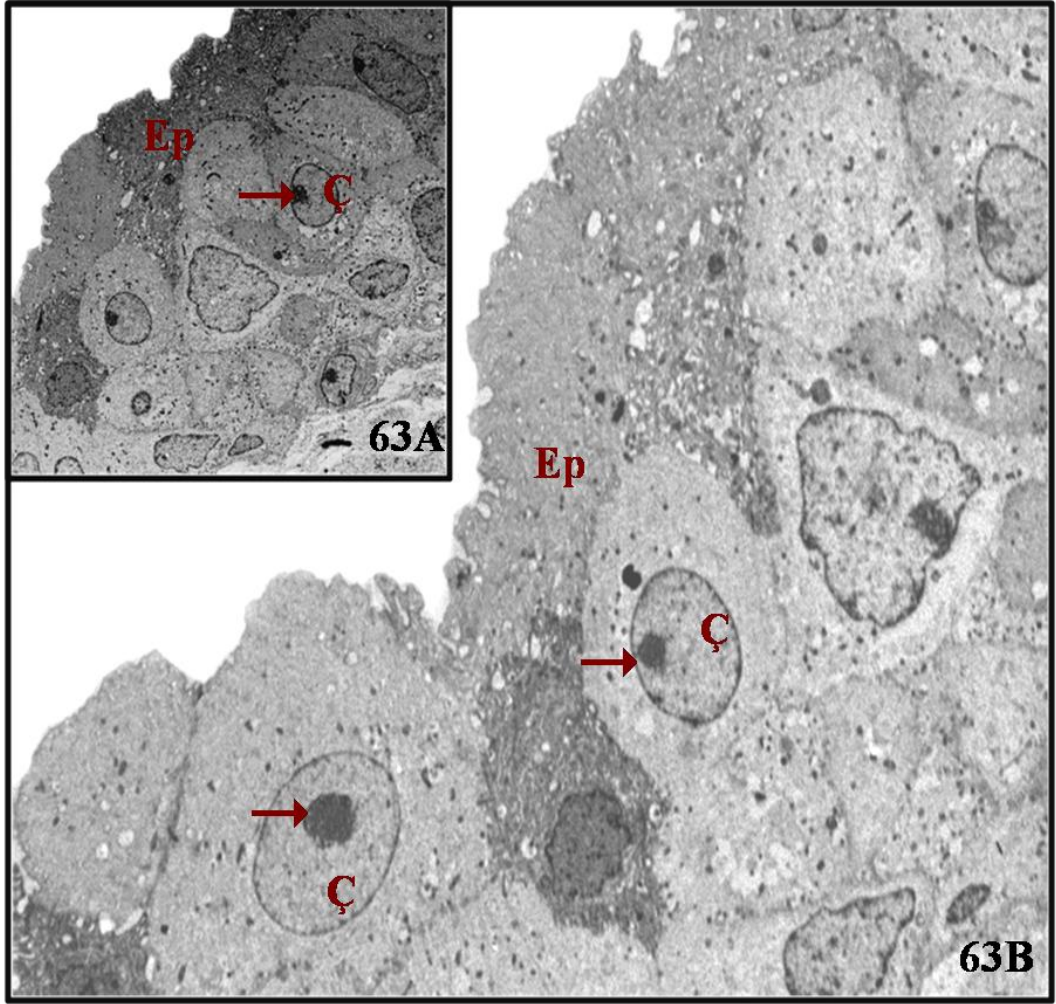
Resim 60: Kontrol grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; bazı mitokondriyonlar da kristoliz görölüyor. Hücre yan yüz bağlantıları ise normal yapıda ayırt ediliyor. (Ep): Epitel, (S): Silya, (Sz): Silyasız hüreler (Ç): Çekirdek, (Kr): Kristolizis, (⇒): Hücre yan yüz bağlantıları (Uranil asetat-Kurşun sitrat X1224).



Resim 61: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; normal yapıdaki silyalara karşın epitelin yozlaştığı görülüyor. (Ep): Epitel, (S): Silya, (Ç): Çekirdek (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3740)



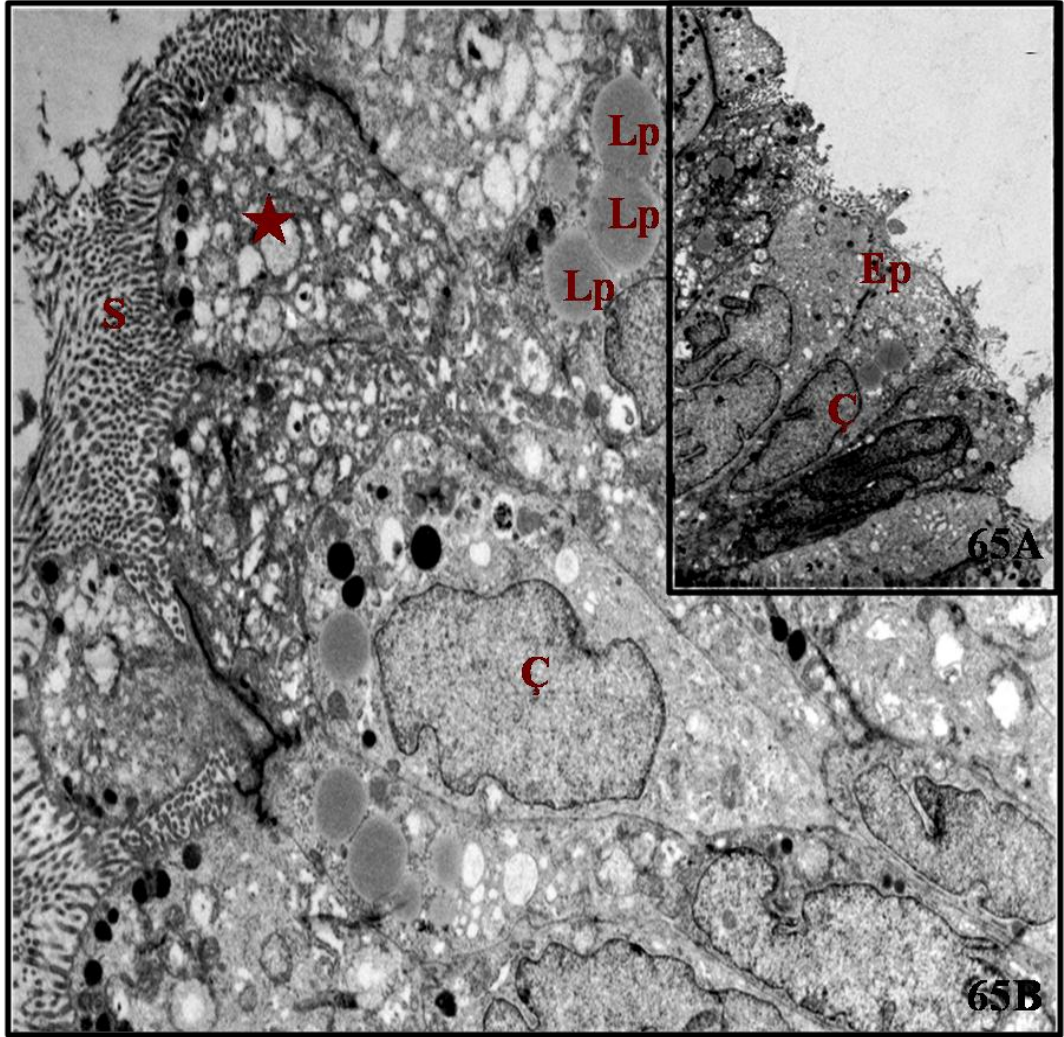
Resim 62: Kanser grubuna ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; epitel hücrelerinde irili ufaklı lipid damlacıklarının varlığı izleniyor. (Ep): Epitel, (S): Silya, (Ç): Çekirdek, (Lp): Lipid, (⇔): Hücre yan yüz bağlantıları. (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7490)



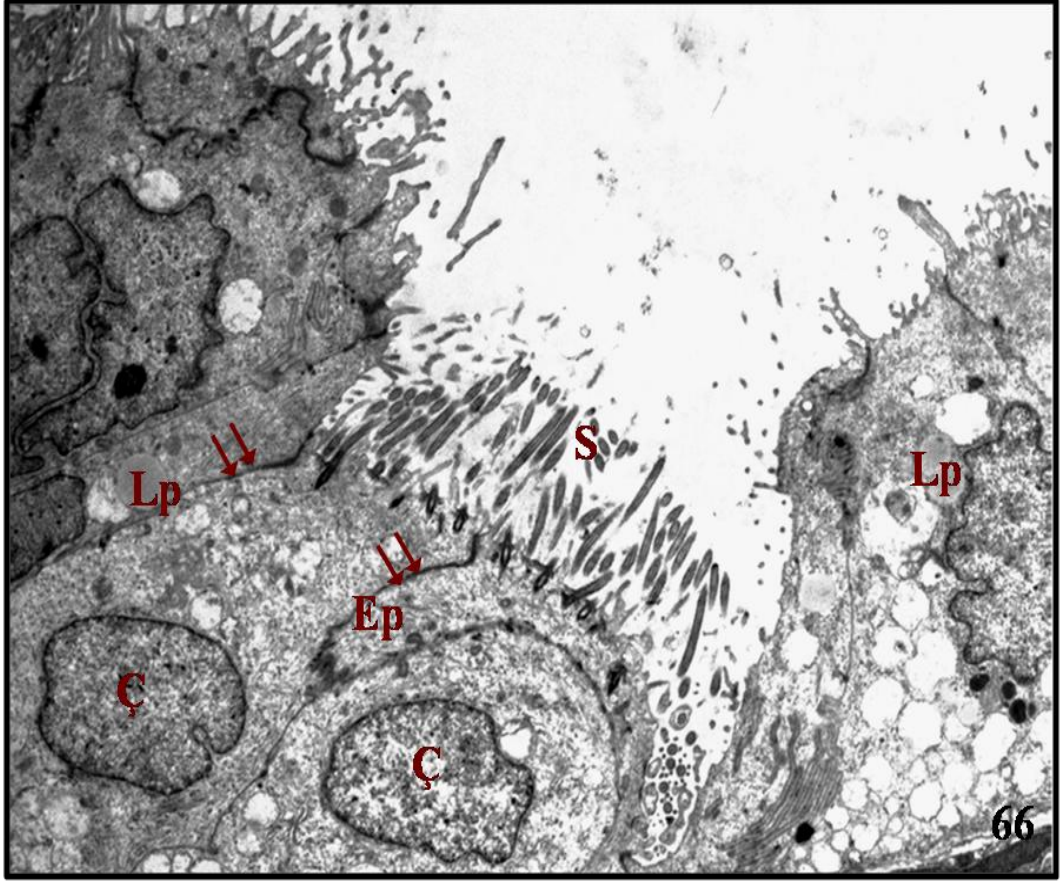
Resim 63A, B: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; epitelin çok katlı hali ve üst yüzde bulunan dejeneratif hücreler görülüyor. (Ep): Epitel, (Ç): Çekirdek, (→): Çekirdekcik (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4550, BX5370)



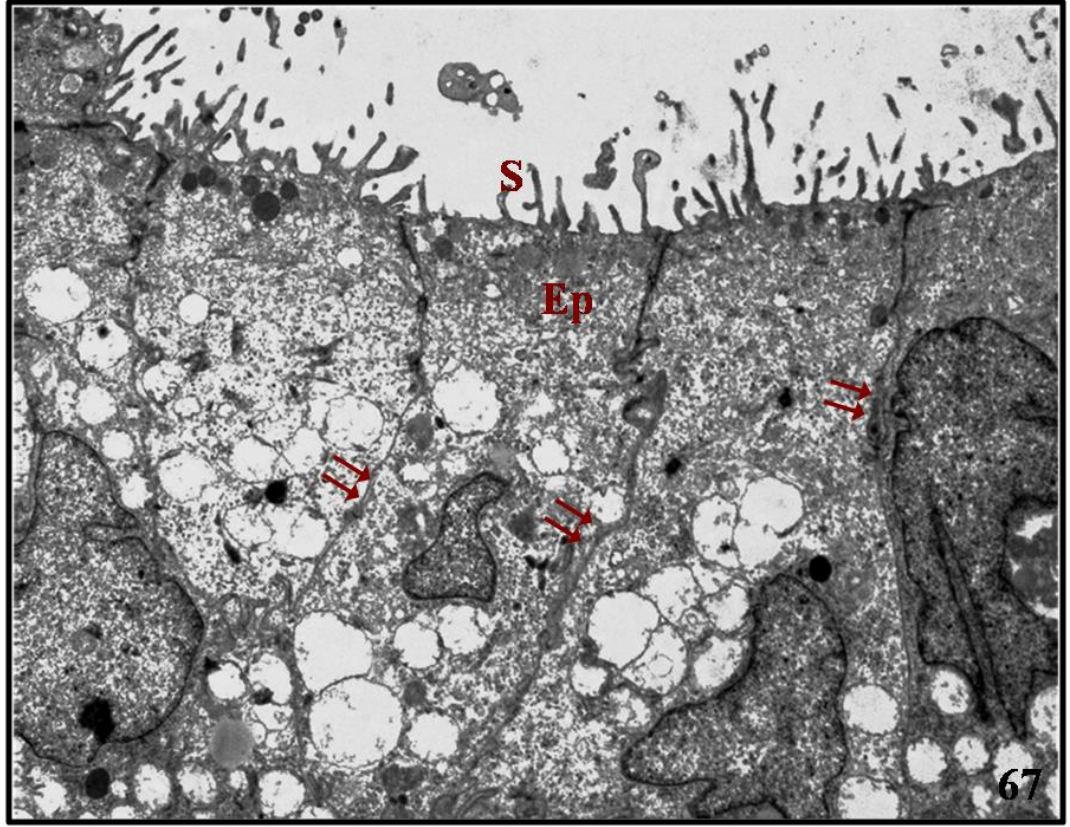
Resim 64: Siklofosfamid uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; epitel hücrelerine dejenerasyon görülüyor. (Ep): Epitel (Uranil asetat-Kurşun sitrat X4070)



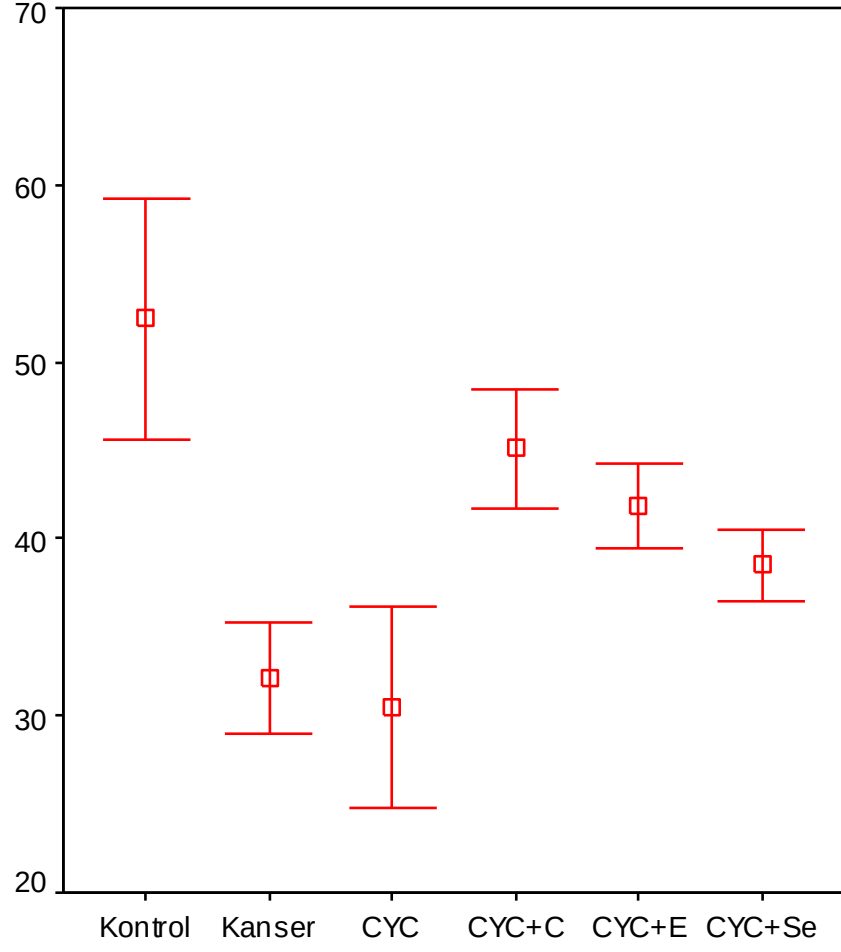
Resim 65A, B: Siklofosfamid ve C vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; sitoplazmada yaygın lipidlerin varlığı görülüyor. Üst sıra yoğun hücre katmanının bu grupta da görülmesi dikkati çekiyor. (Ep): Epitel, (Ç): Çekirdek, S: Silya, (★): Yoğun hücreler (Uranil asetat-Kurşun sitrat AX4390, BX1037)



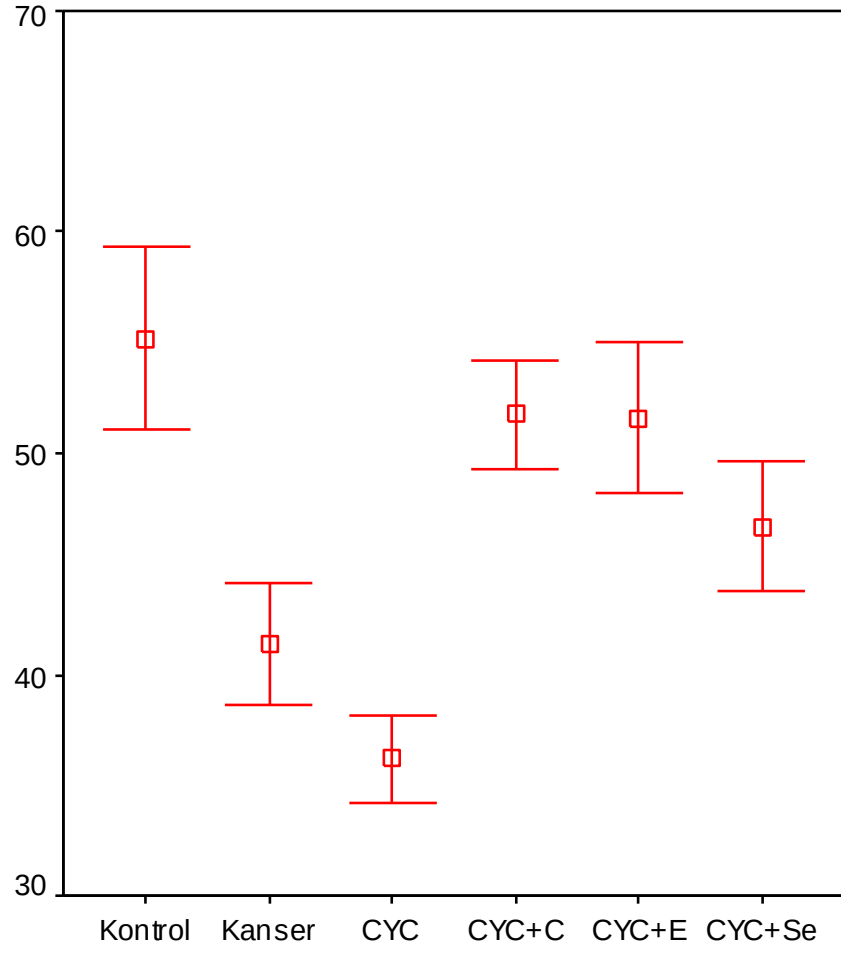
Resim 66: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; yapının kontrol grubuna yakın olduğu görülüyor. (Ep): Epitel, (Ç): Çekirdek, (S): Silya, (Lp): Lipid, (⇔): Hücre yan yüz bağlantıları (Uranil asetat-Kurşun sitrat X9700)



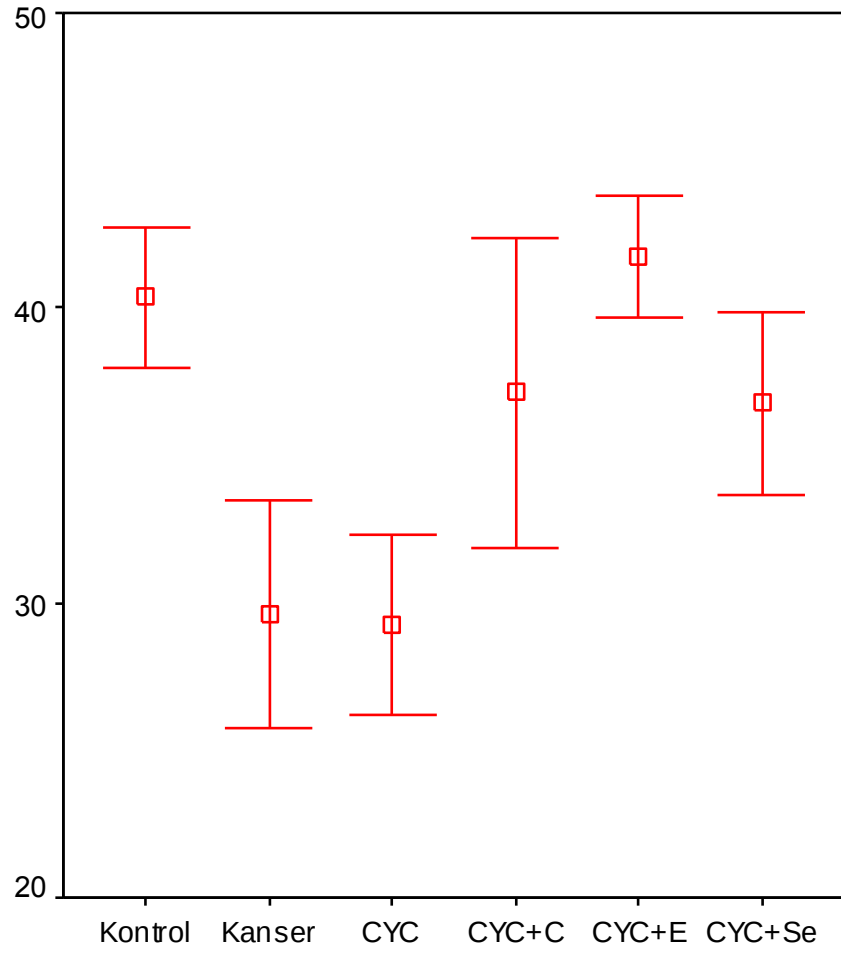
Resim 67: Siklofosfamid ve E vitamini uygulanan gruba ait tuba uterina dokusu elektron mikroskopik incelemelerinde; epitelde koyu ve açık renk boyanan hücre farklılığı ilgiyi çekmesine karşın, hücre yan yüz bağlantıları ve apikal yüz farklanmaları oldukça normal olarak izleniyor. (Ep): Epitel, (Ç): Çekirdek, (S): Silya, (⇔): Hücre yan yüz bağlantıları, (KH): Koyu hücre, (AH): Açık hücre (Uranil asetat-Kurşun sitrat X5970)



Grafik 1: Deney gruplarının uterus duvar kalınlığına göre değerlendirildiği istatistiksel grafik



Grafik 2: Deney gruplarının uterus endometriyum duvar kalınlığına göre değerlendirildiği istatistiksel grafik



Grafik 3: Deney gruplarının tuba uterina duvar kalınlığına göre değerlendirildiği istatistiksel grafik

5.TARTIŞMA

Meme kanseri, tüm dünyada kadınlarda en sık görülen kanser tipidir. Bu nedenle önemli bir sağlık problemidir. Meme kanseri memenin yapısında oluşan kötü huylu bir gelişim olarak tanımlanmaktadır. Veriler; dünyada her üç dakikada bir kadına meme kanseri tanısı konulduğunu göstermektedir.^{58,59}

Siklofosfamid meme kanseri tedavisinde oldukça geniş kullanım alanına sahip kemoterapik ajandır. Mitoz bölünmeyi durdurarak kanser hücrelerinin büyümesini engellemektedir. Karaciğerde alkali metabolitlere dönüştürülerek, alkil gruplarını DNA'nın guanin bileşenine iletmekte böylece DNA zincirinde kırılmalara neden olmaktadır.^{7,8,9}

Siklofosfamid ve diğer kemoterapik ajanların uzun süreli yan etkileri ile ilgili endişeler giderek artmaktadır. Bu etkiler özellikle gonadlarda ve germ hücrelerinde DNA bozuklukları olarak kendini göstermektedir. DNA hasarı, kromozomal sendromlar, tek gen bozuklukları ya da konjenital malformasyonlar şeklinde tanımlanmaktadır.^{8,10,117,118}

İnsanlarda alkali ajanlara etken kalma sonucunda erken ovaryal bozukluklar gözlenmektedir. Bu bozuklukların derecesi hastanın yaşıyla yakından ilişkilidir. Adetten kesilme siklofosfamid uygulanan kadınlarda sıklıkla gözlenmektedir. Bu yan etkinin, antral foliküllerdeki yıkım ve buna bağlı olarak ovaryum östrojen üretimi yitmi sonucu oluştuğu

düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda siklofosfamid'in plazma östrodiol düzeyini azalttığı gözlenmiştir.^{8,10,119}

Hayvanlarda yapılan çalışmalar, siklofosfamid'in normal ovaryum fonksiyonunu bozduğu ve ovaryal steroidlerin üretimini engellediğini göstermektedir. Jarrel ve arkadaşları, siklofosfamid uygulanan sıçanlarda antral folikül sayılarında azalma, foliküler atrezide genel bir artış ve östrodiol ve progesteron düzeylerinde ise azalma gözlemişlerdir. Benzer şekilde, David R. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada siklofosfamid'in ovaryal toksisiteye neden olduğunu, zamana ve doza bağlı olarak da antral foliküllerde azalma gözlendiğini bildirmişlerdir.^{120,121}

Uterus endometriyumu menstruel döngü süresince hücre çoğalması için östrodiol'e bağımlıdır. Östrodiol'ün gerilemesiyle birlikte uterus fonksiyonunda bozulmalar gözlenmektedir. Normalde östrodiol endometriyum bez epiteli ve bağ dokusunda yapısal değişiklikler başlatmaktadır. Bu düzen engellenir ya da tümüyle ortadan kaldırılırsa, anormal adet düzeni ya da adetten kesilme gibi belirtiler izlenmektedir.^{122,123}

David R. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada siklofosfamid uyguladıkları farelerde uterus ağırlıklarında azalma saptamışlardır. Bunun ovaryal toksisitenin bir sonucu mu yoksa siklofosfamid'in uterus'a doğrudan etkisi sonucu mu olduğunu araştırmışlardır. Siklofosfamid uygulanan grupta uterus ağırlığında azalmayla birlikte plazma östrodiol düzeyinde de azalma ve ovaryumda toksik etki belirlemişlerdir. Östrodiol

düzeyinde 3 gün boyunca süren eksiklik sonucu uterusda atrofi gözlemlenmişler ancak östrodiol düzeyi normale dönse bile uterus ağırlığında bir değişiklik saptamamışlardır. Bunun nedenini endometriyum bazal katmanında, bağ dokuda ve miyometriyumda hücre topluluğundaki azalmaya bağlamışlardır. Östrodiol düzeyi yükselse bile etkileyeceği hücre sayısı azalmış ve vasküler hasar gözlenmiştir. Bu nedenlerle araştırmacılar uterustaki ağırlık kaybının, siklofosfamid'in hem ovaryum hem de uterus üzerine doğrudan etkisi sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, uterus incelemelerinde endometriyal bezlerde azalma ve stromada vakualizasyonlar gözlemişlerdir.¹²⁴

Siklofosfamid antimitojenik bir ajandır ve endometriyal hücreler gibi hızlı bölünen hücrelerde mitoz bölünmeyi azaltıcı etki göstermektedir. Bu nedenle endometriyum ve uterus kalınlığında bir azalma ortaya çıkmaktadır. Farokhi ve arkadaşları siklofosfamid uygulamasından sonra ovaryum ve uterustaki yapısal değişiklikleri araştırmışlardır. Siklofosfamid uygulanan grupta ovaryum folikül topluluğunda özellikle primordiyal foliküllerde büyük miktarda azalma gözlenmiştir. Buna koşut olarak kontrol grubunda ovaryum çapı 1703 µm olarak gözlenirken, siklofosfamid uygulanan grupta 900.9 µm olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde uterus çapı da kontrol grubunda 745.7 µm olarak gözlenirken test grubunda 392.1 µm olarak saptanmıştır.⁸

Bu çalışmada da siklofosfamid uygulaması yapılan meme kanserli olgularda, uzak organ etkisi olarak uterus ve tuba uterinadaki değişiklikler araştırılmıştır. Siklofosfamid uygulaması yapıldıktan sonra uterus dokusunun genel olarak ilaç uygulaması yapılmayan kanser grubuna benzediği görülmüştür. David R. ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmaya koşt olarak bizim çalışmamızda epitel ve bez epitelinde vakuolizasyon dikkati çekmiş ve buna ek olarak apoptozise giden hücre görünümü ayırt edilmiştir. İnce yapı düzeyinde kanser grubundaki değişimlerin sürdüğü belirlenirken yaygın apoptotik cisimlere ek olarak, tüm hücre mitokondriyonlarında da yaygın kristolizis belirlenmiştir. Apoptotik cisimlerin hem epitelde hem de lamina propriyadaki yaygın görünimleri dikkati çekmiştir. Bu gruba ait tuba uterina dokusuna ait örneklerde ise epitelde dejeneratif hücreler belirlenmesine karşın lamina propriya ise normal görünümde izlenmiştir.

Uterus duvar kalınlığı yönünden siklofosfomid uygulaması yapılan gruba göre sırasıyla siklofosfamid ve C, siklofosfamid ve E vitamini ile siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruplarının uterus duvar kalınlığı ortalaması istatistiksel olarak daha yüksek ve bu bulgular anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$; $p<0,001$ ve $p=0,030$). Siklofosfamid uygulaması yapılan grup ise kanser uygulaması yapılan gruba göre uterus duvar kalınlığı ortalamaları istatistiksel olarak benzerdir ($p=0,983$).

Siklofosfomid uygulaması yapılan gruba göre göre sırasıyla; siklofosfamid ve C, siklofosfamid ve E vitamini ile siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruplarının uterus endometriyum kalınlığı ortalaması daha yüksekti ve bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Kanser ve siklofosfamid uygulaması yapılan grupların tuba uterina duvar kalınlığı ortalaması kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Kanser grubu ile

siklofosfamid uygulaması yapılan grup arasında ise tuba uterina duvar kalınlığı ortalamaları istatistiksel olarak benzerdir ($p=1,000$). Buna karşın kanser uygulaması yapılan gruba göre sırasıyla siklofosfamid ve C, siklofosfamid ve E vitamini ile siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruplarının tuba uterina duvar kalınlığı ortalaması anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,008$; $p<0,001$ ve $p=0,013$).

C vitamini birçok biyolojik sistemde önemli role sahiptir. Hormonların, nörotransmitterlerin, kollojen, kornitin ve diğer maddelerin senteziyle yükümlüdür. Ekzojen bileşenlerinin detoksifikasyonu sağlar ve sitokrom p-450 aktivitesi gösterir. Antioksidan olarak ve serbest radikallerin temizlenmesinde görev alır ve lipid peroksidasyonuna karşı korunma sağlar.¹⁵

Yaklaşık 60 yıl önce Mc Cormick, askorbik asitin kollajen sentezini arttırarak kansere karşı koruma sağladığını öne sürmüştür. 1972 yılında Ewan Cameron, hyaluronidazı engelleyerek antikanser etki gösterdiğini ve böylece kanserin yayılmasının engellendiğini iddia etmiştir. Bu iddialar Cameron ve Linus Pauling tarafından sonraki yıllarda popüler hale gelmiştir. Yaptıkları çalışmalarda; kanserli hastalara ağız yoluyla ya da intravenöz olarak askorbik asit uygulamışlar ve sonucunda askorbik asit uygulanan hastaların hayatta kalma sürelerinde 300 günlük bir artış gözlemişlerdir.^{125,126,127,128}

Charles Moertel de ağız yoluyla askorbik asit uygulayarak benzer bir çalışma yapmıştır. Çalışmanın sonucunda askorbik asitin yararlı

etki göstermediğini belirtmiştir. Yapılan çalışmalar C vitaminin anti-tümöral aktivitesini intravenöz yolla verildiğinde gösterdiğini desteklemektedir.¹²⁹

C vitamini birçok memeli türünde vücutta sentezlenmektedir. Domuzlar, maymunlar ve insanlarda ise dışarıdan besinlerle alınması gerekmektedir. Bu nedenle vücutta askorbat eksikliği ya da fazlalığı sonucu üreme sisteminde bozukluklar gözlenmektedir. Kadınlarda askorbik asitin büyük kısmı ovulasyon sırasında kullanılır. Hamileliğin ilk 3 aylık dönemi ve diğer evreleri süresince askorbik asit fetüs için gereklidir. Askorbik asit eksikliği fetüste malformasyonlara neden olmaktadır. Yüksek dozda askorbik asit uygulaması ise doğurganlığı azaltmakta ve düşük oranını arttırmaktadır.¹³⁰

Sığırlarda yapılan çalışmada C vitaminin hastalıktan koruyucu dozunun çeşitli kısırlık tipleri için yararlı olduğu izlenmiştir. Askorbik asit tedavisinin gebelik süresince sorun yaşayan hastalarda gebelik oranını %60 arttırdığı gözlenmiştir.¹³¹

Askorbik asit korpus luteumda bulunmaktadır ve uterustaki düzeyi progesteron etkisine koşturarak değişmektedir. Dişi güvercinlerde yapılan çalışmada; progesteronun foliküler büyümeyi baskılayarak üreme sistemi üzerinde engelleyici etki oluşturduğu gözlenmiştir. Aynı etki tuba uterinalarda da belirlenmiştir. Askorbik asit uygulanan grupta ise vitamin progesteronun aksine engelleyici etki göstermiştir. Ovaryum ve tuba uterinaların histofizyolojisinde ise belirgin bir değişiklik gözlenmiştir.^{132,133}

E.P. Samborskaya, genç dişi domuzlar kullanılarak yaptığı çalışmada; yüksek doz C vitamini uygulamasının üreme organlarının ağırlığında azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Askorbik asit, farelerde seksüel döngüler arasındaki süreyi uzatmakta, bazılarında ise tamamen durdurmaktadır. Aşırı dozda askorbik asit uygulanan grupta, uterus mukozasında atrofik değişiklikler ve bağ dokusunda bezlerin çevresinde proliferasyon göze çarpmıştır.¹³⁴

Bizim alışmamızda da Siklofosamid ve C vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının siklofosamid ve kanser grubuna benzediği dikkati çekmekle birlikte, bez hücrelerinin genelde mitokondriyal kristolizis dışında normal yapıda oldukları görülmüştür. Bu gruba ait tuba uterina doku örneklerinde ise yapının biraz daha normale döndüğü izlenirken, yine de bazı hücrelerde apoptotik cisimlerin varlığı belirlenmiştir. Epitel hücrelerinin sitoplazmalarında yaygın lipid damlacıklarının varlığı dikkati çekmiştir. Kanser uygulaması yapılan grupta izlenen st sıra yoğun hücre katmanı bu grupta da görülmüştür.

Bulunduğu ilk yıllarda fertiliteden sorumlu bir vitamin olarak kabul edilen E vitaminin ilerleyen zamanda antioksidan etkili bir vitamin olduğu görülmüştür. Yapılan alışmalarda E vitaminin; radikal giderme, zincir kırma, baskılama, onarma, hücresel kinaz kayıplarını nleme ve endojen savunmayı arttırma mekanizmalarının tümünü kullanabildiği, bu nedenle geniş bir antioksidan etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır.¹³⁵

İn vitro çalışmalar, E vitamininin en iyi bilinen bileşeni α - tokoferolün meme kanserini önlemede düşük bir etkiye sahip olduğunu, buna karşın α -TEA ve vitamin E suksinat (VES)'in ise tümör hücrelerinin büyümesini engellemede ve apoptozisi uyarmada daha etkin olduğunu belirtmiştir.¹³⁶

Hayvan ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar tokoferollerin deri, mide, mesane, kolon, karaciğer, akciğer ve prostat kanseri gibi, deneysel olarak oluşturulan veya spontan oluşan tümörlerin gelişmesinde geciktirici ve iyileştirici etkisini göstermektedir.^{137,138,139,140}

Kimberly Kline ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, E vitamininin kimyasal yapı ve biyolojik erki yönünden ayrılan bileşenlerin meme kanseri üzerine olan etkisini araştırmışlar ve kanser hücrelerinin apoptozise gitmesine neden olduklarını göstermişlerdir.¹⁴¹

Evans ve Bishop, gebe sıçanlarda E vitamini eksikliğinin malformasyonlara ve fetal rezorpsiyonlara neden olduğunu belirtmişlerdir. Raychaudhuri ve Desai ise uzun süren E vitamini eksikliğinin geri dönüşümü olmayan kısırlığa neden olduğunu göstermiştir. Hayvanlarda üreme sistemindeki E vitamini eksikliği, dişi sıçanların uterus ve tuba uterinalarında seroid benzeri kahverengi pigmentlerin görünümü ile ilişkilendirilmiştir. Bu amaçla, D. Desai ve arkadaşları uzun süre E vitamini almamış sıçanlarda seroid benzeri pigmentlerin dağılımlarını araştırmışlardır. E vitamini eksik grupta kontrol grubuna karşın belirgin farklılıklar göze çarpmıştır. Bunlar; vücut ağırlığında azalma, abdominal yağ oranında artış ve uterus ve tuba uterinalar boyunca gözlenen

pigmentasyonlardır. Bu durumun E vitamini uygulanmaya başlansa bile yaklaşık 60 gün boyunca sürdüğü gözlenmiştir.^{142,143,144}

P. Das ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, 30 günlük sıçanları 70 gün süresince E vitamini içermeyen besinlerle beslemişlerdir. Vitamininin etkisini gözlemlemek ereğiyle bir grup deneğe 49 günlük E vitaminsiz beslenmenin ardından 25 gün normal beslenme uygulanmıştır ve bu durumun ovaryum ve uterus dokusuna etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar; eksik diyetle beslenen deneklerde uterus ağırlığında azalma, östrojen, LH ve östrojene bağlı uterus enzimleri alkalik fosfataz ve peroksidazda azalma ve ovaryumun Graaf foliküllerinde azalma şeklinde belirlenmiştir. Evans ise E vitamini eksik uterusda doğal desiduom görülme oranının normal uterusu karşı arttığını göstermiştir.¹⁴⁵

Mary Margaret ve Ogilvy Barrie çalışmalarında, E vitamini eksik beslenen hayvanlarda zamanla uterusu gözlenen değişiklikleri ortaya koymuşlardır. 4 aylık diyetin sonucunda uterus boyutunda hafif bir artış ve normal uterus renginde bozulma, 5 ve 6. ayın sonunda ise bozukluklarda belirgin bir artış izlenmiştir. Ek olarak kas katmanındaki pigmentte de değişim gözlenmiş ve bunun kas katmanının bozulması ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Uzun süren E vitamini eksikliğinin uterus kas katmanında fibrozise neden olduğu bildirilmiştir.¹⁹

Bizim çalışmamızda Siklofosamid ve E vitamini uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının kontrol grubunda eşdeğer olduğu ayırt edilmiştir. Aynı gruba ait tuba uterina dokusunda ise epitelin biraz daha normal sıralanma gösterdiği ayırt

edilirken, lümende dökülmüş epitel hücreleri ve yine epitel hücrelerinde yaygın vakuolizasyon dikkati çekmiştir. Epitel hücre mitokondriyonlarında kristolizis ve lipid damlacıkları daha enderdi. Epitelde koyu ve açık renk boyanan hücre farklılığı ilgiyi çekmesine karşın, hücre yan yüz bağlantıları ve apikal yüz farklanmaları oldukça normal olduğu görülmüştür.

Selenyumun kansere karşı etkisi ilk olarak Shamberger ve Frost tarafından 1969 yılında bulunmuştur. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada yüksek oranda selenyum alımı olan insanlarda kanser görülme oranında azalma olduğunu belirtmişlerdir. İki yıl sonra aynı araştırmacılar daha geniş çapta bir araştırma yapmışlar ve ABD’de düşük selenyum içeren ekinlerin toplandığı bölgelerde yaşayan insanların, yüksek selenyum içeren ekinlerin toplandığı bölgelerdekilere göre lenfoma, gastrointestinal sistem, periton, akciğer ve meme kanserlerine bağlı ölüm oranlarının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Schrauzer ve arkadaşları 27 ülkede yaptıkları çalışmalar sonucunda kişi başına alınan selenyum miktarı ile lösemi, meme, ovaryum, akciğer ve kolorektal kansere bağlı ölüm oranları arasında ters ilişki olduğunu göstermişlerdir. Ancak bunun mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır.^{146,147,148}

Suzana S ve arkadaşları, selenyum ve meme kanseri hastalarındaki kullanımını araştırmak ereğiyle bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada; selenyum ayak tırnağı ve saç analizleri ile belirlenmiştir. Hastalarda meme kanseri riskinin selenyum alınınının artmasıyla azaldığı gözlenmiştir.¹⁴⁹

Dişilerde selenyum eksikliği infertilite, düşük, plesentanın durdurulması ile sonuçlanmaktadır. Selenyum eksikliği gözlenen kadınların çocuklarında kaslarda zayıflık gözlenmektedir. Yapılan çalışmalar da gebelik süresince uygulanan selenyumun bebeğin ağırlığında ya da gebelik döneminin uzunluğuna bir etkisinin olmadığını göstermektedir.¹⁵⁰

Siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan gruba ait uterus doku örneklerinde yapılan incelemelerde, yapının oldukça dejenere olduğu dikkati çekmiştir. Bu gruba ait örneklerde salgılamının aktif olarak yapıldığı ve GER tubuluslarında aşırı genişleme olduğu gözlenmiştir.

Siklofosfamid ve C ile siklofosfamid ve E vitamini, Siklofosfamid ve C ile siklofosfamid ve selenyum, siklofosfamid ve E vitamini ile siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan grupların uterus duvar kalınlığı ortalamaları istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p=0,778$; $p=0,112$ ve $p=0,751$). Aynı gruplar arasında uterus endometriyum kalınlığı ortalamasında da anlamlı bir fark yoktur istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p=1,000$; $p=0,070$ ve $p=0,085$). Bu gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada da tuba uterina duvar kalınlığı ortalamaları benzer bulunmuştur ($p=0,219$; $p=1,000$ ve $p=0,156$).

319-358 kDa ağırlığında, nükleer nanhiston bir protein olan Ki-67 bir proliferasyon belirleyicisidir. Hücre döngüsünün aktif evrelerinde (G1, S, G2, M) eksprese edilir. G0 evresindeki hücrelerde bulunmaz. Bu nedenle normal ve neoplastik dokularda, büyüme fraksiyonundaki hücreleri göstermede iyi bir belirleyicidir. Hücre döngüsündeki Ki-67

ekspresyonu ilk olarak G1 evresinin geç döneminde ortaya çıkar ve sonraki tüm evrelerde pozitif olarak gözlenir. Bu protein normal ya da tümöral bütün proliferatif hücrelerde boyanma özelliği gösterir.^{151,152,153}

Salmi ve arkadaşları çalışmalarında, menstrual döngü süresince endometriyumda ve gebelik süresince desiduada c-jun mRNA ve Ki-67 ifadesini araştırmışlardır. Proliferatif endometriyumda, fibroblast benzeri bağ dokusu hücrelerinde olduğu gibi yüzey ve bez epitelinde yoğun c-jun ekspresyonu gözlemişlerdir. Erken luteal evre süresince epitelyum ve bağ dokularında yoğun tutulum göze çarpmıştır. Orta ve geç sekretuar evrelerde ise tutulum yüzey ve bez epitelinde azalmış ancak bağ dokusunda değişmemiştir. Menstrual döngü evrelerinden bağımsız olarak endometriyum endotel hücrelerinde ve miyometriyum kas hücrelerinde düşük tutulum izlenmiştir. Erken gestasyonel evrede, c-jun mRNA bez epitel hücreleri ve desidual bağ dokusu hücrelerinde zayıf tutulum göstermiştir. Menstrual döngü boyunca c-jun çekirdek tutulumu yüzey ve bez epitelinde ve bağ dokusu hücrelerinde belirlenmiştir. Araştırmacılar, döngüsel endometriyumda ve gebelik desiduasında Ki-67 ekspresyonunun c-jun mRNA ekspresyonuna bağlı olduğunu gözlemişlerdir. Ki-67 immunreaktivitesi foliküler evre süresince yüzey epitelinde ve fonksiyonel tabakanın bağ dokusu ve bez hücrelerinde yoğun tutulum gösterirken, bazal tabakada çok az sayıda tutulum göstermiştir.¹⁵⁴

Kaspazlar apoptotik programın merkezi bileşenidir. Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin efektör kaspazları baskılayarak apoptozu engellediği gösterilmiştir. İnhibitörler kaspazlardan ayrı olarak transkripsiyon faktörlerin modülasyonu ve hücre döngüsünün denetiminde de yer alarak apoptozu engellediği bilinmektedir. Bu

inhibitörler özellikle tümör hücrelerinde aşırı olarak izlenirler. Kaspazlar, proteinleri yalnızca aspartik asit bulunan bölgelerden keser, bu nedenle c-asp-ases adını almışlardır.¹⁵⁵

Endometriyum'un yenilenme ve gerileme evrelerinde belirgin apoptozisin gözleendiği hücre tipleri, bunların endometriyumdaki yerleşimi ve menstrual döngünün hangi evresinde gözleendiği üzerine birçok araştırma yapılmıştır.¹⁵⁶

Apoptotik hücreler ilk olarak 28 günlük döngünün 20. gününde göze çarpmış ve 24. gün civarında en üst düzeye ulaşmıştır. Menstruasyon öncesi ve süresince birçok hücrede apoptozis gözleendiği belirgindir. Ek olarak, sekretuar evrede endometriyum bazal katmanında da dökülme görülmemesine karşın apoptozise rastlanmış ve ilerde proliferatif evrede fonksiyonalis katmanının büyüyeceği endometrial hücre kaynakları şeklinde davrandığı saptanmıştır.¹⁵⁷

İnsanlarda ve maymunlarda yapılan çalışmalarda normal menstrual döngü süresince VEGF'nin rolü ile ilgili bulgular giderek artmaktadır. Shifren ve arkadaşları, insan endometriyumunda menstrual döngüde mRNA'da ve protein değerlerinde VEGF saptamışlardır. Bu değerler proliferasyon evesinde artış gösterirken, sekresyon evresinde en üst ekspresyonunu göstermiştir.^{158,159}

Torry ve arkadaşları VEGF izoformları arasında karşılaştırılabilir farklılıklar bulmuşlardır; sekresyon izoformları VEGF121

ve VEGF165 çoğunlukla saptanabile mRNA'lardır. VEGF189 mRNA çok az sayıda gözlenirken, VEGF206 mRNA gözlenmemektedir.¹⁶⁰

Maymunlarda yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda; VEGF, bez epitel hücrelerinin sitoplazmasında ve küçük kan damarlarının duvarları ile ilişkili endometriyal bağ dokusunda izlenmiştir. Aynı araştırmacılar VEGF proteini ve mRNA değerlerinin steroid ortamdan etkilendiğini kanıtlamışlardır. Buna göre maymun endometriyumunda VEGF proteinin boyanması ve VEGF189 mRNA ekspresyonu büyük oranda progesteron yoğunluğuna bağlıdır ve anovulatuvar evrede fazlasıyla düşüş göstermektedir.¹⁶¹

Yapılan diğer çalışmalarda, VEGF mRNA'nın döngüsel ekspresyonunun, birçok türde ovaryumlardaki, farelerde ise uterustaki kan damarlarının proliferasyonu ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir.

162,163,164

Bu çalışmalar, dişi üreme sisteminde VEGF'nin kan damarlarının döngüsel büyümesindeki aracı rolünü göstermektedir.¹⁵⁸

Jan Steffen Krussel ve arkadaşları yaptıkları çalışmada vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) reseptörleri flt, KDR ve sflt'nin menstrual döngü süresince endometriyumda mRNA ekspresyonunu ölçmeyi ve belirlemeyi amaçlamışlardır. Yeni damar oluşumu embriyonik implantasyon süresince çok önemlidir ve araştırmacılar endometriyumda VEGF tutulumunun implantasyona destek amacıyla luteal evre boyunca

değiştiğini düşünmektedirler. Çalışmada insan endometriyum örnekleri erken, orta ve geç proliferasyon, erken, orta ve geç sekresyon evrelerinde alınmış ve gruplara ayrılmıştır. Transmembranöz reseptörler flt1 ve KDR menstrual döngü süresince sabit değerlerde gözlenirken, çözülebilir resptör sflt, orta proliferasyon ve geç proliferasyon evrelerinde, erken proliferasyon ve sekresyonun tüm evrelerine karşın 3 kat fazla transkripsiyon düzeyi göstermiştir.¹⁵⁸

H. Winter ve arkadaşları, VEGF, Flt-1 ve KDR reseptörlerinin uterustaki yerleşimini immunohistokimyasal olarak incelemişlerdir. Uterus yüzey epitelinde ve kan damarları düz kas hücrelerinde hafiften yoğunla doğru boyanma özelliği gözlemişlerdir. Çalışmada, luteal evrede arterler ve arteriollerin endotel hücrelerinde Flt-1 ve KDR işaretlenmesi gözlenirken, uterus bez epitelinde yoğun KDR immunreaktivitesi gözlenmiştir. Benzer şekilde uterus bez epitelinde boyanma izlenmiştir ancak aynı uterusta farklı bezlerde yoğunluk farkı dikkat çekmiştir. Araştırmacılar bunun nedeninin bez aktivitesinde farklılıklar sonucu olabileceğini düşünmüşlerdir.¹⁶⁵

Normal bir yetişkinde, VEGF önemli bir yara iyileştiricisidir ve endometriyumda proliferasyon evresinde eksprese olmaktadır. Geçirgenlik faktörü olarak VEGF tuba uterina'da, ovaryum foliküllerinde ve korpus luteumda üreme fonksiyonuyla ilgili işleve sahiptir. VEGF düzeyleri hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinker gibi çeşitli faktörlerin etkisi altındadır.¹⁶⁶

JD Gordon ve arkadaşları VEGF'nin vasküler geçirgenliği artırma yeteneğinin tuba uterina sıvısının üretiminde önemli bir etken olduğunu düşünmüşlerdir. Bu düşüncelerini sorgulamak amacıyla menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınların tuba uterinalarında VEGF ekspresyonlarını incelemişlerdir. VEGF'nin immunohistokimyasal analizleri insan VEGF'sine etkili tavşan poliklonal antikor uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Menopoz öncesi ve sonrası kadınlarda, tuba uterinaların lümen epiteli, düz kas hücreleri ve küçük ve geniş kan damarlarını çevreleyen perisitler ve ovaryum hilusu VEGF'ye özgü boyanma özelliği göstermiştir. Bu bilgiler ışığında, tuba uterinada lümeni çevreleyen epitelde bulunan VEGF'lerin vasküler geçirgenliği arttırdığı ve salgılamayı düzenlediği anlaşılmıştır.^{167,168}

Po Mui ve arkadaşları çalışmalarında, ovaryum döngüsü süresince tuba uterina'nın çeşitli bölgelerinde VEGF'nin durumunu ve VEGF mRNA ekspresyonundaki değişiklikleri araştırmışlardır. Yaptıkları immunohistokimyasal çalışma sonucunda VEGF'nin yüzey epitelinde, düz kas hücrelerinde ve kan damarlarında tutulumu belirlenmiştir, sitoplazmik VEGF boyanması ise tuba uterina'nın her bölgesinde ve ovaryum döngüsünün bütün evreleri boyunca gözlenmiştir. VEGF mRNA ekspresyonunun ise en yüksek periovulatuvar evre boyunca ampulla ve infundibulumda isthmus'a oranla daha yoğun belirlenmiştir. Araştırmacılar ayrıca, VEGF mRNA ekspresyonu ve serum FSH ve LH yoğunlukları arasında pozitif ilişki gözlemlerken, VEGF mRNA ekspresyonu ve serum östrodiol ve progesteron yoğunlukları arasında belirgin bir ilişki gözlemlemişlerdir. Bunun sonucu olarak araştırmacılar, VEGF'nin tuba uterina'da özellikle ampulla bölgesinde FSH ve LH düzeylerinin yüksek olduğu periovulatuvar evrede üremeye yardımcı olarak önemli işleve sahip olduğunu düşünmüşlerdir.¹⁶⁹

İmmunohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda uterus dokusunda hücre çoğalmasının özellikle siklofosfamid uygulanan grupta azaldığı; benzer şekilde Kaspaz 3 tutulumunun da diğer gruplara göre azaldığı antioksidan kullanımının ise bu etkiyi belirli ölçülerde değiştirdiği gözlemlendi. VEGF tutulumunun ise gruplar arasında belirgin farklılıklar göstermediği dikkati çekti.

İstatistiksel değerlendirmelerde, uterus dokusundaki Ki-67 boyanması incelendiğinde gruplar arasında epitel tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,001$). Kontrol grubuna karşı siklofosfamid uygulaması yapılan grupta tutulum daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Bu dokuya ait Kaspaz-3 tutulumu incelendiğinde gruplar arasında fark görüldü ve bu fark anlamlıydı ($p<0,001$). Uterus VEGF tutulumu incelendiğinde ise kontrol ve kanser gruplarına karşı istatistiksel fark anlamlıydı ($p=0,007$ ve $p<0,01$).

Tuba uterina dokusunda yaptığımız immunohistokimyasal değerlendirmelerde; hücre çoğalmasının gruplar arasında belirgin farklılıklar göstermediği, buna karşı özgün olmayan tutulumlara rastlandığı dikkati çekti. Kaspaz-3 tutulumu ise kanser grubunda diğer gruplara göre daha yoğun izlendi. Siklofosfamid ve antioksidanların kullanımının ise tutulumu azalttığı belirlendi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, VEGF tutulumunun ise siklofosfamid uygulanan grupta son derece zayıf olduğu görüldü.

İstatistiksel değerlendirmelerde, tuba uterina dokusundaki Ki-67 boyanması incelendiğinde gruplar arasında epitel tutulumu açısından

istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Aynı şekilde gruplar arasında tuba uterina Kaspaz-3 tutulumu da istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Gruplar arasında tuba uterinada VEGF tutulumu da istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$).

6. SONUÇ

Çalışmamızda, ince yapı düzeyinde Ki-67, VEGF ve Kaspaz-3 ile yaptığımız immün boyamalar sonucunda meme kanserinin uzak doku olarak uterus ve tuba uterinalarda artan Ki-67 ve VEGF ekspresyonu nedeniyle bu dokularda hücre proliferasyonu ve vaskülogenezin artması sonucunda olası metastazsa neden olabileceği sonucuna vardık. Ayrıca ince yapı bulguları da hücresel dejenerasyonu göstermekle birlikte meme kanserinin uzak dokuda harabiyete neden olabileceğini düşündürdü.

Koruyucu etkisini araştırdığımız antioksidanlardan ise, antikor ekspresyonlarının kontrole eşdeğer dönüşümü ve ince yapı bulguları göze alındığında, selenyumun en iyi etkiyi gösterdiği ve bunu E vitamini ve C vitaminin izlediği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, MNU ile oluşturulan meme kanserinin ve sonrasında uygulanan kemoterapinin uterus ve tuba uterina dokularında hücresel dejenerasyon ve proliferasyona neden olduğu ve apoptozisi yer yer tetiklediği görülmüş, buna karşın antioksidanların bu etkileri göreceli olarak azalttığı ışık mikroskopik, elektron mikroskopik ve istatistiksel olarak izlenmiştir.

7. ÖZET

Günümüzün oldukça önemli hastalıklarından biri olan meme kanseri, dünya genelinde kadın kanserleri açısından ele alındığında en yaygın kanser türü olarak nitelendirilmektedir. Meme kanseri çalışmalarında, MNU ile oluşturulmuş meme karsinoma modelleri geniş kullanım alanına sahiptir.

Siklofosfamid meme kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoterapik bir ajandır. Mitoz bölünmeyi durdurarak kanser hücrelerinin büyümesini engellemektedir. Siklofosfamid ve diğer kemoterapik ilaçların uzun süreli yan etkileri ile ilgili endişeler bulunmaktadır.

Bu çalışmada, genç sıçanlarda Siklofosfamid uygulamasının, MNU ile meme kanseri oluşturulan deneklerin uterus ve tuba uterina yapısına verebileceği hasar ile antioksidan özellikleri bilinen C vitamini, E vitamini ve selenyumun olası koruyucu etkilerinin istatistiksel, immunohistokimyasal ve ince yapı düzeyinde karşılaştırmalı olarak ortaya konulması amaçlandı. Bu nedenle hücre çoğalmasını değerlendirmek için Ki 67, apoptozisin belirlenmesi için Kaspaz-3 ve anjiyogenezi belirlemek için VEGF primer antikorları kullanıldı.

İmmunohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda uterus dokusunda hücre çoğalmasının özellikle siklofosfamid uygulanan grupta azaldığı; benzer şekilde Kaspaz 3 tutulumunun da diğer gruplara göre azaldığı antioksidan kullanımının ise bu etkiyi belirli ölçülerde değiştirdiği

gözlendi. VEGF tutulumunun ise gruplar arasında belirgin farklılıklar göstermediği dikkati çekti. Yarı ince kesitler üzerinde yapılan değerlendirmelerde, kanser grubu ve siklofosfamid uygulanan grupların epitel boylarında kısalma ve apoptotik cisimlerin varlığında artış izlendi. Antioksidan kullanımında ise genel yapı biraz daha normal görüldü.

Tuba uterina dokusunda yaptığımız immunohistokimyasal değerlendirmelerde; hücre çoğalmasının gruplar arasında belirgin farklılıklar göstermediği, özgün olmayan tutulumlar olduğu dikkati çekti. Kaspaz-3 tutulumu ise kanser grubunda karşın gruplara göre daha yoğunluğundu. Siklofosfamid ve antioksidanların kullanımının ise tutulumu azalttığı belirlendi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, VEGF tutulumunun ise siklofosfamid uygulanan grupta son derece zayıf olduğu görüldü. Yarı ince kesit değerlendirmelerde kanser grubu ve siklofosfamid uygulanan gruplarda hücrelerde yoğunluk farkı dikkati çekti, kanser grubunda ise bu duruma ek olarak iri vakuollere rastlandı. Antioksidan kullanımında ise yapının biraz daha normale döndüğü izlendi.

Yaptığımız elektron mikroskopik değerlendirmeler sonucunda elde ettiğimiz veriler de tüm bu bulguları destekler nitelikteydi.

Sonuç olarak, MNU ile oluşturulan meme kanserinin ve sonrasında uygulanan kemoterapinin uterus ve tuba uterina dokularında hücresel dejenerasyon ve proliferasyona neden olduğu ve apoptozisi yer yer tetiklediği görülmüş, buna karşın antioksidanların bu etkileri göreceli olarak azalttığı izlenmiştir.

8. SUMMARY

Breast cancer is one of the important disease and the most common type of cancer in woman worldwide. In breast cancer studies, breast carcinoma models created with MNU has a wide application areas.

Cyclophosphamide is a frequently used chemotherapeutic agent in the treatment of breast cancer. It prevents mitosis by blocking growth of cancer cells. Concerns exist about long term side effects of cyclophosphamide and other chemotherapeutic drugs.

In this study our aim is to investigate the damage that cyclophosphamide may wreak on the structure of uterus and fallopian tube tissues in MNU induced breast cancer experimental animals and also we aimed to prove the potential protective effects of vitamin C, Vitamin E and selenium known with their antioxidant properties by statistical, immunohistochemical and electron microscope level. Therefore, Ki-67 primary antibody was used to determine the cell proliferation, Caspase-3 antibody was used to determine the apoptosis and VEGF primary antibody was used to determine the angiogenesis.

As a result of immunohistochemical assessments of uterine tissue; cell proliferation was decreased especially in cyclophosphamide applied group, in a similar way caspase-3 involvement was decreased too than the other groups but in the use of antioxidants these effects were changed in a certain extent. VEGF involvement did not show significant

differences between groups was noticed. In evaluations made on the semi-thin sections, shortening of epithelial height and increase in the presence of apoptotic bodies was monitored in the cancer group and cyclophosphamide applied group. In the use of antioxidants a little more normal overall structure were seen.

In immunohistochemical evaluations of fallopian tube, cell proliferation did not differ significantly between groups and non-specific involvement was noticed. Involvement of caspase-3 in cancer group was heavier than other groups. Use of cyclophosphamide and antioxidants reduce the involvement was determined. Compared with other groups, VEGF involvement in cyclophosphamide applied group has seen extremely weak. In semi-thin sections of evaluations, in cancer group and cyclophosphamide applied group, difference in density of cells was noticed, in addition large vacuoles also were seen in cancer group. The structure is seen turn back to a bit normal on the use of antioxidants.

Our datas which have been achieved as a result of electron microscopic assessments also supports the findings of all these studies.

As a result, in MNU induced cancer and then applied chemotherapy, caused cellular degeneration, also triggered apoptosis in uterus and fallopian tissues was seen, where as antioxidants reduced these effects relatively was monitored.

9. KAYNAKLAR

1. Cascatio DA, Lowitz BB. Klinik Onkoloji El Kitabı. Manavoğlu O (Çev), 1. Basım, Ankara, Palme Yayıncılık, 2007.
2. Baider L, Andritsch E, Uziely B, Ever-Hadani P, Goldzweig G, Hofmann G, Samonigg H, et al. Do different cultural settings affect the psychological distress of women with breast cancer? A randomized study. European Journal of Cancer Care. 2003; 12 (3): 263-273
3. Baum M. The changing face of breast cancer-past, present and future perspectives. Breast Cancer Research and Treatment. 2002; 75: 1-5
4. Guarneri V, Conte PF, et al. The curability of breast cancer and the treatment of advanced disease. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. 2004; 31: 149-161
5. Kemoterapinin temel ilkeleri. Uzm. Hem. Hatice akyol. Dokuz eylül üniv. Onk. Ens pediatrik 18-22 mayıs 2004 XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı
6. Oktay K, Meirow D, et al. Planning for fertility preservation before cancer treatment. Fertility. 2007; 5: 17-22
7. Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y, Terasawa T, Kosaki G, Yamamoto T, Wada A, et al. Cyclophosphamide-induced

ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer*. 1977; 39: 1403-1409

8. Farokhi F, Sadrkhanlou R, Hasanzadeh Sh, Sultanalinejad F, et al. Morphological and morphometrical study of cyclophosphamide-induced changes in the ovary and uterus in the Syrian mice. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2007; 8 (4): 337- 342
9. Becker K, Sconeich J, et al. Expression of genetic damage induced by alkylating agent in germ cells of female mice. *Mutat. Res*. 1982; 92: 447-464
10. Byrne J, Multihill JJ, Myers MH, Connely RR, Naughton MD, Steinhorn SC, Hassinger DD, Austin DF. Effects of treatment on fertility in long-term survivors of childhood or adolescent cancer. *New Engl. J. Med*. 1987; 317: 1315-1321
11. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Derg*. 1996; 27 (1): 41-50
12. Aksoy Y. The Role of Glutathione in Antioxidant Mechanism. *T Klin J Med Sci*. 2002; 22: 442-448
13. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 1998; 4: 350-360
14. Meister A. Glutathione-Ascorbic acid antioxidant system in animals. *The Journal of Biological Chemistry*. 1994; 259: 9397-940

15. Block G. Epidemiologic evidence regarding vitamin C and cancer. American Journal of Clinical Nutrition 1991; 54: 1310-1314
16. Hurley WL, Doane RM. Recent Developments in the Roles of Vitamins and Minerals in Reproduction. J Dairy Sci. 1989; 72: 784-804
17. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. Free Radic Biol Med 2007; 43(1): 4-15
18. Guthrie N, Gapor A, Chambers AF, Carroll KK. Inhibition of proliferation of estrogen receptor negative MDA-MB-435 and – positive MCF-7 human breast cancer cells by palm oil tocotrienols and tamoxifen, alone and in combination. J Nutr.1997; 127(3): 544-548
19. Margaret M, Barrie O. The effect of vitamin E deficiency on the rat. **Biochem. J. 1938; 32: 1474-1478**
20. Papp V, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. Selenium to selenoproteins: Synthesis, identity and their role in human health. Antioxidants & Redox Signaling. 2007; 9 (7): 775-806
21. Samborskaya EP. The action of ascorbic acid on the reproductive system of laboratory animals. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 1963; 54 (4):1164-1167
22. Tosun M, Tosun E, Avunduk A. Hücre çoğalma belirleyicilerinin önemi ve kullanım alanları. T Med Sci. 2001; 21: 235-244

23. Gerdes J, Li I, Schlueter C, Duchrow M, Claduida W, Christiane Gerlach, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad H-D. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. American Journal of Pathology. 1991; 138: 867-873
24. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. Toraks Dergisi. 2001; 2 (1): 91-95
25. Janicke RU, Sprengart ML, Wati MR, Porter AG. Caspase-3 Is Required for DNA Fragmentation and Morphological Changes Associated with Apoptosis. The Journal of Biological Chemistry. 1998; 273: 9957-9960
26. Yazır Y. Vasküler endotel büyüme faktörü (Vegf): Reseptörleri ve Fonksiyonları. CÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2007; 29 (3): 128-136
27. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Oosterom ATV, Bruijn EA. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. Pharmacol Rew. 2004; 55: 549-580
28. Moore KL, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Çev), 6.Baskıdan Çeviri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002
29. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çev), 9. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2005

30. Vainio S, Heikkila M, Andreas K, Chin N, McMahon AP. Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. Nature. 1998; 397: 405-409
31. Berkman S, Topuz S, editörler. Jinekoloji. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004
32. Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürek M. İnsan Embriyolojisi. Alfa Basım Yayım Dağıtım; 1992.
33. Gürel A. Menstrüel Siklusa Tuba Uterina'da Epidermal Büyüme Faktör Reseptörlerinin Dağılımlarının İmmünohistokimyasal Olarak Gösterilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
34. Snell SR. Clinical Embryology for Medical Students. Little, Brown and Company; 1975.
35. Taşkinalp O. Kadın Genital Sistemi. İçinde: Gökmen Gövsa F, editör. Sistemik Anatomi. İzmir: İzmir Güven Kitabevi; 2003
36. Snell RS. Klinik Anatomi. Yıldırım M (Çeviri Editörü), 6.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004
37. Sancak B, Cumhuriyet M. Fonksiyonel Anatomi Baş, Boyun ve İç Organlar. 2. Baskı. Ankara: Odtü Geliştirme Vakfı Yayıncılık; 1999
38. Ozan H. Ozan Anatomi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004
39. Moore KL, Dalley AF. Kliniğe Yönelik Anatomi. Şahinoğlu K (Çeviri Editörü). 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2007

40. Ovale WK, Nahirney PC. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörleri). Güneş Tıp Kitabevi; 2004
41. Erdoğan D, Görgün M, Hatipoğlu T, Ilgaz C. Özel Histoloji. 2. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 2007
42. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S (Çeviri Editörleri). 10. Baskıdan Çeviri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2006
43. Erkoçak A. Özel Histoloji Dolaşım Lenfatik-İç Salgı-Üriner-Genital ve Sinir Sistemleri. Ankara: Ankara Üniversitesi; 1984
44. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş. Demir R (Çeviri editörü). Ankara: Palme Yayıncılık; 2006
45. Turhan F. Menstrüal Döngüde Sıçan Uterus Yapısındaki Elektron Mikroskopik Değişiklikler. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007
46. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA Editörler. Fizyoloji.Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çeviri). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008
47. Yakar K. Fizyoloji. 5. Baskı. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; 2003
48. Cumhuriyet M, Yener N, Tuncel M, editörler. Temel Anatomi. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık; 2001

49. İnan VS, Vatansever HD, Özbilgin MK, Yurtseven M, Tuncel M. İnsan Tuba Uterina Epitelinin Morfometrik ve Ultrastrüktüel Olarak Değerlendirilmesi. T Klin Tıp Bilimleri. 2000; 20: 347-355
50. Akay MT. Sitoloji. Palme Yayıncılık; 2007
51. Evirgen O, Tekelioğlu M, Küçükali M, Bahçeci M. İnsan Tuba uterina Ampulla ve Fimbriya Bölgeleri Mukoza Epitelinde Menstruel Siklus Süresince Meydana Gelen Ultrastrüktürel Değişiklikler. Ank Üniv Tıp Fak Mec. 1997; 50 (4): 181-185
52. Sulak O, Malas MA, Esen K, Çetin E, Özgüner HM, Cankara N. İnsan Fetuslarında Tuba uterina Morfolojisi: Morfometrik Işık Mikroskopu Çalışması. SDÜ Tıp Fak Derg. 2005; 12 (1): 47-51
53. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çev). 20.Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002
54. Eroschenko VP. Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle. Demir R (Çeviri Editörü) Dokuzuncu Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2001
55. Attar E, Ata B, editörler. Gornel'in Jinekolojisi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007
56. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ (Çeviri Editörleri). 11. Baskı. Yüce Yayım; 2007
57. Gartner LP. Hiatt JL. Color Textbook of Histology. Second Edition. WB Saunders Co; 2006

58. Aydınluğ S. Meme kanserinde erken tanı. STED. 2004; 13: 226-228
59. Sönmezer M, Oktay K, et al. Fertility preservation in young women undergoing breast cancer therapy. The Oncologist. 2006; 11: 422-434
60. Borgen PI, Wong GY, Vlaims V, Potter C, Hoffmann B, Kinne DW, et al. Current management of male breast cancer. Ann Syrg 1992; 215(5): 451-457
61. Çayırıcı MT. Memenin İnvaziv Duktal Karsinomlarında Siklin D1 ve p21 WAF1'in Prognostik Faktörler ve Tamoksifen Direnci ile İlişkisi. Uzmanlık tezi. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü; 2007
62. Tural Ş, Güneş S, Büyükalpelli R, Bağcı H. Mesane Kanseri Olgularında H-ras Proto-onkogen Polimorfizmi. Türk Üroloji Dergisi. 2006; 32 (1): 14-18
63. Pinsky SD, Tew KD, Smulson ME, Woolley PV. Modification of L1210 Cell Nuclear Proteins by 1-Methyl-1-nitrosourea and 3-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine. Cancer Research. 1979; 39: 923-928
64. Lee S, Simpson M, Nimmo M, Xu Z. Low Zinc Intake Suppressed N-Methyl-N-Nitrosourea-Induced Mammary Tumorigenesis in Sprague-Dawley Rats. Carcinogenesis. 2004
65. Thompson HJ, Adlakha H. Dose-responsive Induction of Mammary Gland Carcinomas by the Intraperitoneal Injection of 1-Methyl-1-nitrosourea. Cancer Research. 1991; 51: 3411-3415

- 66.** Lu S-J, Archer MJ. Ha-ras oncogene activation in mammary glands of N-methyl-N-nitrosourea-treated rats genetically resistant to mammary adenocarcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1992; 89: 1001-1005
- 67.** Hatwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science.* 1994; 266 (5192): 1821-1828
- 68.** Gürgen SG. Kemoterapi Uygulamasının Sıçan Ovaryum Follikülleri Üzerine Etkisi ve Çeşitli Antioksidanların Koruyucu Rollerinin Yapısal ve İmmunohistokimyasal Düzeyde Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2009
- 69.** Chu E, DeVita VT. Principles of cancer management: Chemotherapy. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA; eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001
- 70.** Pratt WB, Ruddon RW, Ensminger WD, Maybaum J. *The Anticancer Drugs.* 2nd edition. Oxford University Press; 1994
- 71.** Perry MC. *The Chemotherapy Source Book.* Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins; 2001
- 72.** Braybrooke JP, Slade A, Deplanque G, Harrop R, Madhusudan S, Forster MD, Gibson R, Makris A, Talbot DC, Steiner J, White L, Kan O, Naylor S, Carroll MW, Kingsman SM, Harris AL, et al. Phase I Study of MetXia-P450 Gene Therapy and Oral Cyclophosphamide for Patients with Advanced Breast Cancer or Melanoma. *Clinical Cancer Research.* 2005; 11: 1512-1520

73. Yu LJ, Drewes P, Gustaffson K, Brain EGC, Hecht JED, Waxman DJ, et al. In Vivo Modulation of Alternative Pathways of P-450-Catalyzed Cyclophosphamide Metabolism: Impact on Pharmacokinetics and Antitumor Activity. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 1999; 288: 928-937
74. Lopez SG, Luderer U. Effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine on ovarian glutathione and apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2004; 36: 1366-1377
75. Seven A, Candan G. Antioksidan Savunma Sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi* 1996; 27 (1): 41-50
76. Woods JR, Plessinger MA, Miller RK. Vitamins C and E: Missing Links in Preventing Premature Rupture of Membranes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2001;185: 5-10
77. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stres in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2005; 3: 28
78. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Basım. Konya. Mimoza Yayım. 2004
79. Delabar JM, Nicole A, D'Auriol L, Jacob Y, Meunier-Rotival M, Galibert F, Sinet PM, Jerome H. Cloning and sequencing of a rat CuZn superoxide dismutase cDNA. Correlation between CuZn superoxide dimutase mRNA level and enzyme activity in rat and Mouse tissues. *Eur J Biochem*. 1987; 166 (1): 181-187

80. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.*1984; 15(1):1-15
81. Rose RC, Bode M. Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *Faseb J.* 1993; 7: 1135-1142
82. Meister A. Glutathione-Ascorbic acid antioxidant system in animals. *The Journal of Biological Chemistry.* 1994; 259: 9397-9400
83. Özden Er H, Çelik C. Vitamin C'nin metabolik ve klinik önemi, yeni yaklaşımlar. *T Klin Tıp Bilimleri.* 1993; 13: 200-210
84. Aras K, Erşen G, Karahan S. *Tıbbi Biyokimya Vitaminler*; 1967
85. Linster CL, Schaftingen EV. Vitamin C Biosynthesis, recycling and degradation in mammals. *The FEBS Journal.* 2006; 274: 1-22
86. Murad S, Grove D, Lindberg KA, Reynolds G, Sivarajah A, Pinnell SR. Regulation of collagen synthesis by ascorbic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1981; 78 (5): 2879-2882
87. Mattill HA, Conklin R A. The nutritive properties of milk,with special reference to reproduction in the albino rat. *J. Biol.Chem.* 1920; 44: 137-158
88. Evans HM, Bishop KS. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* .1922; 56: 649–651

89. Evans HM, Emerson OH, Emerson GA. The isolation from wheat germ oil of an alcohol, -tocopherol, having the properties of vitamin E. J. Biol. Chem. 1936; 113: 319–332
90. Dündar Y, Aslan R. Bir antioksidan olarak vitamin E. Genel Tıp Derg. 1999; 9 (3); 109-116
91. Aras K, Erşen G, Karahan S. Tıbbi biyokimya. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi. 1976
92. Hasnain Walji. Vitaminler-Sağlıklı Yaşam İçin Gerekli Besinler. Duransoy N (Çev), 1.Baskı, Ankara: Dost Kitabevi Yayınları; 1992
93. Rayman MP. The importance of selenium to human health. Lancet. 2000; 356: 233–241
94. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigo R, Gladyshev VN. Characterization of mammalian selenoproteomes. Science. 2003; 300: 1439–1443
95. Papp V, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. Selenium to selenoproteins: Synthesis, identity and their role in human health. Antioxidants & Redox Signaling. 2007; 9 (7): 775-806
96. Castellano S, Lobanov AV, Chapple C, Novoselov SV, Albrecht M, Hua D, Lescure A, Lengauer T, Krol A, Gladyshev VN, Guigo R. Diversity and functional plasticity of eukaryotic selenoproteins: identification and characterization of the SelJ family. Proc Natl Acad Sci. 2005; 102: 16188–16193

- 97.** Saito Y, Yoshida Y, Akazawi T, Takahashi K, Niki E. Cell death caused by selenium deficiency and protective effect. The Journal Of Biochemical Chemistry. 1993; 278 (41): 39428-39434
- 98.** Tosun M, Tosun E, Avunduk A. Hücre çoğalma belirleyicilerinin önemi ve kullanım alanları. T Med Sci. 2001; 21: 235-244
- 99.** Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MHG, Key G, Flad H-D, Gerdes J. The Cell Proliferation-associated Antigen of Antibody Ki-67: A Very Large, Ubiquitous Nuclear Protein with Numerous Repeated Elements, Representing a New Kind of Cell Cycle-maintaining Proteins. The Journal of Cell Biology. 1993; 123: 513-522
- 100.** Hayat MA. Microscopy, immunohistochemistry and antigen retrieval methods. For light and electron microscopy. 2003
- 101.** Gökdemir A. Kemiğin Dev Hücreli Lezyonlarında Hücre Siklus Proteinlerinin (Siklin D1, Siklin D3, P21, P27) ve Ki-67'nin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi. Adana. 2006
- 102.** Tomatır AG. Apoptoz: Programlı hücre ölümü. T Klin Tıp Bilimleri. 2003; 23: 499-508
- 103.** Geske FJ, Gerschenson LE. The biology of apoptosis. Hum Pathol. 2001; 32 (10): 1029-1038
- 104.** Los M, Walczak H. Caspases: Their role in cell death and cell survival. Landes Bioscience. 2002

- 105.** Fuentes-Prior P, Salvesen GS. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J.* 200; 384: 201–232
- 106.** Gürgen SG. Kemoterapi uygulamasının sıçan ovaryum follikülleri üzerine etkisi ve çeşitli antioksidanların koruyucu rollerinin yapısal ve immünohistokimyasal düzeyde belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara. 2009
- 107.** Peluffo MC, Busman L, Stouffer RL, Tesone M. expression of caspase -2,-3,-8 and -9 proteins and enzyme activity in the corpus luteum of the rat at different stages during the natural eustros cycle. *Reproduction.* 2006; 132: 465-475
- 108.** Ataergin AS, Özet A, Arpacı F. Kanser tedavisinde anjiyogenez inhibitörlerinin yeri. *T Klin J Med Sci.* 1999; 19: 100-105
- 109.** Battegay EJ. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases and therapeutic prospects. *J Mol Med.* 1995; 73 (7): 333-346
- 110.** Yazır Y. Vasküler endotel büyüme faktörü (Vegf): Reseptörleri ve Fonksiyonları. *CÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2007; 29 (3): 128-136
- 111.** Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: 1358-1366
- 112.** Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-428

- 113.** Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME et al. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med.* 2001; 7: 186-191
- 114.** Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signaling and endothelial function. *JUBMB Life.* 2001; 52(1-2): 61-66
- 115.** Dvorak HF, Brown LF, Detmar M et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 146: 1029-1039
- 116.** Ria R, Roccaro AM, Merchionne F et al. Vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma. *Leukemia.* 2003; 17: 1961-1966
- 117.** Mahecha AA, Hales BF, Robaire B, et al. Chronic cyclophosphamide treatment alters the expression of stress response genes in rat male germ cells. *Biol. Reprod.* 2002; 66: 1024-1045
- 118.** Green DM. Fertility and pregnancy outcome after treatment for cancer in childhood or adolescence. *Oncologist.* 1997; 2: 171-191
- 119.** Apperley JF, Reddy N, et al. Mechanism and management of treatment-related gonadal failure in recipients of high dose chemotherapy. *Blood Rev.* 1995; 9: 93-116

- 120.** Jarrell J, YoungLai EV, Ban R, McMahon A, Belbeck L, O'Connell G, et al. Ovarian toxicity of cyclophosphamide alone and in combination with ovarian irradiation in the rat. *Cancer Res.* 1987; 47: 2340-2343
- 121.** Plowchalk DR, Mattison DR, et al. Reproductive toxicity of cyclophosphamide in the C57BL/6N mouse: 1. Effects on ovarian structure and function. *Reprod Toxicol.* 1992; 6 (5): 411-421
- 122.** Speroff L, Glass RH, Kase NG, et al. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Baltimore: Williams and Wilkins; 1984: 225-242
- 123.** Brenner RM, Maslar IA, et al. The primate oviduct and endometrium, In: Knobil E, Neil J, eds. *The physiology of reproduction* New York: Raven Press; 1988: 303-329
- 124.** Plowchalk DR, Meadows MJ, Mattison DR, et al. Reproductive toxicity of cyclophosphamide in the C57BL/6N mouse: 2. Effects on uterine structure and function. *Reprod Toxicol.* 1992; 6 (5): 423-429
- 125.** McCormick WJ. Cancer: the preconditioning factor in pathogenesis. *Arch Pediat.* 1954; 71: 313–322
- 126.** McCormick WJ. Cancer: a collagen disease, secondary to a nutritional deficiency? *Arch Pediat.* 1959; 76: 166–171
- 127.** Cameron E, Pauling L, et al. Ascorbic acid and the glycosaminoglycans. An orthomolecular approach to cancer and other diseases. *Oncology.* 1973; 27: 181–192

- 128.** Padayatty SJ, Levine M, et al. Reevaluation of ascorbate in cancer treatment: Emerging evidence, open minds and serendipity. *Journal of the American College of Nutrition*. 2000; 19 (4): 423-425
- 129.** Moertel CG, Fleming TR, Creagan ET, Rubin J, O'Connell MJ, Ames MM, et al. High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison. *N Engl J Med*. 1985; 312: 137–141
- 130.** Hurley WL, Doane RM. Recent Developments in the Roles of Vitamins and Minerals in Reproduction. *J Dairy Sci*. 1989; 72: 784-804
- 131.** Phillips PH, Lardy HA, Boyer PD, Werner GM. The relationship of ascorbic acid to reproduction in the cow. *J. Dairy Sci*. 1941; 24: 153-158
- 132.** Pincus G, Berman J. Ascorbic acid during pregnancy in the rabbit. *Amer J Physiol*. 1937; 106: 611-622
- 133.** Kar AB, Ghosh A. New evidence against a progesterone-like action of ascorbic acid. *Biochem*. 1951; 17 (5): 363-365
- 134.** Samborskaya EP. The action of ascorbic acid on the reproductive system of laboratory animals. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1963; 54 (4):1164-1167
- 135.** Dündar Y, Aslan R. Bir antioksidan olarak vitamin E. *Genel Tıp Derg*. 1999; 9 (3): 109-116

- 136.** Morreale M, Livrea MA. Synergistic effect of glycolic acid on the antioxidant activity of alpha-tocopherol and melatonin in lipid bilayers and in human skin. *Biochem Mol Biol Int.* 1997; 42: 1093-1102
- 137.** He Y, Root MM, Parkers RS, Campbell TC. Effects of carotenoid-rich food extracts on the development of preneoplastic lesions in rat liver antioxidant status. *Nutr Cancer.* 1997; 27: 238-244
- 138.** Mooney LA. Contribution of genetic and nutritional factors to DNA damage in heavy smokers. *Carcinogenesis.* 1997; 18: 503-509
- 139.** Sigounas G, Anagnostou A, Steiner M. dl-alpha-tocopherol induces apoptosis in erythroleukemia, prostate, and breast cancer cells. *Nutr Cancer.* 1997; 28: 30-35
- 140.** Jun L. Tocotrienols: novel agents for cancer prevention and therapy. *Davos Life Science.* 2006
- 141.** Kimberly K, Weiping Y, Bob GS. Vitamin E and Breast Cancer. *J. Nutr.* 2004; 134: 3458-3462
- 142.** Evans HM, Bishop KS. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science.* 1922: 56; 650
- 143.** Raychaudhuri C, Desai ID. Ceroid Pigment Formation and Irreversible Sterility in Vitamin E Deficiency. *Science.* 1971; 173: 1028-1029
- 144.** Desai ID, Fletcher BL, Tappel AL. Fluorescent Pigments from Uterus of Vitamin E-Deficient Rats. *Lipids.* 1975; 10(5); 307-309

- 145.** Das P, Chowdhury M. Vitamin E-deficiency induced changes in ovary and uterus. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1999; 198: 151-156
- 146.** Shamberger RJ, Frost DV. Possible protective effect of selenium against human cancer. *Can Med Assoc J* 1969; 100 (14): 682
- 147.** Shamberger RJ. Selenium Distribution and Human Cancer Mortality. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 1971; 2; 211-221
- 148.** Schrauzer GN, White DA, Schneider CJ. Cancer mortality correlation studies-III: statistical associations with dietary selenium intakes. *Bioinorg Chem*. 1977; 7 (1): 23-31
- 149.** Suzana S, Cham BG, Ahmad Rohi G, Mohd Rizal R, Fairulnizal M N, Normah H, Fatimah A. Relationship between selenium and breast cancer: a case-control study in the Klang Valley. *Singapore Med J*. 2009; 50 (3): 265-269
- 150.** Bedwal RS, Bahuguna A. Zinc, copper and selenium in reproduction. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1994; 50: 626-640 Bedwal RS, Bahuguna A. Zinc, copper and selenium in reproduction. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1994; 50: 626-640
- 151.** Mighell A J, Robinson P A, Hume WJ. PCNA and Ki-67 Immunoreactivity in Giant Cell Fibroma and Peripheral Giant Cell Granuloma. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1996; 25: 193-199
- 152.** Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H, Schwab U, Stein H. Cell Cycle Analysis of a Cell Proliferation-Associated Human Nuclear

Antigen Defined by the Monoclonal Antibody Ki-67. The Journal of Immunology. 1984; 133: 1710-1715

- 153.** Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 Protein: From the Known and the Unknown. Journal of Cellular Physiology. 2000; 182: 311-322

- 154.** Salmi A, Heikkila P, Lintula S, Rutanen EM. Cellular Localization of c-Jun Messenger Ribonucleic Acid and Protein and Their Relation to the Proliferation Marker Ki-67 in the Human Endometrium. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1998; 83 (5): 1788-1796

- 155.** Kumar S. Caspase function in programmed cell death. 2007; 14: 32-43

- 156.** Hopwood D, Levison DA. Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. J. Pathol. 1975: 119; 159-116

- 157.** Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1996; 81: 4144-4147

- 158.** Krussel JF, Casan EV, Raga F, Hirchenhain J, Wen Y, Huang H-Y, Bielfeld P, Polan ML. Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor transmembraneous receptors Flt1 and KDR, and the soluble receptor sflt in cycling human endometrium. Molecular Human Reproduction. 1999; 5 (5): 452-458

- 159.** Shifren, JA, Tseng JF, Zaloudek CJ. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium:

implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1996; 81: 3112-3118

- 160.** Torry DSA, Holt VJ, Keenan JA. Vascular endothelial growth factor expression in cycling human endometrium. Fertil. Steril. 1996; 66: 72–80
- 161.** Greb RR, Heikinheim O, Williams RF. Vascular endothelial growth factor in primate endometrium is regulated by oestrogen-receptor and progesterone-receptor ligand in vivo. Hum. Reprod. 1997; 12: 1280–1292
- 162.** Phillips HS, Hains J, Leung DW, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is expressed in rat corpus luteum. Endocrinology. 1990; 127: 965–968
- 163.** Ravindranath N, Little-Ihrig L, Phillips HS et al. Vascular endothelial growth factor mRNA expression in the primate ovary. Endocrinology. 1992; 131: 254–260
- 164.** Cullinan-Bove K, Koos RD. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in the rat uterus: rapid stimulation by estrogen correlates with estrogen-induced increases in uterine capillary permeability and growth. Endocrinology. 1993; 133: 829–837
- 165.** Winther H, Ahmed A, Dantzer V. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two specific receptors, *Flt-1* and *KDR*, in the porcine placenta and non-pregnant uterus. Placenta. 1999; 20: 35-43

- 166.** Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in malignancies of the femal genital tract. *Gynecol Oncol.* 1999;72 (2): 220-231
- 167.** JD Gordon, S Mesiano, CJ Zaloudek, RB Jaffe. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1996; 81: 353-359
- 168.** Itoh H, Yuge A, Kawano Y, Narahara H. Insulin-like growth factor-1 regulates Vascular Endothelial Growth Factor secretion by human oviductal epithelial cells and stromal fibroblasts. *Reproductive Sciences.* 2006; 13 (5): 368-371
- 169.** Lam PM, Briton-Jones C, Cheung CK, Lok IH, Cheung LP, Haines C. In vivo regulation of mRNA expression of vascular endothelial growth factor receptors (KDR and flt-1) in the human oviduct. *Fertility and Sterility.*2004;81(2):416-423

10. EKLER



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

27/04/2007

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/20-6703
KONU:

Sayın

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

G.Ü.ET-07.016 kod numaralı ve “*Kemoterapi uygulamasının sıçan ovarium ve testis üzerine etkisi ve çeşitli antioksidanların koruyucu rollerinin yapısal ve immünohistokimyasal düzeyde belirlenmesi*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-07.016 and entitled “*Ultrastructural and immunohistochemical examination of the protective effects of various antioxidants on chemotherapy applied rat ovarium and testis*” is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof. Dr. Alihan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

Prof. Dr. Engin ÇALGÜNER

Prof. Dr. Nedret KILIÇ

Prof. Dr. Sevil PEHLİVAN

Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

Prof. Dr. Deniz ERBAŞ

Prof. Dr. Fatma AKAR

Prof. Dr. Altan DOĞAN

Doç. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU

Uzman Dr. Şeyda DİKER

11. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimleriyle gelişimime katkıda bulunan, yanında öğrenim görmekten onur duyduğum değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN başta olmak üzere; hoşgörüsü ve sabırla her zaman yanımda olan, hayatta duruşuyla örnek aldığım sevgili hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Çiğdem ELMAS'a, yetişmemde emekleri geçen değerli hocalarım Prof.Dr. Tahir HATİPOĞLU'na, Prof.Dr. Celal ILGAZ'a, Prof.Dr. Candan ÖZOĞUL'a, Prof.Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, ilgisi ve desteğinden güç aldığım Doç. Dr. Gülnur TAKE'ye;

Tezimin deney aşamasında desteğini gördüğüm Arş. Gör. Seren Gülşen GÜRGEN'e, tezimi yazmama bitmeyen sabırları ile destek olan, yardımlarını ve güler yüzlerini esirgemeyen çok sevdiğim ablalarım Arş. Gör. Fatma HELVACIOĞLU ve Arş. Gör. Güleser GÖKTAŞ'a, Anabilim Dalımız personeli Şemsi ÖZTÜRK, Recep ORHAN ve Tekin KOÇAK'a, birlikte olmaktan mutluluk duyduğum dönem arkadaşlarıma;

Beni bugünlere getiren, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, koşulsuz sevgi ve anlayış gösteren canım annem Nurşen AYDIN ve canım babam Ali Osman AYDIN'a, her zaman yanımda ve yardımcım olan bitanecik kardeşim Nihal AYDIN'a, varlığıyla hayatımı daha da güzelleştiren Ozan AKGÜN'e sonsuz teşekkürlerimle...

Hilal Aydın

Ocak 2010

12. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Lefkoşa’da doğdum. İlköğrenimimi Ardahan 23 Şubat İlköğretim Okulu’nda, orta ve lise öğrenimimi ise Ankara Gazi Anadolu Lisesi’nde tamamladım. 2003 yılında kazandığım Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden 2007 yılında mezun oldum. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım.