



**T.C.**  
**KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM**  
**DALI**

**ENDOTOKSEMİNİN NEDEN OLDUĞU OVER**  
**HASARI ÜZERİNE BORİK ASİTİN KORUYUCU**  
**ETKİSİ**

**Melek AYDIN**

**YÜKSEK LİSANS TEZ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mustafa KARA**

**KIRŞEHİR- AĞUSTOS 2024**

## KABUL VE ONAY

“Endotokseminin Neden Olduğu Over Hasarı Üzerine Borik Asitin Koruyucu Etkisi” adlı bu çalışma, 27.08.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Mustafa KARA (Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi  
Tıp Fakültesi

Doç Dr. Bilal ÇİĞ  
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi  
Tıp Fakültesi

Doç Dr. Züleyha DOĞANYİĞİT  
Yozgat Bozok Üniversitesi  
Tıp Fakültesi

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Melek AYDIN

## ÖNSÖZ

Tez çalışmamın planlanması, yönlendirilmesi ve hazırlanması aşamasında bilgisini, ilgisini, her türlü desteğini esirgemeyen ve mesleki bilgi ve tecrübesinden faydalandığım çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa KARA'ya ve yüksek lisans eğitimimde beni destekleyen, cesaretlendiren, azmimi kuvvetlendiren Dr. Öğr. Üyesi Özlem KARA'ya, Arş. Gör. Nebahat İNCE'ye büyük bir içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimi, ailem başta olmak üzere özellikle eşime ve çocuklarıma ithaf ederim.

Ağustos, 2024

Melek AYDIN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Amaç.....	2
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Ovaryum .....	3
2.1.1. Ovaryum Anatomisi .....	3
2.1.2. Ovaryum Embriyolojisi. ....	4
2.1.3. Ovaryum Histolojisi.....	5
2.1.3.1. Folliküllerin Gelişimi.....	7
2.1.3.1.1. Primordiyal Folliküller .....	8
2.1.3.1.2. Gelişmekte Olan Folliküller.....	9
2.1.3.1.3. Gelişmiş Folliküller .....	10
2.1.3.1.4. Atretik Follikül .....	11
2.2. Sepsis ve Endotoksemi .....	12
2.3. Oksidatif Stres.....	13
2.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) .....	14
2.3.2. Katalaz (CAT).....	14
2.3.3. Malondialdehit (MDA) .....	15
2.4. Borik Asit.....	15
2.5. Lipopolisakkarit (LPS) .....	16
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>17</b>
3.1. Araştırmanın Şekli ve Deney Planı.....	17
3.2. Borik Asitin Hazırlanması .....	21

3.3. Lipopolisakkaratin Hazırlanması .....	23
3.4. Işık Mikroskopisi ve İncelemeleri .....	24
3.4.1. Doku Takip Yöntemi.....	24
3.4.2. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi .....	25
3.4.3. MassonTrikrom Boyama.....	27
3.4.4. Histopatolojik Skoreleme.....	28
3.4.5. İmmün Boyama .....	29
3.5. Biyokimyasal Analizler .....	30
3.5.1. Malondialdehit (MDA) Düzey Tayini.....	30
3.5.2. Süperoksitdismütaz (SOD) Miktar Tayini .....	30
3.5.3. Catalaz (CAT) Miktar Tayini .....	30
3.6. İstatistiksel Analiz .....	30
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>31</b>
4.2. MassonTrikrom Boyama ile Histopatolojik Değerlendirme .....	37
4.3. Biyokimyasal Bulgular .....	44
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>45</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>49</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>50</b>
<b>EKLER</b>	

## SEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2. 1.Ovaryumun anatomik yapısı (23).....	4
Şekil 2. 2. Ovaryumun histolojik yapısı (28). ....	7
Şekil 2. 3. Folikülogenez (22). ....	8
Şekil 2. 4. Primordiyal follikül (28). ....	9
Şekil 2. 5. Gelişmekte olan follikül (28). ....	10
Şekil 2. 6. Gelişmiş folikül (sekonder folikül) (28). ....	11
Şekil 2. 7. Atretik follikül (28). ....	12
Şekil 3. 1. Deney hayvanlarının kafeslerde gruplandırılması .....	18
Şekil 3. 2.Eti madenden elde edilen toz halindeki borik asit .....	22
Şekil 3. 3. Borik asitin hassas terazide tartılması( Ave B) .....	22
Şekil 3. 4.Tartılan borik asitin ependorf tüplerine boşaltılması .....	23
Şekil 3. 5. Borik asitin distile suda çözdürülmesi .....	23
Şekil 3. 6. Deneyde kullanılan Lipopolisakkarit .....	24
Şekil 4. 1. Ovaryum kontrol grubuna ait kesitin ışık mikroskopik görüntüsü. Kesite bakıldığında, primordiyal folikül (PF) ve sekonder follikül (SF) görülmektedir. Folliküle ait oosit (O), granüloza hücreleri (sarı yıldız) ve içerisinde oluşan bir antrum (A), bazal membran (kırmızı ok), follikülü saran teka hücreleri (sarı ok) ve korpus luteum (KL) izlenmektedir. H&E Bar=50 µm.....	32
Şekil 4. 2.Ovaryumun LPS grubundan alınan kesitin ışık mikroskopik incelemelerinde bir çok bölgede hemoraji (H) görülmektedir. Aynı zamanda yer yer dejenere olmuş folliküller izlenmektedir. Folliküllere bakıldığında ise sekonder folliküller (SF) de azalma atretik folliküllerde (AF) ise artış gözlemlenmektedir. H&E Bar=50 µm. ....	33
Şekil 4. 3. Bor+LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü incelendiğinde ödem ve hemorajik (H) görüntüler izlenmiştir fakat bu görüntülerin LPS grubuna göre daha az olduğu görülmüştür. Sekonder follikül	

- (SF) ve graaf folliküller de (GF) herhangi bir hasara rastlanılmamıştır. H&E Bar=50 µm. .... **34**
- Şekil 4. 4.** Bor grubuna ait ovaryum kesitinde germinal epitelyum (kırmızı ok) normal görünümde olup, Işık mikroskop altında görünen sekonder follikül (SF) ise yine normal yapısını korumuştur. H&E Bar=50 µm ..... **35**
- Şekil 4. 5.** Kontrol grubundan alınan ovaryum kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Görüntü incelendiğinde sekonder folliküller (SF), atretik folliküller (AF) görülmektedir. Sekonder follikül içerisinde mavi renge boyanmış zona pellusida (kırmızı ok) yapısı görülmektedir. Sekonder follikül ve atretik follikül etrafında mavi renge boyanmış bağ dokusu (sarı yıldız) izlenmektedir. MassonTrikrom Bar=50 µm **37**
- Şekil 4. 6.** LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Görüntü incelendiğinde sekonder folliküllerde ve primer folliküllerde azalma olduğu, atretik folliküllerde (AF) ise artış olduğu gözlemlendi. MassonTrikrom Bar=50 µm ..... **38**
- Şekil 4. 7.** Bor+LPS grubundan alınan ovaryum kesiti incelendiğinde maviye boyanmış olan bağ dokusunda (kırmızı ok) dejenerasyon gözlemlendi. Aynı zamanda sekonder follikül ve graaf follikül (GF) sayılarının kontrol ve BA grubu ile benzer olduğu görüldü ve atretik follikül (AF) sayılarının ise LPS grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. MassonTrikrom Bar=50 µm ..... **39**
- Şekil 4. 8.** Borik asit grubundan alınan ovaryum dokusunun ışık mikroskopundaki görüntüsü. Görüntü incelendiğinde kontrol grubuyla benzer bir görüntü elde edildi. Görüntüde primer follikül (PF), sekonder follikül (SF) ve atretik follikül (AF) izlenmektedir. Atretik follikül sayı olarak diğer folliküllere göre daha az gözlemlendi. MassonTrikrom Bar=50 µm ..... **40**
- Şekil 4. 9.** Kontrol grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm ..... **41**
- Şekil 4. 10.** LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm ..... **42**
- Şekil 4. 11.** Bor+LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm ..... **43**
- Şekil 4. 12.** Borik asit grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm ..... **44**

## **TABLolar DİZİNİ**

### **Sayfa No**

<b>Tablo 3. 1.</b> Deney grupları .....	<b>18</b>
<b>Tablo 3. 2.</b> Kontrol grubu deney öncesi ve sonrası ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar cerrahi işlem öncesi).....	<b>19</b>
<b>Tablo 3. 3.</b> Borik asit grubu deney öncesi ve sonrası ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar cerrahi işlem öncesi) .....	<b>19</b>
<b>Tablo 3. 4.</b> Borik asit+LPS grubu deney öncesi, LPS öncesi ve cerrahi işlem öncesi ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar LPS uygulamadan önce, üçüncü ağırlık cerrahi işlem öncesi).....	<b>20</b>
<b>Tablo 3. 5.</b> . LPS grubu deney öncesi, LPS öncesi ve cerrahi işlem öncesi ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar LPS uygulamadan önce, üçüncü ağırlık cerrahi işlem öncesi) .....	<b>21</b>
<b>Tablo 3. 6.</b> Işık mikroskopik doku takibi (53) .....	<b>25</b>
<b>Tablo 3. 7.</b> Hematoksilen&eosin boyama tekniği (53).....	<b>26</b>
<b>Tablo 3. 8.</b> Massontrikrom boyama tekniği (53) .....	<b>27</b>
<b>Tablo 3. 9.</b> Ovaryum histopatolojik hasar için skorlama (53) .....	<b>28</b>
<b>Tablo 3. 10.</b> İmmün boyama tekniği (53) .....	<b>29</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>ASSS</b>	: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
<b>AAH</b>	: Akut Akciğer Hasarı
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>E.COLİ</b>	: Escheriachiacoli
<b>SIRS</b>	: Sistemik inflamatuvar cevap sendromu
<b>BA</b>	: Borik asit
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	: Kalsiyum
<b>P</b>	: Fosfor
<b>O<sub>2</sub></b>	: Süperoksit radikali
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikali
<b>B</b>	: Bor
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen&Eozin
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>O<sub>2</sub></b>	: Süperoksit radikali
<b>OH<sup>-1</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>ROT</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>IP</b>	: Intraperitoneal

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS

#### ENDOTOKSEMİNİN NEDEN OLDUĞU OVER HASARI ÜZERİNDE BORİK ASİTİN KORUYUCU ETKİSİ

Melek AYDIN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimler Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa KARA

Sepsis, vücutta bakteri ya da toksin varlığında gelişen enfeksiyona karşı tüm vücudun vermiş olduğu ciddi bir reaksiyondur. Vücut; immun sistemi tarafından kandaki, idrardaki, akciğerlerdeki, ciltteki ya da başka bir dokudaki mikroplara tepki olarak bu enflamatuar cevabı verebilir. Sepsis, destek tedavileri, antibiyotikler, immünoterapi ajanları ve yeni gelişen tedavi alternatiflerine karşın, yaklaşık %90 civarında yüksek düzeyde mortalite oranı göstermektedir ve yoğun bakım ünitelerinde ölüme en fazla sebebiyet veren bir sağlık problemi şeklinde karşı karşıya kalınmaktadır. Bundan dolayı sepsis insanlarda en fazla araştırılan hastalıklardan olup aynı zamanda deneysel hayvanlarda en fazla çalışma yapılan modellerden bir tanesi olarak bilinmektedir.

Endotoksemi; kandaki endotoksin bakteri varlığını ifade etmektedir. Kandaki biriken bu bakteriler endotoksin sepsisini meydana getirmektedir.

Borik asit; bor bileşiklerinin içerisinde en yaygın olan mineral asittir ve suda kolaylıkla çözünebilmektedir. Borik asit antioksidan ve antiinflammatuar özelliklere sahiptir. Tıbbi ürünlerde ve tıbbi tedavi yöntemlerinde sıkça kullanılmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda; bakteriyel endotoksin olan lipopolisakkaritle (LPS) sepsis oluşturup, bir doğal maden olan ve birçok alanda kullanılan bordan elde edilen borik asitin koruyucu etkisi incelenmiştir.

Araştırmamızda 32 adet Wistor Albino cinsi dişi sıçan kullanılmış olup 4 gruba ayrılmıştır. Borik asit ve borik asit+LPS grubundaki sıçanlara 14 gün boyunca sabah aynı saatte intraperitoneal yolla 20 mg/kg borik asit enjekte edildi. 14. gün akşam borik asit+LPS ve LPS grubundaki sıçanlara 7,5 mg/kg LPS intraperitoneal yolla verilerek sepsis oluşturuldu. Sepsis oluşumu gözlemlendikten sonra sıçanlara uygun dozlarda 10 mg/kg intraperitoneal yolla ksilazin ve 60 mg/kg ketamin hidralklorür uygulanarak anestezi oluşturuldu. Anestezi uygulanan sıçandan ovaryum dokuları cerrahi yöntemle alınarak servikal dislokasyon ile

sakrifiye edildi. Alınan doku örnekleri ışık mikroskopik incelemeleri için doku hazırlama yöntemlerine uygun bir şekilde hazırlandı. Ayrıca her gruptan alınan ovaryum dokuları alimünyum folyaya sarılarak biyokimyasal incelemeler için saklandı. Oluşan endotoksemi sonucunda borik asitin ovaryum histopatolojisi ve ovaryum fonksiyonları üzerinde oluşturduğu koruyucu etkisi incelendi. İncelemeler sonucunda follikül sayımı yapılan gruplar değerlendirildi. Primer follikül düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi. LPS grubunda primordiyal follikül sayılarında azalma anlamlı seviyedeydi. LPS grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında kontrol, borik asit, borik asit+LPS gruplarına göre sekonder follikül sayılarında azalma gözlenirken aynı zamanda atretik follikül sayılarında ise artış olduğu gözlemlendi. BA+LPS grubunda sekonder ve graaf follikül miktarlarının kontrol ve BA grubu ile birbirine benzer olduğu aynı zamanda atretik follikül miktarlarının ise LPS grubuna kıyasla anlamlı seviyede arttığı gözlemlendi. LPS grubunda bulunan tüm folliküllerde ve bağ dokusu alanlarda dejenerasyon gözlemlendi.

Sonuç olarak, LPS verilen sıçanların ovaryumunda korteks damarlarında fibrozis meydana geldiği, follikül kaybı meydana geldiği aynı zamanda ovaryum doku skarlaşmasının primordiyal folliküller üzerinde toksisiteye sebebiyet verdiği saptandı.

Yaptığımız bu çalışmada LPS ile oluşturulan endotokseminin sıçan ovaryum hasarında Borik asitin koruyucu etkisinin olduğu kanısına varıldı.

Ağustos 2024, 71 sayfa

**Anahtar kelimeler:** Borik Asit, Over, Sepsis, Enfeksiyon, Endotoksemi.

## **ABSTRACT**

**M. Sc. THESIS**

### **PROTECTIVE EFFECT OF BORIC ACID ON ENDOTOXEMIA-INDUCED OVARIAN DAMAGE**

**Melek AYDIN**

**Kırşehir Ahi Evran University**

**Institute of Health Sciences**

**Department of Histology and Embriology**

**Supervisor: Prof. Dr. Mustafa KARA**

Sepsis is a serious reaction of the whole body to an infection that develops in the presence of bacteria or toxins in the body. The body can give this inflammatory response by the immune system in response to microbes in the blood, urine, lungs, skin or other tissue. Despite supportive therapies, antibiotics, immunotherapy agents and new treatment alternatives, sepsis has a high mortality rate of around 90% and is the most common cause of death in intensive care units. Therefore, sepsis is one of the most researched diseases in humans and is also known as one of the most studied models in experimental animals.

Endotoxaemia refers to the presence of endotoxin bacteria in the blood. These bacteria accumulating in the blood cause endotoxin sepsis.

Boric acid is the most common mineral acid among boron compounds and is easily soluble in water. Boric acid has antioxidant and anti-inflammatory properties. It is frequently used in medical products and medical treatment methods. In line with this information, in our study, the protective effect of boric acid obtained from boron, which is a natural mineral and used in many fields, was examined in sepsis with lipopolysaccharide (LPS), a bacterial endotoxin.

In our study, 32 Wistar Albino female rats were used and divided into 4 groups. Rats in boric acid and boric acid + LPS groups were injected intraperitoneally with 20 mg/kg boric acid at the same time in the morning for 14 days. On the 14th day, 7.5 mg/kg LPS was injected intraperitoneally into the rats in the boric acid+LPS and LPS groups in the evening and sepsis was induced. After sepsis formation was observed, anaesthesia was induced by administering xylazine 10 mg/kg intraperitoneally and ketamine hydrochloride 60 mg/kg at appropriate doses. The ovarian tissues were surgically removed from the anaesthetised rats and sacrificed by cervical dislocation. The tissue samples were prepared for light microscopic examination in accordance with tissue preparation methods. In addition,

ovarian tissues taken from each group were wrapped in aluminium foil and stored for biochemical investigations. The protective effect of boric acid on ovarian histopathology and ovarian functions as a result of endotoxaemia was investigated. As a result of the examinations, follicle counts were evaluated in the groups. No statistically significant change was observed in primary follicle level. The decrease in the number of primordial follicles in the LPS group was significant. When the LPS group was compared with the other groups, it was observed that there was a decrease in the number of secondary follicles and an increase in the number of atretic follicles compared to the control, boric acid and boric acid+LPS groups. In the BA+LPS group, it was observed that the amount of secondary and graaf follicles were similar to the control and BA groups, and the amount of atretic follicles increased significantly compared to the LPS group. Degeneration was observed in all follicles and connective tissue areas in the LPS group.

In conclusion, it was determined that fibrosis occurred in the cortex vessels, follicle loss occurred, and ovarian tissue scarring caused toxicity on primordial follicles in the ovary of rats given LPS.

In this study, we concluded that Boric acid has a protective effect on LPS-induced endotoxaemia induced ovarian damage in rats.

August 2024, 71 Pages

**Key words:** Boric Acid, Ovary, Sepsis, Infection, Endotoxaemia.

## 1. GİRİŞ

Endotoksemi, kanda endotoksinlerin varlığını ifade eder (1). Gram negatif bakterilerin hücre duvarının lipopolisakkarit tabakasında konumlanan endotoksin, sepsisi tetikleyen asıl moleküldür (2). Deneysel septik şok çalışmaları, Escheriachiocoli (E.coli), Salmonellatyphimurium, Klebsiellapneumoniae, Pseudomonasaeruginosa gibi Gram (-) bakterilerden elde edilmesine rağmen E.coli'den türeyen LPS'ler üzerinde yoğunlaşmıştır (3-8). LPS'nin içerisinde arındırılmış glikolipit yapıları mevcuttur. LPS'nin yanısıra, endotoksin içerisinde bir miktar hücre duvarı proteinleri, lipitler, proteinler ve polisakkarit bulunmaktadır. LPS içerisinde bulunan Lipit A, çoğunlukla LPS toksisitesini oluşturmaktadır (3,4). Sepsis dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir (9). Konakçı-mikroorganizma etkileşimini insan patofizyolojisi ile ilişkilendirmenin sonucunda sepsis ve septik şoka dair yapılan tüm tanımlar netlik kazanmaktadır. Sepsis 2016 yılında literatüre "insan hayatını tehdit eden organ fonksiyon bozukluğu" şeklinde geçmiştir (10). Endotoksemimin makrofajları uyarması çeşitli sitokinlerin salınımını tetikler. Makrofaj yüzeyindeki toll-like reseptörlerinin bakteriyel, viral ve fungal molekülleri tanınmasını takiben sitokin yapımı ve inflamatuvar yanıt uyarılır (11). Sepsis, hücre hipoksisi ve apopitozundan sorumludur. Endotel disfonksiyonuna, kardiyovasküler hasara, intrasellüler homeostazda bozulmaya neden olur. Mikroorganizma ve ürünlerinin direkt veya sitokinlerinin direkt etkisi ile endotel hücreleri büyük oranda değişime uğrar. Bu değişikliklerle adezyon moleküllerinin etkinliği artar, böylece vazoaaktif maddeler ve inflamatuvar mediyatörler salınır. Yüksek oranda aktive olan endotel belirli bir süre sonra kendine zarar verir hale gelir. Bundan dolayı mikrosirkülasyon bozularak kapiller geçirgenliğin artmasına neden olur (12). Yüksek doz endotoksin sıçanlara verildiği zaman sıçanlarda vazodilatasyon, kardiyovasküler kollaps (şok) ve erken ölüme yol açarken, düşük dozda verildiğinde ise hiperdinamik cevap ve kardiyak debi artışı yaptığı gözlemlenmiştir. Deneysel model sonucunda bu durumun enfeksiyona karşı sistemik inflamatuvar cevap sendromuna (SIRS) benzer olduğu görülmüştür. SIRS; endotoksemi, bakteriyemi, viremi, fungemi, sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliği gibi birçok patolojinin ortak klinik tablosudur. Sepsis, enfeksiyona karşı sistemik inflamatuvar bir

cevap olarak da tanımlanabilir. Sık olarak görülen Gram (-) bakterilerin neden olduğu SIRS, yüksek ölüm oranı (%30-90) ve basit deneysel metotlar kurulabilmesinden dolayı Gram (+)'lere göre literatürde daha fazla araştırma konusu olmuştur (3,4). Periyodik tabloya bakıldığı zaman bor, "B" simgesi ile ifade edilirken, atom numarası 5, atom ağırlığı ise 10,81 g/mol'dur. Aynı zamanda metalle ametal arası yarı iletken bir elementtir. Doğada başta oksijen olmak üzere çeşitli elementlerle bileşik halinde olan bor, tabiatta hiçbir zaman serbest bir şekilde görülmez. Borat olarak adlandırılan bu bileşiklerden en önemlileri ve en çok kullanılanları borik asit (BA) ve boraks yapısıdır (18). BA, renksiz, kokusuz ve suda kolayca çözünebilen şeffaf kristal bir yapıya sahiptir. Yarı ömrü ortalama 24 saat olan BA, sindirim sistemi yolu ile emilirken vücut sıvıları ile dağılır. Akut alımlarda BA'in %50'si ilk 12 saatte, %90'ı ise 96 saatte vücuttan atılır (13). Bor sağlık, sterilizasyon, temizlik, tarım ve çeşitli endüstriyel gibi birçok alanlarda kullanılmaktadır (14). Bor özellikle; Ca, P gibi bazı minerallerin, vitamin D'nin, aldehit dehidrojenaz, sitokrom b5 redüktaz gibi bazı enzimlerin, insülin, östrojen, testosteron, tiroid gibi bazı hormonların, trigliserid, glikoz gibi bazı enerji substratlarının ve reaktif oksijen türlerinin metabolizmalarını etkileyebilmektedir. Borun bu etkilerini oluşturan biyokimyasal ve moleküler mekanizmaların ne olduğu bilinmemektedir. Buna rağmen borun biyokimyasal ve fizyolojik etkilerini ortaya koyan iki ayrı hipotez ortaya atılmıştır. Bunlardan birincisi borun hücre zarında hormon cevaplarını ve transmembran sinyal iletimini etkileyebileceği üzerineyken ikincisi ise borun birçok enzimatik sistemleri düzenleyici etkileri olabileceğini ortaya koymuştur (15).

### **1.1. Amaç**

Bu araştırmada; son yıllarda immün sistemde, kemik gelişiminde, hormon metabolizmasında ve özellikle antioksidan sistemde çok etkili olduğuna dair araştırmalar yapılan borik asitin sıçanlarda oluşturulacak deneysel endotoksemide overleri koruyucu etkinliğini belirlemek amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

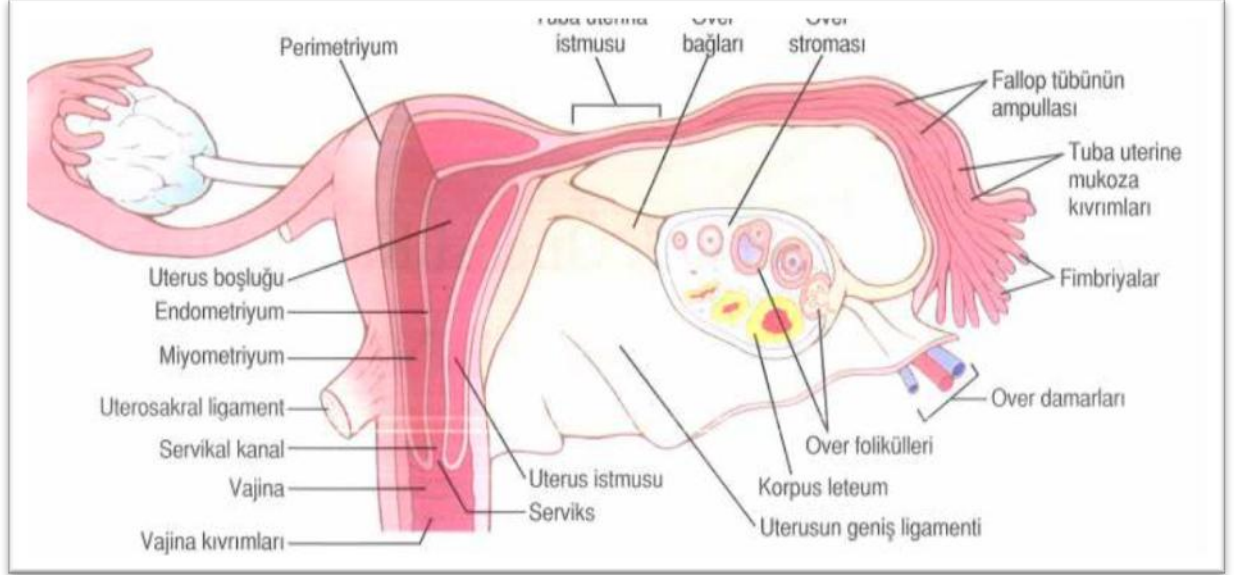
### **2.1. Ovaryum**

Ovaryumlar rahmin her iki tarafında bulunan, badem şeklinde olan yapılardır (16). İnsan vücudunda bulunan ovaryumlar çok fazla değişikliğe ve etkiye maruz kalan dinamik organlardır. Ovaryumların yapısında, gelişim aşamalarında yer alan ve birbirleriyle etkileşimde bulunan foliküller vardır (17). Ovaryumların başlıca görevleri; steroid hormonları üretmek, oositleri döllenme dönemine kadar saklamak ve olgulaşan oositlerin dışarı atılımını sağlamaktır (18). Aynı zamanda endokrin ve ekzokrin fonksiyonları da vardır. Kendine ait hormonlar üretmesi endokrin, oogenezisle oositin overlerden genital kanallara iletilmesi ekzokrin fonksiyonudur (19). Ovaryumlar hem dişi cinsiyet hücrelerini hem de hormonları üretir. Ürettiği bu hormonların bir kısmı steroid yapıda bir kısmı da steroid olmayan yapıda olmayan hormonlardır. Östrojen ile progesteron steroid hormonlardır. Prostaglandinler, inhibin, oksitosin, relaksin ise steroid olmayan hormonlardır (20,21).

#### **2.1.1. Ovaryum Anatomisi**

Henüz doğum yapmamış kadınlarda ovaryumlar pembemsi ve beyaz renklidir. Ovaryum boyu 3 cm, eni 1,5 cm ve kalınlığı da 1 cm'dir. Aynı zamanda rahmin her iki yanında yer alır. Ovaryumlar, arteriyailiyakaeksterna ve arteriya iliyaka interna arasında bulunan fossa overica yani yumurtalık çukuru olarak bilinen bölgeye yerleşmişlerdir (16,23). Her ovaryum, mezovaryum adı verilen peritoneal katlantı ile broad ligamentin posteriyor yüzeyinde bağlı şekilde yer alır. Ovaryumlara kan damarlarını ileten yapı da mezovaryumdur. Ovaryum superiyor kutbu, ovaryumun damarları ile sinirlerini taşıyan suspensoryligamentiyle pelvis duvarına bağlanır. Ovaryumun inferior kutbu ovaryan ligament tarafınca uterusu bağlanmaktadır. Bu ligament, gelişmiş yapıdaki gonadı pelvis tabanına bağlar. Aynı zamanda embriyonik fibröz kordon olan gubernu kulumun parçasıdır. Ovaryumlar, medulla tabakası ve korteks tabakası olmak üzere iki tabakadan oluşmuştur. Ovaryumun yüzeyi puberteden önce düz bir yapıda iken; üreme döneminde tekrarlanan ovulasyonlar sebebi ile düzensiz, skarlı yapı haline dönüşür. Postmenopozal

kadınlarda bulunan ovaryumların boyutu, üreme çağındaki kadınlarda bulunan ovaryumların boyutunun 1/4 büyüklüğündedir (16). Ovaryumun medullasında ise sinirler ve damarlar bulunmaktadır. Ovaryumun hillusundan çıkan bu sinirler ve damarlar, ovaryumun korteksindeki folikülleri besler ve foliküller arası alışverişi sağlar (19).



Şekil 2. 1.Ovaryumun anatomik yapısı (23).

### 2.1.2. Ovaryum Embriyolojisi

Farklılaşmamış gonadların, embriyonik dönemde ovaryum halini alması bir takım hormon ve genlerin görev aldığı kompleks bir gelişim aşamasıdır. Ovaryumları oluşturan kısım gonadın kortikal bölgesidir (17). Ovaryumda bulunan gametlerin oluşumu oogenez, gametlerin gelişim süreci oosit, gametlerin olgun evreye ulaşması ovum olarak isimlendirilir (16,17). Primordiyalgerm hücrelerinin (oogonyum) olgun oosit halini alması için geçen evreye oogenez adı verilmektedir. Bu evre fetal dönemde başlar, pubertede (ergenlikte) tamamlanır, menopoza kadar devam eder. Gelişimin 7. haftasından sonra gonadlar erkek veya dişi karakter halini almaya başlarlar (25).

Alt tabakada mezenşimin artması ve epitelyum hücrelerin bölünmesiyle gonadlar oluşmaktadır. Gonadlar ilk etapta uzunlamasına çift sırt, genital sırtlar ve gonadal sırtlar olmak üzere üç şekilde görünmektedir. Primordiyalgerm hücreleri epiblasttan köken almaktadır ve primitif çizgi boyunca göç etmektedirler. Üçüncü hafta geldiğinde ise yolk kesesinin allontois çevresindeki duvarında bulunan endoderm hücrelerinin arasında meydana gelirler (25). Fetal yaşamın dördüncü haftasında ise primordiyal germ hücreleri

çoğalarak gelişmekte olan gonadlara doğru hareket ederler. Embriyonun katlanması esnasında vitellusun dorsal bölümü embriyoya dahil olur. Bu sırada primordiyal foliküller, bağırsağın dorsalmezenteri boyunca ameboid hareketlerle ilerlerler ve beşinci hafta geldiğinde primitif gonadlaravarıyla (26). Altıncı haftaya gelindiğinde, primordiyal foliküller genital kabartılara yerleşmiş olurlar. Primordiyalgerm hücreleri eğer gonadlara ulaşmamışsa dejenere olurlar. Gonadların ovaryuma faeklilişmasında, bu hücreler önemli bir yere sahiptir. Primordiyalgerm hücreleri genital kabartıya ulaşmadan önce bu kısımda bulunan epitel hücrelerin sayısı artmaktadır ve bu epitel hücreler mezenşime yerleşirler. Bu bölgede primitif cinsiyet kordonları düzensiz bir yapı oluştururlar. Düzensiz bir şekilde bu kordonlar erkek embriyolarda ve dişi embriyolarda yüzey epiteline tutunurlar. Bundan dolayı gonadların dişi ya da erkek ayrımı yapılamaz ve farklılaşmamış gonadlar olarak sınıflandırılırlar (25). Primitif cinsiyet kordonları dişi embriyolarda düzensiz hücre kümeleri halini alırlar. Bu hücre kümeleri primordiyalgerm hücrelerini içermektedir ve ovaryum medullasına yerleşerek kaybolurlar. Sonrasında ise ovaryum medullasını oluşturmak üzere vasküler stromaya dönüşürler. Yedinci haftada ise gonadlar erkek ya da dişi halini almaya başlarlar. Üçüncü aya geldiğimizde bu kortikal kordonlar hücre kümeleri halini alırlar ve çoğalmayı sürdürürler. Oogonyumları foliküler hücre denilen epitelyum tabaka sarmaya başlar. Böylelikle primordiyal folikül meydana gelir. Fetal yaşam boyunca mitoz bölünme yaparak her iki ovaryumda binlerce primordiyal folikül oluşur. Aynı zamanda oogonyumlar gelişerek primer oositleri meydana getirirler. İlk etapta primer oositler ovaryum stroma hücreleriyle çevrilidir. Sonrasında ise etrafını tek sıra epitelyum hücreleri sarar ve primordiyal folikül meydana gelir (25,26).

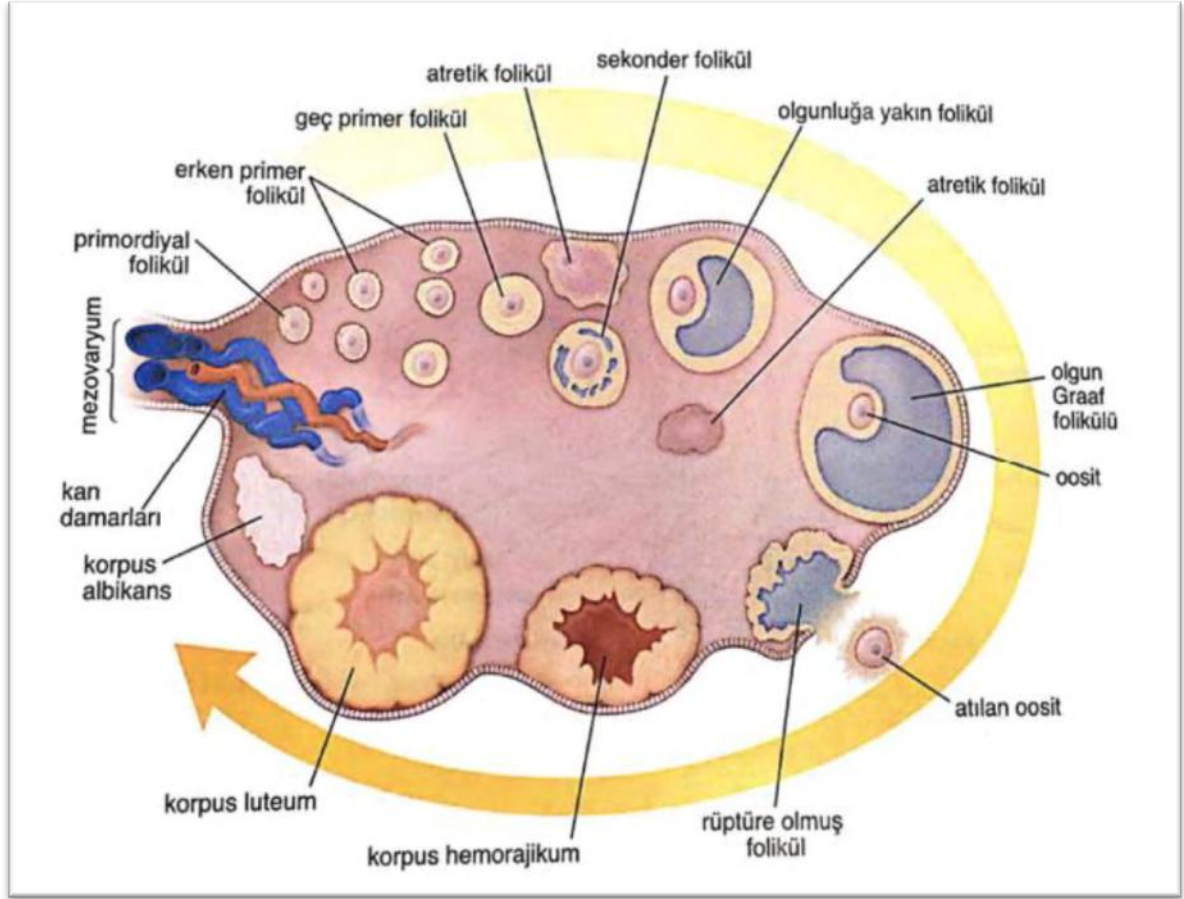
### **2.1.3.Ovaryum Histolojisi**

Ovaryum, iç kısımda medulla dış kısımda korteks olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (16). Medulla kısmı ovaryumun merkezi bölgesidir. Korteks ve medulla bölümlerini ayıran net bir çizgi yoktur (24). Gevşek bağ dokusu yapısında olan medulla, kıvrımlı damarları ve lenf damarlarını içerirken aynı zamanda sinirleri barındırır. Ovaryumun medulla bölümü folikül içermez (16,27). Korteks medullayı saracak şekilde ovaryumun periferik bölgesinde yer alan dış bölgesidir. Korteks, selüler bağ dokusu içine gömülü ovaryum folikülleri bakımından zengin bir yapıya sahiptir. Bu foliküllerin çevresindeki stromada dağınık düz kas lifleri bulunmaktadır (16,27). Korteksin çevresi tek katlı yassı hücreler ve tek katlı kübik hücreler içeren bir epitelyum ile çevrilidir. Bu epitel, germinal epitelyum olarak adlandırılır. Germinal epitelin alt kısmında Tunika albuginea bulunmaktadır. Tunika

albuginea ince fibröz yapıdan oluşmaktadır ve ovaryuma rengini veren yapıdır. Aynı zamanda tunikaalbuginea korteksi sıkım bir şekilde sarmaktadır ve korteksi saran bu tabaka bağ dokusu tabakasıdır (24). Kortekste puberte oluşmadan önce sadece Primordiyal foliküller görülürken, puberte oluşumuyla beraber primer, sekonder, tersiyer foliküller (olgun foliküller ya da graaf foliküller) görülür. Olgunluk döneminde korteksde, foliküllerden gelişen korpus luteum, korpus ablikans ve atretik foliküller de görülür (16). Oosit gelişmişliğine göre folikül boyutları değişir. Gelişim evrelerine göre 3 tip ovaryum histolojik olarak tanımlanmaktadır:

- ❖ Primordiyal foliküller
- ❖ Gelişmekte olan yani primer ve sekonder foliküller
- ❖ Olgun foliküller ya da graaf (tersiyer) foliküller

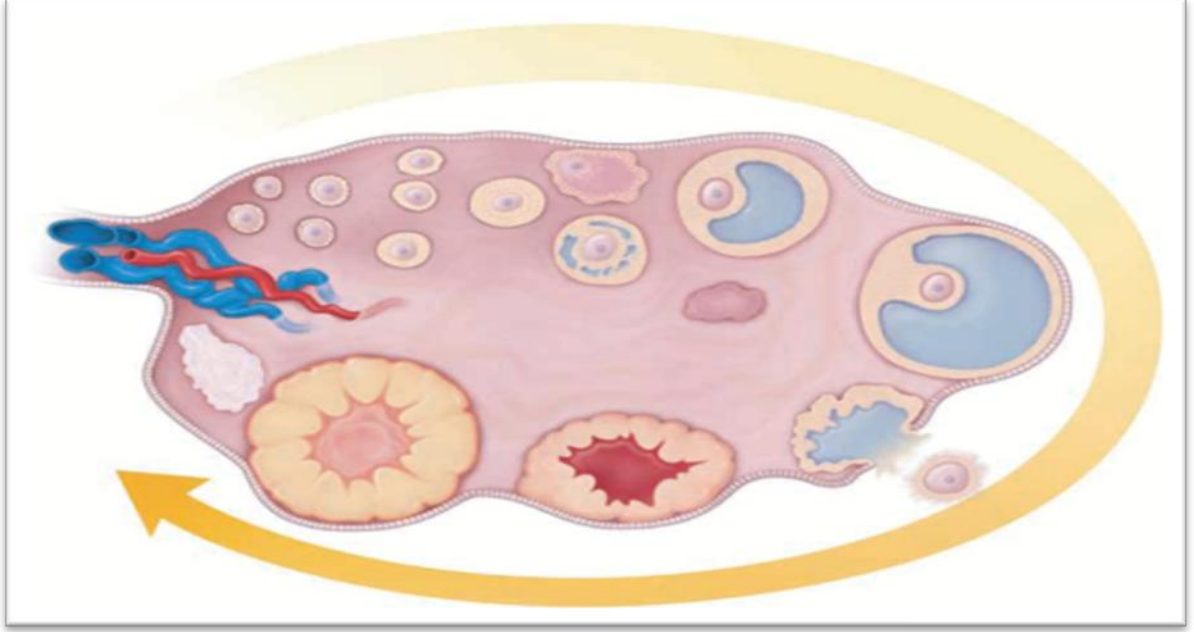
Olgun hale gelmiş ovaryumda, primordiyal foliküller korteksin stromasında tunikaalbugineada yer almaktadır. Oosit tek bir tabaka halinde olan yassı folikül hücreleri ile çevrilidir. Folikül hücrelerinin dış yüzeyi lamina ile sınırlandırılmıştır (27). Bu folikül hücreleri veziküllerin, golgi kompleksinin, mitokondriyonların, lizozomun birlikte oluşturduğu Balbiana cisimciğini içermektedir (16).



Şekil 2. 2. Ovaryumun histolojik yapısı (28).

### 2.1.3.1.Foliküllerin Gelişimi

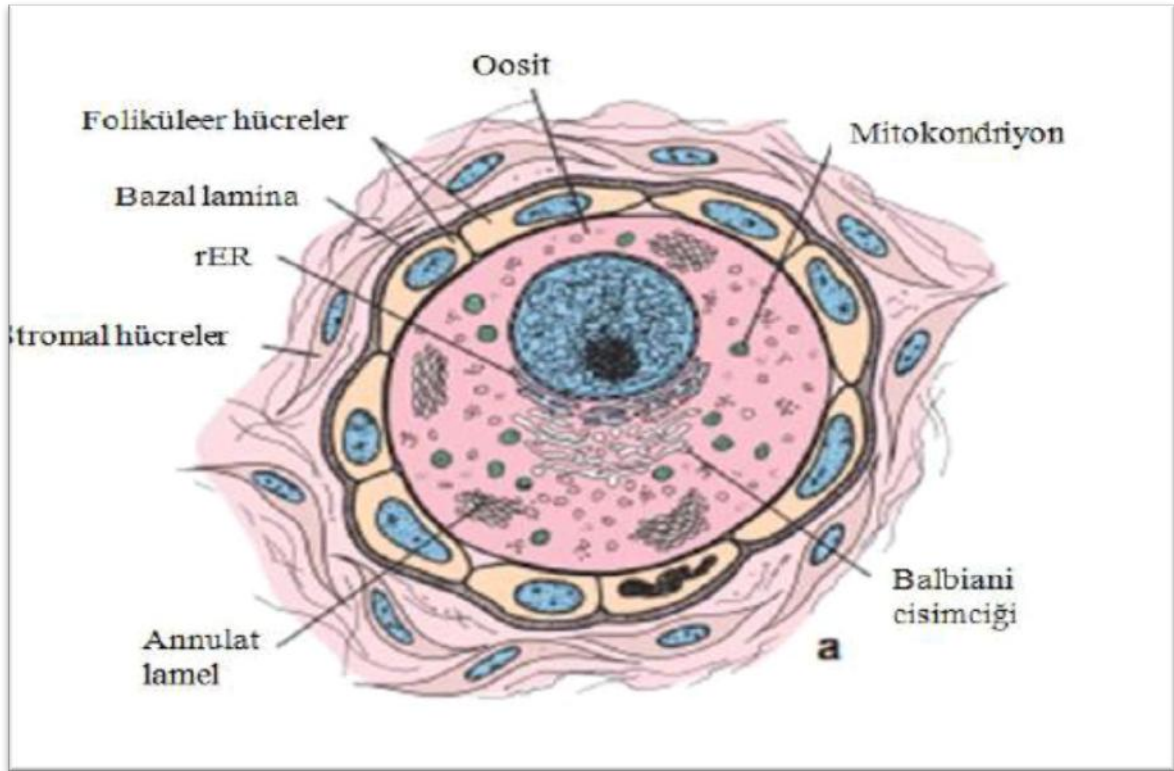
Foliküllerin gelişim sürecine folikülogenez denir. Ovaryumun korteksinde gerçekleşir. Folikülogenez, gebeliğin 18.- 20. haftalarında fetal hayatta başlar ve menopozda son bulur.



Şekil 2. 3. Folikülogenez (22).

#### 2.1.3.1.1. Primordiyal Folliküller

Folikülogenezin ilk aşamasında bulunan folliküllerdir. Primordiyal folliküllerin ovaryumdaki yerleşimi tunika albugineanın hemen alt kısmında gerçekleşmektedir. Primer oosit etrafını çevreleyen yaklaşık 30 µm çapında olan oosit ile tek katlı yassı hücrelerden meydana gelir. Follikül hücrelerinin çevresi bazal membranla çevrili bir şekildedir (19). Primordiyal folliküller organellerden zengindir, içerisinde golgi kompleksi, yaygın endoplazma retikulum, bol miktarda mitokondriyon, lizozom, annuler lameller bulunur. Aynı zamanda içerisinde büyük bir nükleusu vardır ve stoplazma kısmında Balbiani cisimciği bulunmaktadır (27).

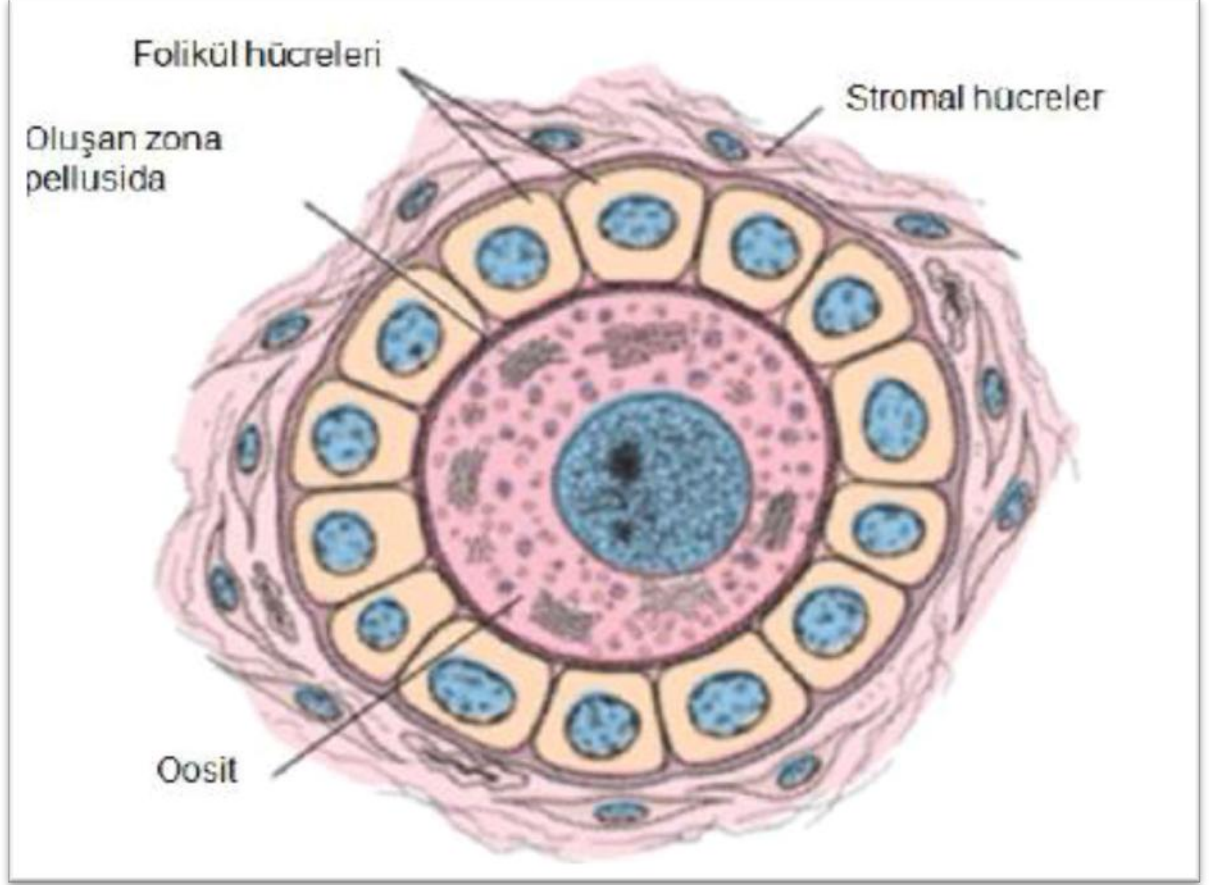


Şekil 2. 4. Primordiyal follükül (28).

#### 2.1.3.1.2. Gelişmekte Olan Follüküller

Primordiyal follükülde bulunan yassı hücreler büyüyerek kübik hücre, sonrasında ise prizmatik hücreler halini almaktadır. Primordiyal hücreler kübik hücrelere dönüştüğünde artık primer follükül halini almış demektir. Bununla beraber büyümekte olan oosit glikozaminoglikanlar ile glikoproteinleri çevresine salgılar. Bu salgı oosit ile follüküller hücreleri arasında zona pellusida bölgesini oluşturmaktadır (16,22). Zona pellusidada sperm için gerekli olan reseptörler bulunmaktadır. Oosit ile follüküllerin epitelyum hücreleri gapjunctionlarla birbirlerine bağlanırlar. Bu bağlanma ile follükül hücreleri ve oosit arasında besinsel ileti meydana gelir. Oositin etrafındaki hücreler artarak çok katlı epitelyum halini alırlar. Oluşan yeni epitelyum stratumgranülozom adını alır. Çok katlı ya da tek katlı prizmatik epitelde bulunan değişik boyuttaki follüküller primer follükül olarak adlandırılır. Eğer follükül tek katlı epitelyum içeriyorsa unilaminer primer follükül, çok katlı epitelyum içeriyorsa multilaminer primer follükül ismini alır. Diğer yandan bağ dokusunda bir takım değişiklikler meydana gelmektedir. Stroma, follükül etrafında sıkı bir doku oluşturmaktadır. Oluşan bu doku teka follükülü olarak adlandırılmaktadır. Teka follükülü; teka interna (iç tabaka), teka eksterna (dış tabaka) olmak üzere ikiye ayrılır. Teka internada bol miktarda

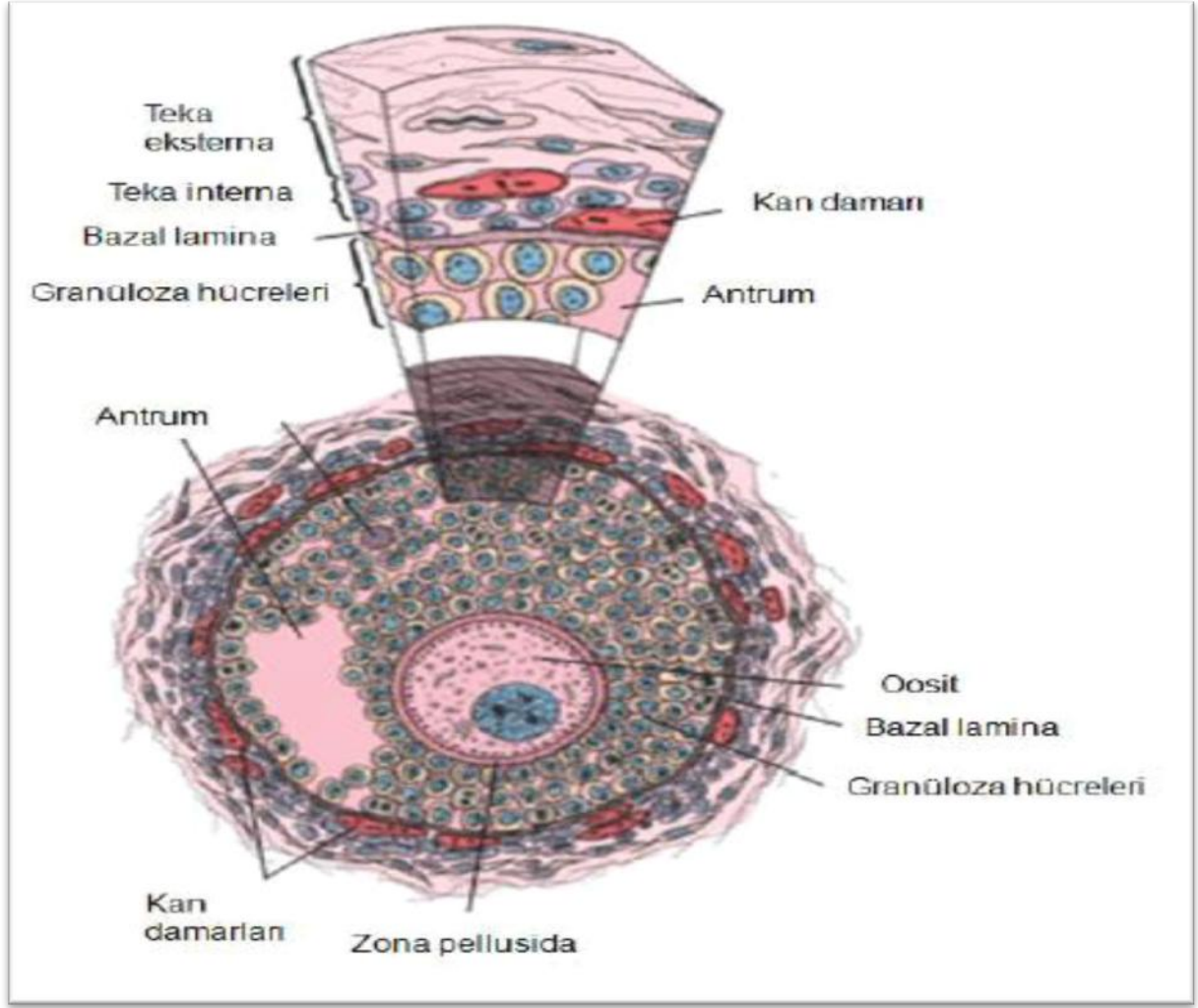
kan damarları bulunmaktadır. Teka eksternada ise bol miktarda kollejen lifleri ve düz kas hücreleri bulunmaktadır (16, 22).



Şekil 2. 5. Gelişmekte olan follükül (28).

### 2.1.3.1.3. Gelişmiş Follüküller

Multilaminer primer follükülde stratum granulozum yeteri kadar büyüdüğünde hücreler arası şeffaf bir sıvıyla dolarak, düzenli olmayan boşluklar ortaya çıkar. Oluşan follüküle, gelişmiş follükül adı verilir. Sıvı dolu boşluklar bir araya gelerek antrum adı verilen hilal şeklinde tek bir yapı oluşur. Oluşan bu antrumhiyaluronik asitten zengin follükül sıvısını içermektedir. Hiyaluronik asit suyu tutarak follükül çapının artmasını sağlamaktadır (16, 22).

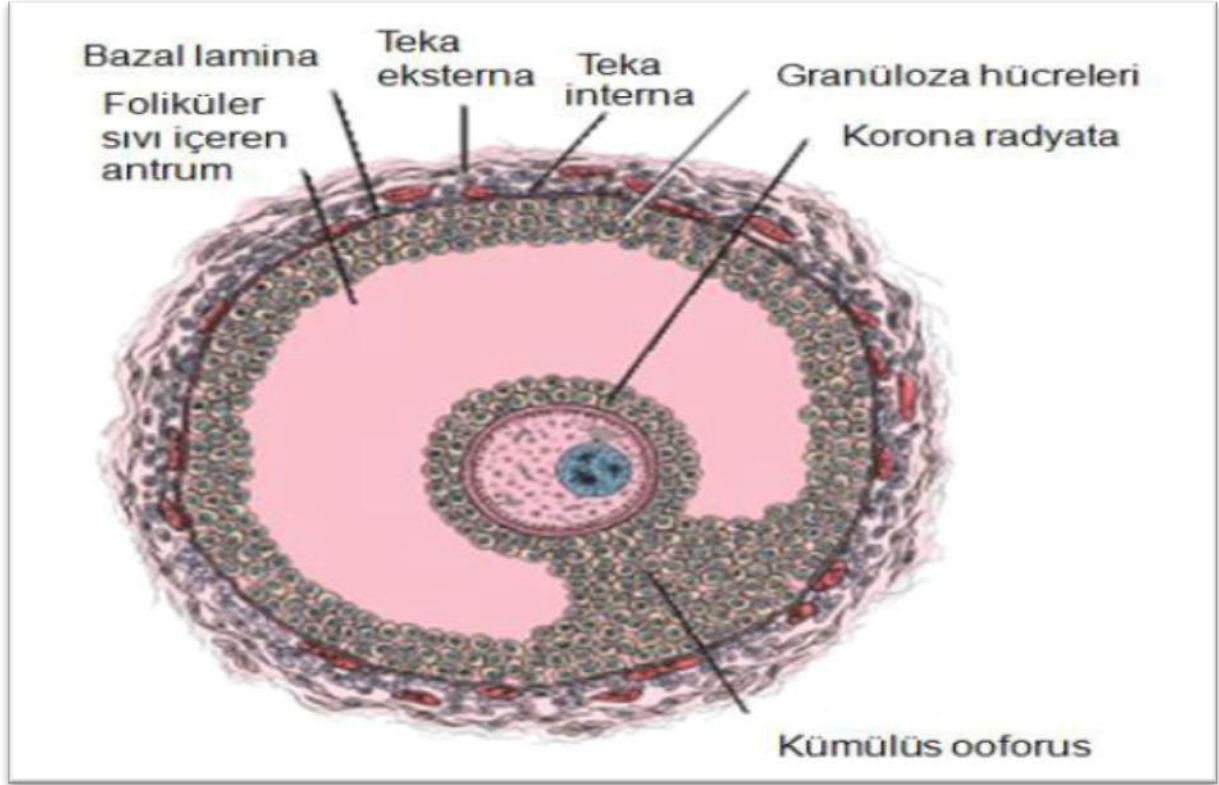


Şekil 2. 6. Gelişmiş folikül (sekonder folikül) (28).

#### 2.1.3.1.4. Atretik Follikül

Atretik folliküllerin çapı yaklaşık 10 mm ya da daha fazladır. Follikülün gelişme dönemi devam ederken follikül içindeki sıvı artar ve antrumun genişliği arttıkça oosit follikülü bir kenara doğru itilir. Oosit ve etrafındaki granuloza hücreleri follikül lümenine doğru uzanarak kümülüs ooforus olarak adlandırılan bir tümsek oluşturur. Oositi çevreleyen granuloza hücrelerine korona radiata denilmektedir. Granuloza hücrelerinden oluşan, antrum boşluğunu çevreleyen çok katlı hücre tabakasına membran granuloza adı verilmektedir. Granuloza hücreleri arasında PAS (+) vacall-Exner cisimcikleri olarak adlandırılan extraselüler materyallerde folikül içerisinde bulunur. Aynı zamanda hyaluronik asit ve proteoglikanlardan da zengindir (16, 22). Yeteri büyüklüğe erişen follikül, ovaryum yüzeyine doğru kabarrır. Oosit ve oositi saran hücrelerin granuloza hücreleriyle yaptığı bağlantılar gevşer. Gevşeyen oositler atılmaya (ovulasyon) hazırlanır.

Primer oosit atretik follükülün erken döneminde, sekonder oosit ise ileriki dönemlerde bulunmaktadır. Ovulasyona yaklaştıkça atretik follükülün içindeki oosit, sekonder oosit olarak tanımlanır (16, 22).



Şekil 2. 7. Atretik follükül (28).

## 2.2.Sepsis ve Endotoksemi

Sepsis; tüm vücutta bilinen ağır bir enfeksiyon ile alakalı mikrobik hasara cevap olarak immun sistemin uyarıldığı bir durumdur. Bu savunma sisteminin sonuçları ileri düzeyde hipotansiyon, metabolik asidoz, doku hasarı, çoklu organ yetmezliği, akut solunum sıkıntısı (ASSS), akut akciğer hasarı (AAH) hatta ölüm gibi farklı modellerde karşımıza çıkabilir. Altta yatan hastalıklar sebebiyle sepsis tanısını koymak oldukça zordur (3,4). Sepsis, destek tedavileri, antibiyotikler, immunoterapi ajanları ve yeni tedavi seçeneklerine rağmen %90' a varan mortalite oranı yüksek olan, yoğun bakım ünitelerinde yatan kritik hastalar arasında ölüme en çok neden olan bir sağlık sorunudur (3,4).

Endotoksemi; kanda endotoksinlerin bulunduğu durumun varlığını ifade eder (1). Septik şok ve sepsis tanısı konulan hastalarda görülmektedir. Aynı zamanda deneysel çalışmalarda deneysel çalışmalarda lipopolisakkarit (LPS) infüze edildiğinde gram (-) bakterilerin hücre yapısının bazı kısmını meydana getiren endotoksin canlı dokuya infüze

olduktan sonra yangının başlamasını sağlar (2). Gram (-) bakterilerin iç kısmında peptidoglikan tabaka, dış dış kısımda lipopolisakkarit (LPS), fosfolipitler aynı zamanda proteinler yer almaktadır. Endotoksin molekülü LPS tabakada bulunmaktadır ve hücre zarında bulunduğu müddetçe de inaktiftir. Hücrenin büyümesinde ya da hücre yıkımı esnasında endotoksin açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan bu endotoksin, endotoksemide olayları tetikleyen temel moleküldür (2). Endotoksinin, sepsiste oluşan enfeksiyon mortalite ve morbiditesinde önemli bir rolü vardır (9).

### **2.3.Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, reaktif özellikte bir stres türüdür. Antioksidanlar ile oksidanlar arasındaki denge durum bozukluğu olarak da tanımlanabilir. Aynı zamanda moleküler hasara sebep olan oksidanların fazla miktarda olması da oksidatif stresi tanımlar (29). Oksidatif strese sadece olumsuz bir durum olarak bakmamak gerekir. Güvenli bir seviyede olduğu zaman enfeksiyonları azaltmak gibi faydalı etkileri vardır. Fakat oksidatif stres çok yüksek seviyede meydana gelmiş ise nörotoksik etki oluşturur ve protein, karbonhidrat, lipid ve DNA oksidasyonuna sebep olarak hücresel ölümlerle sonuçlanabilir. Bundan dolayı oksidatif stres ciddi bir hücresel hasara sebebiyet verebilir (29,30). Oksidatif stresin artması sonucu oluşan bu hücresel bozuklukları önlemek, aynı zamanda oksidanları azaltmak için antioksidan enzimler kullanılır (29).

Oksidatif katabolizma esnasında meydana gelen elektronları engellemek için organizmalar moleküler oksijeni kullanırlar. Solunum zincirinin en son enzimi sitokromoksidaz olarak adlandırılır. Bu enzim moleküler oksijeni direkt suya indirger. Aynı zamanda mitokondride tüketilen oksijenin bir kısmı süperoksit radikali (O<sub>2</sub>), hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile indirgenir. Meydana gelen serbest oksijen radikali (SOR) hücresel enzimatik işlemlerle bölgeden uzaklaştırılır. Kararlı yapıdaki SOR yoğunluğunun kronik ya da geçici olarak miktarındaki artış sebebiyle metabolizma ve bileşenlere zarar verme durumu da oksidatif stres olarak tanımlanır. Canlılar sistemi SOR'u düşük düzeyde tutmaya yöneliktir. Fakat birtakım olaylar bu durumun bozulmasına neden oluşturmaktadır (31). Bu olaylar arasında:

- ❖ SOR üretimiyle beraber endojen ve eksojen oksidasyona girerek antioksidanları artırması,
- ❖ Antioksidanların tükenmesi

- ❖ Antioksidan enzimlerinin tesirinin azalması
- ❖ Moleküler kütlesi düşük olan antioksidanların üretim miktarının azalması yer almaktadır (31).

### **2.3.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz, 1969 tarihinde McCard ile Fridovich tarafından ilk kez tanımlanmıştır (32). Süperoksit dismutaz (SOD), metalloenzim özelliğine sahip bir enzimdir. Canlı dokularda meydana gelen oksijen toksisitesi esnasında oksijen dismutasyonunu katalizler (33). SOD pek çok canlı organizma açısından gerekli bir enzimdir. Metalloenzimler, süperoksitlere karşı savunma yaptıklarından dolayı çok fazla organizmada mevcuttur (34). SOD, nikel, demir, bakır, çinko, mangan gibi elementleri içeren bir proteindir ve canlı organizmaları süperoksitlerden arındırmak için reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı ilk savunma gösteren yapılardır. Canlılarda SOD üç formda bulunmaktadır. İlki bakır ve çinko içeren SOD1 (Cu/Zn SOD) formudur. İkinci formu mangan içeren SOD2 (Mn SOD) formudur ve mitokondride yer alır. Üçüncü formu ise SOD3, ekstrasellüler SOD'dur (EC SOD) ve ekstrasellüler bölümde yer alarak dışarıdan gelen süperoksitlere karşı hücreyi savunur (35). SOD'un metabolizmada yetersiz miktarda olması ROT'ların çok fazla miktarda birikmesine neden olur. Bundan dolayı da makromoleküller (DNA, proteinler, lipitler) ile hücre zarı zarar görür. SOD enzimi, süperoksit serbest radikallerinin oksijeni tutan hücrelere zarar vermesini engeller. SOD enzim aktivitesi, oksijeni yüksek seviyede kullanan dokularda fazla miktarda bulunmaktadır (34).

### **2.3.2.Katalaz (CAT)**

Katalaz enzimi,  $H_2O_2$  inorganik haberci olup, hücreler tarafından aerobik solunum esnasında üretilir. Oksijeni kullanan hücrelerde bol miktarda bulunmaktadır. Hafif düzeydeki stresle ilişkili olarak proteinler ile antioksidan enzimlerin ekspirasyonunu uyarıp oksidanlara yanıt oluşmasına sebep olur. Katalaz (CAT) enzimi  $H_2O_2$  molekülünü su ve oksijene indirgeyen bir enzimdir (36).

### **2.3.3.Malondialdehit (MDA)**

Malondialdehit (MDA) enzimi, lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerindedir. Aynı zamanda MDA enzimi membranların çapraz bağ oluşturmasına yardımcı olur. Böylece membranlar çapraz bağla bağlanmış olur. Bununla birlikte MDA, DNA'nın nitrojen bazlarını etkileyebilir. Bu sebeple MDA enzimi mutajenik, genotoksik ve karsinojeniktir (31).

### **2.4.Borik Asit**

Kimyasal gösterimi "B" olan bor elementinin atom numarası 5'tir. Doğada katı halde bulunan bor elementinin erime noktası  $2190\pm 20$  °C ve kaynama noktası ise 3927 °C'dır. Metal-Ametal arasında yarı iletken özellikte bir elementtir. Borun molekül ağırlığı 10,81, özkütlesi ise 2,34 g/cm<sup>3</sup>'tür. Bor ismi Arapça ve Farsça kaynaklarda Buraq ve Burah olarak geçmekte ve bu adlandırma günümüzde Bor biçimiyle kullanılmaktadır (37,38). Bor oksijenle çok kolay bir şekilde etkileşime girdiği için doğada borat denilen oksijen – bor bileşenleri şeklinde görülür. Bu bileşenler arasında en fazla kullanılan, bor oksit ve borik asittir. Aynı zamanda bor elementi, sodyum, magnezyum ve kalsiyum elementleriyle de etkileşime girerek; boraks, üleksit ve kolemanit gibi bileşenleri oluşturur. Oluşan bu bileşenler doğal borat olarak bilinir (39).

Dünyanın en fazla bor rezervi Türkiye'dedir. Bor rezerv oranı ülkemizde %58 oranda olmasından dolayı ülkemiz dünya sıralamasında birinci sırada yer almaktadır (40). Türkiye'de bulunan bor rezervi tek başına tüm dünyaya 400 yıl yetebilecek kadardır. Bor rezerv oranı açısından Türkiye'yi ABD ile Rusya takip etmektedir (41).

Bor dünyada birçok alanda ve sektörde kullanılmaktadır. Kullanım alanlarının başlıcaları cam ve cam ürünleri, seramik, tarım, sanayi, çimento ve sağlıktır (42). Bor elementi yiyeceklerle ve içme sularıyla vücuda alınan bir elementtir ve vücutta borik asite dönüşür. Aynı zamanda normal metabolik olaylarda etkilidir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda borik asitin insan vücudunda önemli etkiler oluşturduğu ve birçok hastalıkların tedavisinde faydalı olduğu ortaya konulmuştur (11). Gastrointestinal sistemde borik asitin emilimi gerçekleşmektedir. İnsan vücudunda birçok dokuda borik asite rastlanmaktadır. Borik asit birikimi genellikle kemik, tırnak, kıl, karaciğer ve dalak gibi organlarda olmakla beraber %95 oranında vücuttan atılmaktadır. Borik asitin vücuttan atılımı genellikle idrar yoluyla

olmaktadır (39,43). Sağlık alanında borik asit enerji metabolizmasında, kemik gelişiminde, yara iyileşmesinde ve immün sistemde önemli etkileri olduğu görülmüştür. Bununla beraber oksidatif hasara karşı antioksidan savunmada rol almaktadır ve antioksidan enzim miktarını artırabileceği görülmüştür. Aynı zamanda borik asitin vücutta fazla olması deri dökülmesine, gastrointestinal hastalıklara sebep olduğu görülmüştür (44,45). Son yıllarda yapılan araştırmalarda borik asitin, akciğer kanseri, prostat kanseri ve meme kanseri gibi birçok kanser riskini en aza indirdiği görülmüştür (12,13). Aynı zamandasaglık alanında romatoidartrit tedavilerinde, osteoporoz tedavisinde, beyin tümörlerinin iyileştirilmesinde, yara ve yanık tedavilerinde, merhem, gargara ve göz damlalarında kullanıldığı görülmektedir (46,47).

Borik asitin doza bağlı etkisine bakıldığında; düşük dozdaki borik asitte hücrelerde protein artışıyla beraber hücrelerin bölündüğü fakat lipid ve protein oranında herhangi bir artış olmadığı gözlenmiştir. Yüksek doz borik asitin alımında ise protein oranı düşmüş ve hücrelerde bölünme görülmemiştir. Bundan dolayı yüksek doz borik asitte hücrelerin canlılığında azalma olmaktadır (13).

## **2.5.Lipopolisakkarit (LPS)**

Lipopolisakkarit gram (-) bakterilerin hücre duvarından temin edilen bir endotoksindir. Bakteriyel bir endotoksin olan LPS hayvan deneylerinde septik şok oluşturmak için kullanılır (48,49). Endotoksin bakteriler yoluyla meydana gelen bir toksini belirtse de diğer biyokimyasal ismi de “lipopolisakkarittir”. Her iki terim de gram negatif bakterilerin hücre yüzeyini sararak bakteri hücrelerini dış ortamdan korur (48). Endotoksin ve LPS aynı anlamı ifade etse de bazı farklılıkları mevcuttur. LPS’ nin yapısı saflaştırılmış glikolipit özellikte iken; endotoksin yapısında lipoproteinler, polisakkarit, lipitler ve hücre duvarı proteinleri mevcuttur (49). Kompleks yapıda bir glikolipid olan LPS, bakteriyi dış etkenlerden korumak için fiziksel özellikte bir bariyer meydana getirir aynı zamanda hücre reseptörleri ve antibiyotiklerle etkileşime girer. Endotoksin özelliğinden dolayı, doku hasarına sebep olan olayları ve bu olaylarla alakalı patalojiiyi başlatan bir moleküldür (50).

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın planı ve yürütülmesi Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Dalı'nda gerçekleşmiştir. Çalışmaya 18.01.2023 tarih ve 19/001 sayılı kararı ile Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (KAEÜ-HADYEK) onay alınmıştır. Proje TDK-2019-9118 proje kodu ile Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmektedir.

Çalışmamızda Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri laboratuvarlarında yetiştirilen 8-10 haftalık yaklaşık 120-149 gr ağırlığında 32 adet Wister albino cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Çalışma Uluslararası Hayvan Hakları Evrensel Beyannameğine uygun olarak veteriner hekim kontrolünde yapılmıştır. Ağırlıkları tek tek tartılan sıçanlar, ağırlık ortalamaları birbirine yakın olacak biçimde, kafeslere yerleştirilerek 4 grup oluşturulmuştur.

Oda sıcaklığında 18-22°C'de 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu ile standart laboratuvar diyeti ve su ihtiyaçları sağlanmıştır. Sıçanlar deney uygulamasından 10 gün önce karantina altına alınmıştır. Çalışmamızda kullanılan LPS, Borik asit doz miktarları yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak belirlenmiştir (51,52).

#### 3.1.Araştırmanın Şekli ve Deney Planı

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi AR-GE ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma labartuvarında yapılmıştır. Wister albino cinsi 8-10 haftalık 34 adet dişi sıçan 4 gruba ayrıldı:

Grup 1 : Kontrol Grubu (n=8)

Grup 2 :Borik Asit Grubu (20 mg/kg tek doz 14 gün i.p) (n=8)

Grup 3: Borik Asit+LPSGrubu(20mg/kg 14 gün i.p+7,5mg/kg LPS tek doz (i.p)(n=8)

Grup 4 : LPS Grubu (7,5mg/kg 14. gün tek doz i.p) (n=8) (Tablo 3.1.)

**Tablo 3. 1.** Deney grupları.

Grup Adı	Uygulama	Miktar	Doz
1 Kontrol	8	Yok	
2 Borik asit grubu	8	Borik asit 20 mg/kg	Tek doz/gün
3 Borik asit + LPS grubu	8	Borik asit+LPS20 mg/kg+7,5mg/kg	Tek doz/gün
4 LPS grubu	8	LPS7,5mg/kg	Tek doz/gün



**Şekil 3. 1.** Deney hayvanlarının kafeslerde gruplandırılması.

Grup 1 kontrol grubu (K) olarak planlandı. Bu grupta 8 adet rat bulunmaktaydı. Sıçanların rahat hareket etmesi için iki kafese ayrıldı. İlk 4 sıçan birinci kafeste, ikinci 4 sıçan ise ikinci kafeste olacak şekilde yerleştirildi. Deney başlamadan önce sıçanların ağırlıkları tartıldı ve kuyruklarına işaret konularak kayıt altına alındı. Cerrahi işlem öncesinde de sıçanların ağırlıkları tartılıp kaydedildi. Deney boyunca (14 gün) kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmadı. Deney sonlandırılacağı zaman 60 mg/kg (canlı ağırlık) Ketamin ve 10 mg/kg (canlı ağırlık) Ksilazin intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi oluşturuldu. Genel anestezi altında intrakardiyak yolla kan örnekleri alınarak uygun tüplerine boşaltıldı. Sonrasında ise çalışma yapılacak olan ovaryumlar cerrahi yöntemle çıkarıldı ve sonrasında servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Tablo 3. 2.** Kontrol grubu deney öncesi ve sonrası ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar cerrahi işlem öncesi).

		19.10.2023/gr	02.11.2023/gr
<b>KONTROL</b>	K1	134	186
	K2	164	168
	K3	151	178
	K4	123	148
	K5	151	180
	K6	113	170
	K7	113	170
	K8	152	169

Grup 2 borik asit grubu (BA) olarak planlandı. Borik asit grubunda 8 adet rat bulunmaktaydı. İlk 4 sıçan birinci kafeste, ikinci 4 sıçan ise ikinci kafeste olacak şekilde yerleştirildi. Deney başlamadan önce sıçanların ağırlıkları tartıldı ve kuyruklarına işaret konularak kayıt altına alındı. Bu gruba 14 gün boyunca aynı saatte 20 mg/kg borik asit intraperitoneal (i.p) yolla uygulandı. Çalışmanın 15. günü Ketamin 60 mg/kg (canlı ağırlık) ve 10 mg/kg Ksilazin intraperitoneal (i.p) yolla uygulanarak anestezi oluşturuldu ve intrakardiyak yolla kanları alındı ve uygun kan tüplerine boşaltıldı. Sonrasında çalışma yapılacak ovaryumlar cerrahi yöntemle çıkarılarak servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Tablo 3. 3.** Borik asit grubu deney öncesi ve sonrası ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar cerrahi işlem öncesi).

		19.10.2023/gr	02.11.2023/gr
<b>BOR</b>	B1	125	172
	B2	147	195
	B3	147	162
	B4	146	159
	B5	143	157
	B6	130	128
	B7	125	178
	B8	130	175

Grup 3 Borik asit+LPS grubu (BA+LPS) olarak planlandı. Bu grupta 8 adet sıçan bulunmaktaydı. İlk 4 sıçan birinci kafeste, ikinci 4 sıçan ikinci kafeste olacak şekilde yerleştirildi. Sıçanların ağırlıkları deney başlamadan önce tartıldı ve kuyruklarına işaret konularak kayıt altına alındı. Ayrıca bu gruptaki sıçanlar LPS uygulanmadan önce ve cerrahi işlem yapılmadan önce de tartıldı. Bu gruba da 14 gün boyunca aynı saatte 20mg/kg borik asit i.p yolla uygulandı. 14. gün sonunda sepsis oluşturmak için grupta bulunan 8 sıçana Bir gece önceden LPS 7,5 mg/kg i.p yolla uygulandı. Sonrasında 12 saat gözlemlenerek sepsis tablosunun oluşması beklendi. 15. gün deneyi sonlandırmak için 60mg/kg (canlı ağırlık) Ketamin ve 10 mg/kg (canlı ağırlık) Ksilazin i.p uygulanarak anestezi etki oluşturuldu ve genel anestezi altında intrakardiyak yolla kan örnekleri alınarak kan tüplerine boşaltıldı. Sonrasında ovarium dokuları cerrahi yöntemle çalışma yapılmak üzere çıkarıldı ve servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Tablo 3. 4.** Borik asit+LPS grubu deney öncesi, LPS öncesi ve cerrahi işlem öncesi ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar LPS uygulamadan önce, üçüncü ağırlık cerrahi işlem öncesi).

		19.10.2023/gr	01.11.2023/gr	02.11.2023/gr
<b>BORİK ASİT+LPS</b>	B+LPS1	135	159	149
	B+LPS3	145	176	158
	B+LPS4	140	162	158
	B+LPS5	140	167	158
	B+LPS6	120	137	129
	B+LPS7	145	166	146
	B+LPS8	146	156	178

Grup 4 Lipopolisakkarit (LPS) grubu olarak planlandı ve deney boyunca hiçbir işlem yapılmadı. Grupta 8 adet sıçan bulunmaktaydı. İlk 4 sıçan birinci kafeste, ikinci 4 sıçan ikinci kafeste olacak şekilde yerleştirildi. Sıçanların ağırlıkları deney öncesi, LPS öncesi ve cerrahi işlem öncesi tartıldı. Gruptaki 8 sıçana LPS uygulandı. 14. gün sonunda sepsis oluşturmak için LPS 7,5 mg/kg i.p yolla uygulandı. Sonrasında 12 saat gözlem yapıp sepsis oluşması beklendi. Sepsis tablosu gözlemlendikten sonra deneyi sonlandırmak için 60 mg/kg (canlı ağırlık) Ketamin ve 10 mg/kg (canlı ağırlık) Ksilazin i.p uygulanarak anestezi etki oluşturuldu ve genel anestezi altında intrakardiyak yolla kan örnekleri

alınarak kan tüplerine boşaltıldı. Sonrasında ovaryum dokuları cerrahi yöntemle çalışma yapılmak üzere çıkarıldı ve servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Tablo 3. 5.** LPS grubu deney öncesi, LPS öncesi ve cerrahi işlem öncesi ağırlık tablosu (birinci ağırlıklar deneye başlamadan önce, ikinci ağırlıklar LPS uygulamadan önce, üçüncü ağırlık cerrahi işlem öncesi).

		19.10.2023/gr	01.11.2023/gr	02.11.2023/gr
<b>LİPOPOLİSAKKARİT</b>	LPS1	131	158	139
	LPS2	132	146	137
	LPS3	137	146	135
	LPS4	138	169	152
	LPS5	138	146	131
	LPS6	130	144	132
	LPS7	149	147	134
	LPS8	125	172	168

Uygulamaların tamamı günün aynı saatinde yapıldı. Deneyin 15. gününde her gruba intraperitoneal yolla ketamin hidroklorid 60 mg/kg ve 10 mg/kg ksilazin HCL (%2 ksilazin hydrochloride) verilerek anestezi etkisi sağlandı. Sonrasında karın tüyleri traşlanarak ovaryumlar cerrahi yöntemle çıkarıldı. Gruplardan alınan ovaryum dokularının yarısı alüminyum folyoya sarılarak -80°C' ye kaldırılırken diğer yarısı %10'luk Formaldehit solüsyonuna konuldu. Formaldehit solüsyonundaki doku örnekleri histokimyasal incelemelere kadar fikse edilerek bekletildi. Ovaryum dokuları immünohistokimyasal ve histopatolojik inceleme yapmak için parafine gömüldü. Ovaryum dokularından 5µm kalınlığında kesitler alınıp morfolojik değerlendirme için H&E (Hematoksilen&Eozin) ve massontrikrom ile boyandı. Biyokimyasal analiz için alınan doku örnekleri alüminyum folyoya sarılarak -80°C' de saklandı.

### 3.2. Borik Asitin Hazırlanması

Eti madenden toz halinde elde edilen borik asit hassas terazide 400 mg olacak şekilde tartılarak ependorf tüplerine konuldu. Daha sonra distile su ile total miktarı 10 ml olacak şekilde vortekslenerek dilüe edildi. Borik asit bulunan gruptaki her bir sıçana 20 mg/kg olacak şekilde deney süresince her gün i.p yolla enjekte edildi.



Şekil 3. 2. Eti madenden elde edilen toz halindeki borik asit.



Şekil 3. 3. Borik asitin hassas terazide tartılması (Ave B).



Şekil 3. 4.Tartılan borik asitin ependorf tüplerine boşaltılması.

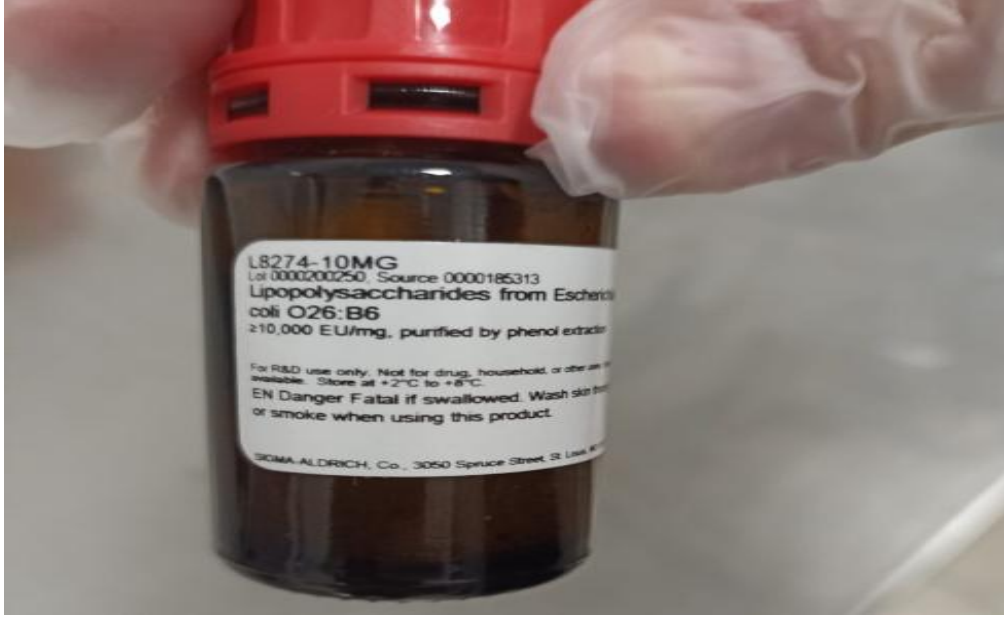


Şekil 3. 5. Borik asitin distile suda çözdürülmesi.

### 3.3. Lipopolisakkaratin Hazırlanması

Deneysel sepsis modeli meydana getirmek için alınan lipopolisakkarit flakonu içerisinde bakteri hücre duvarı makro moleküllerinden biri olan LPS bulunmaktaydı. 10 cc serum

fizyolojik ile sulandırılıp, yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulurak 7,5mg/kg dozunda ayarlanıp deneyi sonlandırmadan bir gece öncesinde Borik asit + LPS ve LPS gruplarından belirlenen sıçanlara intraperitoneal yolla enjekte edildi.



Şekil 3. 6. Deneyde kullanılan Lipopolisakkarit.

### 3.4. Işık Mikroskopisi ve İncelemeleri

#### 3.4.1. Doku Takip Yöntemi

%10 Formaldehit solüsyonunda bekletilen ovaryum dokuları 72 saat tespit edilip sonrasında dehidratasyon işlemi sıralamasından geçirildi. Ksilen ile Őeffaflandırma işlemi yapıldı. Sonrasında dokular 60°C'de erimiş haldeki parafın içerisinde etüvde 1 gece bekletildi ve bloklama işlemi yapıldı.

**Tablo 3. 6.** Işık mikroskopik doku takibi (53).

<b>Sıra</b>	<b>Kimyasal madde</b>	<b>Süre</b>
1	%70 alkol	1 saat
2	%80 etil alkol	1 saat
3	%90 etil alkol	1 saat 30 dakika
4	Absolü alkol	1 saat
5	Absolü alkol	1 saat
6	Absolü alkol	1 saat
7	Absolüalkol+Ksilol	1 saat
8	Ksilol	1 saat
9	Ksilol	1 saat
10	Parafin (60°C)	1 saat 30 dakika
11	Bloklama	20 dakika

### **3.4.2. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi**

Parafin bloklara gömülü olan ovaryum dokularından 5 µm kalınlığında kesitler alınarak hemotoksilen&eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelenerek histolojik değerlendirme için hazır hale getirildi.

**Tablo 3. 7.** Hematoksilen&eoziin boyama tekniği (53).

<b>Sıra</b>	<b>Yapılan İşlem</b>	<b>Süre</b>
1	Etüv (60°C)	2 saat
2	Ksilen	5 dakika
3	Absolü alkol	5 dakika
4	%90 alkol	5 dakika
5	%70 alkol	5 dakika
6	Suda yıkama	5 dakika
7	Hematoksilen	1 dakika
8	Suda yıkama	1 dakika
9	Eozin	1 dakika
10	Suda yıkama	1 dakika
11	%70 alkol	1 dakika
12	%90 alkol	1 dakika
13	Absolü alkol	1 dakika
14	Ksilen	10 dakika
15	Kapatma (entellan)	

### 3.4.3. MassonTrikrom Boyama

**Tablo 3. 8.** Massontrikrom boyama tekniği (53).

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Ksilen	5 dakika
2	Ksilen	5 dakika
3	Ksilen	5 dakika
4	%100'lük alkol	5 dakika
5	%100'lük alkol	5 dakika
6	%90'lık alkol	5 dakika
7	%80'lik alkol	5 dakika
8	%70'lik alkol	5 dakika
9	%50'lik alkol	5 dakika
10	Çeşme suyunda yıkama	2 kez
11	Hematoksilen	6 dakika
12	Çeşme suyunda yıkama	2 kez
13	Asit+alkol (%1'lik)	1 saniye
14	Çeşme suyunda yıkama	2 kez
15	Asit fuksin	20 saniye
16	Distile suda yıkama	2 kez
17	Asetik asit	2 dakika
18	%96'lık alkol	1 dakika
19	%100'lük alkol	1 dakika
20	%100'lük alkol	1 dakika
21	Ksilen	10 dakika
22	Ksilen	10 dakika
23	Ksilen	10 dakika
24	Lam üzerine entellen damlatma	
25	Lamel ile kapatma	
26	Kurumaya bırakma	

### 3.4.4. Histopatolojik Skorlama

Hemotoksilen&eozi ile boyama yapılan doku kesitleri ışık mikroskopunda değerlendirildi. Doku hasarı var mı yok mu, eğer var ise hasarın hangi seviyede olduğunu tespit etmek için mikroskopik alanlar tarandı. Ödem, lökosit infiltrasyonu, hemoraji, konjesyon ve folikül dejenerasyonu gibi histopatolojik değişiklikler olup olmadığı gözlemlendi. Her gruptaki dokudan 50 alan tarandı ve oluşan hasar şiddeti 0-3 arasında değerlendirme yapılarak gösterildi. Bu skorlama en yüksek olan göz önüne alınarak yapıldı. Semikantitatif analiz yapılı ve patolojik bulgu görünmüyor ise 0, inceleme alanında patolojik bulgular görünüyor ise <%33, %33-66, >%66 şeklinde 1, 2, 3 olarak tespit edildi. Her parametrede belirlenen skorlar toplanıp, skorlama hesaplandı. (Tablo 3.9.)

**Tablo 3. 9.** Ovaryum histopatolojik hasar için skorlama (53).

Grade	Hemoraji	Ödem	Vasküler Konjesyon	Lökosit İnfiltrasyonu	Folikül Dejenerasyonu
Grade 0	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok
Grade 1	<%33	<%33	<%33	<%33	<%33
Grade 2	%33-66	%33-66	%33-66	%33-66	%33-66
Grade 3	>%66	>%66	>%66	>%66	>%66

### 3.4.5. İmmün Boyama

**Tablo 3. 10.** İmmün boyama tekniği (53).

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	İnkübasyon ( 60°C)	1 saat
2	Ksilen	5 dakika x 3
3	%96'lık alkol	3 dakika x 4
4	Distile su	1 dakika
5	Antijen geri kazanımı	Sitrat tamponunda 120°C 15k
6	Distile su	1 dakika
7	PBS	1 dakika
8	Hidrojen peroksit blok	15 dakika
9	PBS	1 dakika
10	Protein blok (UV blok)	5 dakik
11	Primer antikor	60-90 dakika
12	PBS	1 dakika
13	Sekonder antikor	15 dakika
14	PBS	1 dakika
15	Streptevadin Peroksidaz	15 saniye
16	PBS	1 dakika
17	AEC Kromojen	10 dakika
18	PBS	1 dakika
19	Distile su	1 dakika
20	Mayer'shemotoksilan	5 dakika
21	Suda yıkama	1 dakika
22	Distile su	1 dakika

### **3.5. Biyokimyasal Analizler**

#### **3.5.1. Malondialdehit (MDA) Düzey Tayini**

Gruplardaki deneklerden alınmış olan dokular daha sonra çalışmak üzere alimünyum folyoya sarılarak -80°C’de saklandı. Doku değerleri MDA kitine uygun bir şekilde çalışılarak ELISA reader’ da 450 nm’de ng/ml olarak miktar tayinleri yapıldı.

#### **3.5.2. Süperoksitdismütaz (SOD) Miktar Tayini**

Deneklerden alınıp alimünyum folyoya sarılarak -80°C’de saklanan doku örneklerinin değerleri SOD kitine uygun bir şekilde çalışılarak ELISA reader’de 450 nm’de ng/ml olarak miktar tayinleri yapıldı.

#### **3.5.3. Catalaz (CAT) Miktar Tayini**

Deneklerden alınan dokular alimünyum folyoda -80°C’de saklanıp CAT kitine uygun bir şekilde çalışılarak ELISA reader’de 540 nm’de ng/ml olarak miktar tayinleri yapıldı.

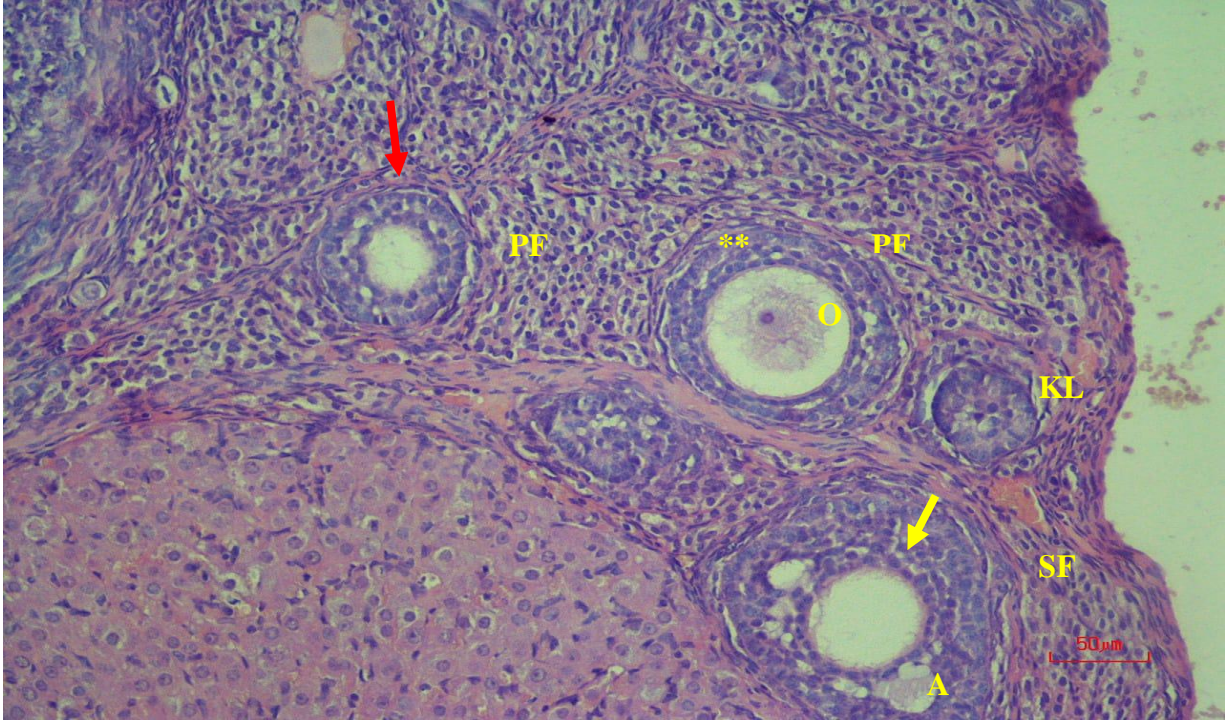
### **3.6. İstatiksel Analiz**

Bu çalışmamızdaki verilerin değerlendirmesi ve kaydedilmesi SPSS 18.0 (istatistical Package for the Social Sciences) programı doğrultusunda yapıldı. One-way ANOVA (Tek yönlü varyans analizi) ile grupların ortalama artı, eski standart sapma açısından farklılıkları yapıldı. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan semikantitatif yöntem ile kaydedilen verilerin ortanca değerlerini ve gruplar arasındaki farklılıkları tespit etmek için Kruskal Wallis Testi yapıldı. Aynı zamanda biyokimyasal analizleri oluşturmak için post hocTukey HSD karşılaştırma testi yapıldı ve gruplar arasındaki elde edilen farklılıklar kaydedildi. Sonuç olarak elde edilen farklılıkların istatiksel olarak anlamlılık  $p<0.05$  şeklinde kabul edildi.

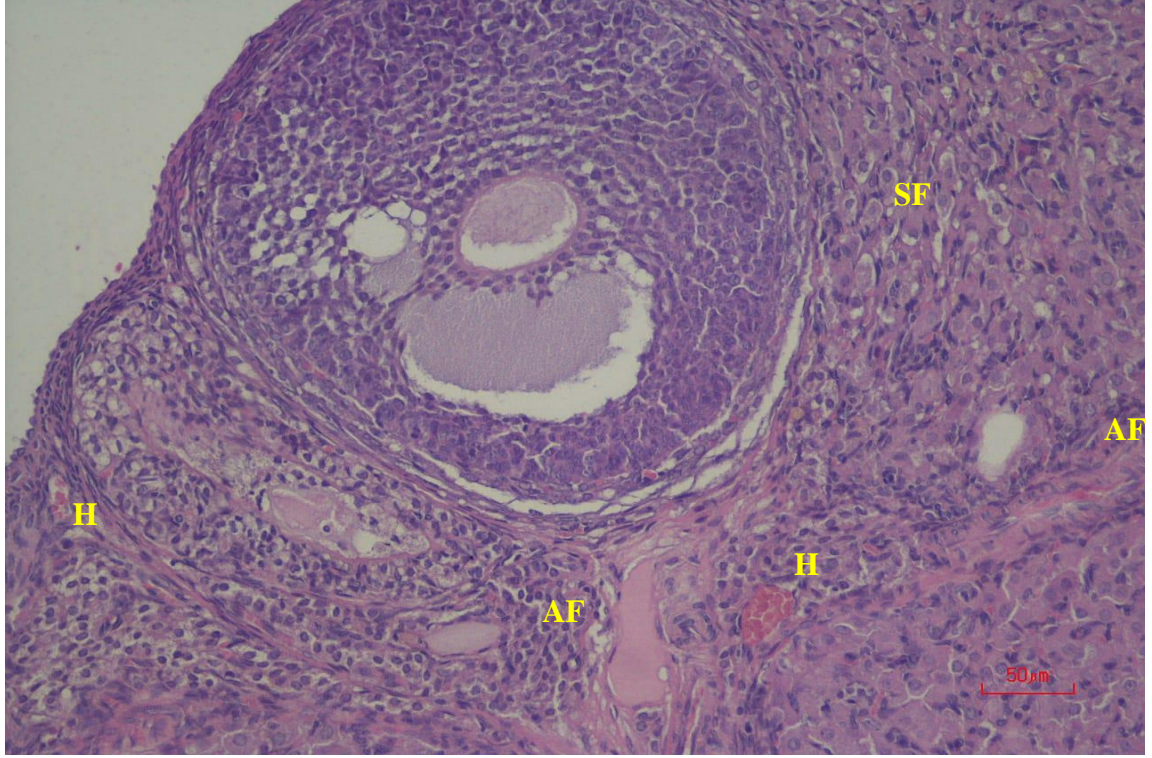
#### **4. BULGULAR**

Yapmış olduğumuz bu çalışmada 32 adet Wester Albino cinsi dişi sıçanlar kullanılarak 4 gruba ayrıldı. LPS ile sepsis oluşturulan sıçanlarda borik asitin koruyucu etkilerinin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesiyle elde edilen çalışma sonucu gözlemlenen bulgular her grup için oluşturulan şekiller ve çizelgeler ile sunuldu. Borik asit ve LPS +Borik asit grubuna 14 gün boyunca borik asit verildi. 14. gün sonunda LPS verilerek 12 saat sonra anestezi altında cerrahi yöntemle ovaryumlar çıkarıldı. Çıkarılan ovaryum dokularının biyokimyasal ve histolojik takipleri yapıldı. Yapılan takipler sonrasında gruplarda oluşan histolojik farklılıklar ışık mikroskopik incelemeler yapılması için H&E ve Masson Trikrom boyama ile boyandı. Grupların hematoksilen eosin ile boyanan doku örnekleri, massontrikrom boyama yöntemi ile boyanan doku örnekleriyle karşılaştırıldığında uyumlu ve destekleyici olduğu görüldü. Alınan doku örneklerinde SOD, CAT ve MDA değerleri ölçüldü.

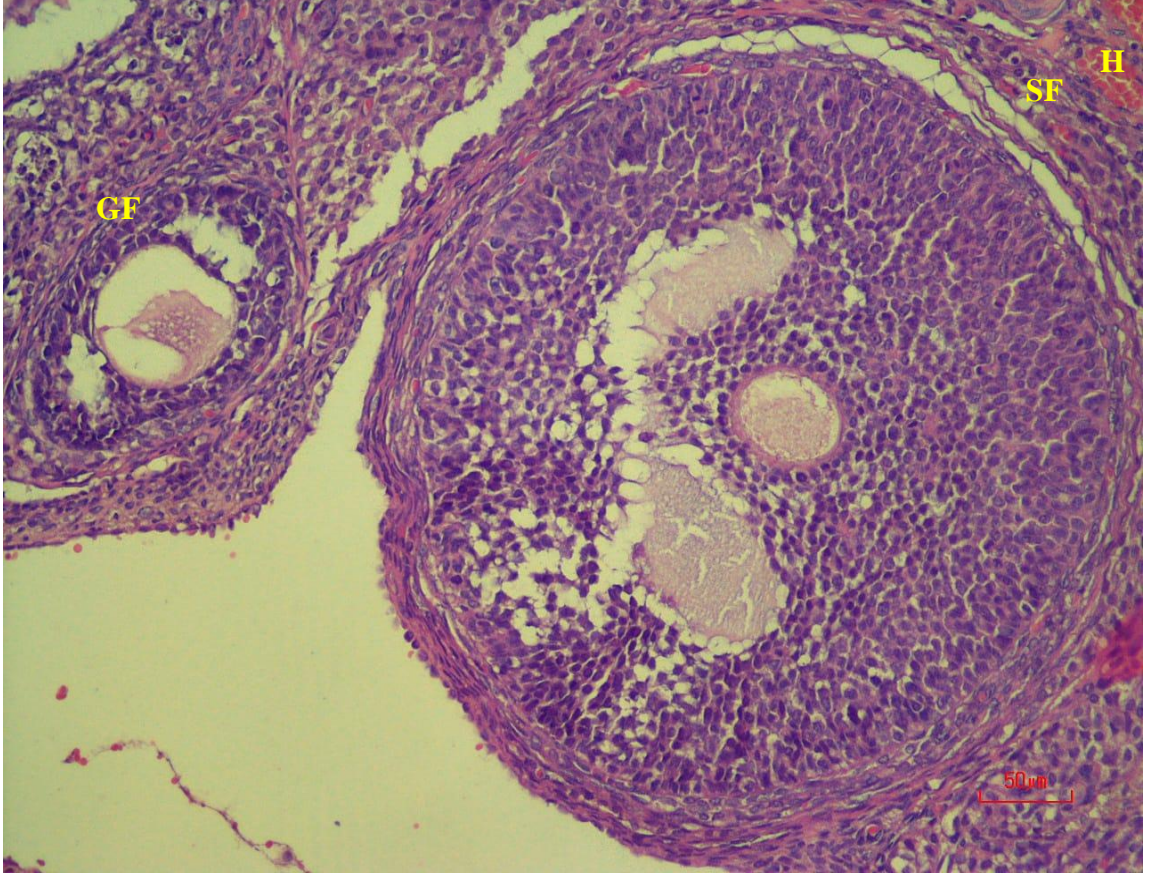
#### 4.1. Hematoksilen Eozin Boyama ile Histolojik Değerlendirme



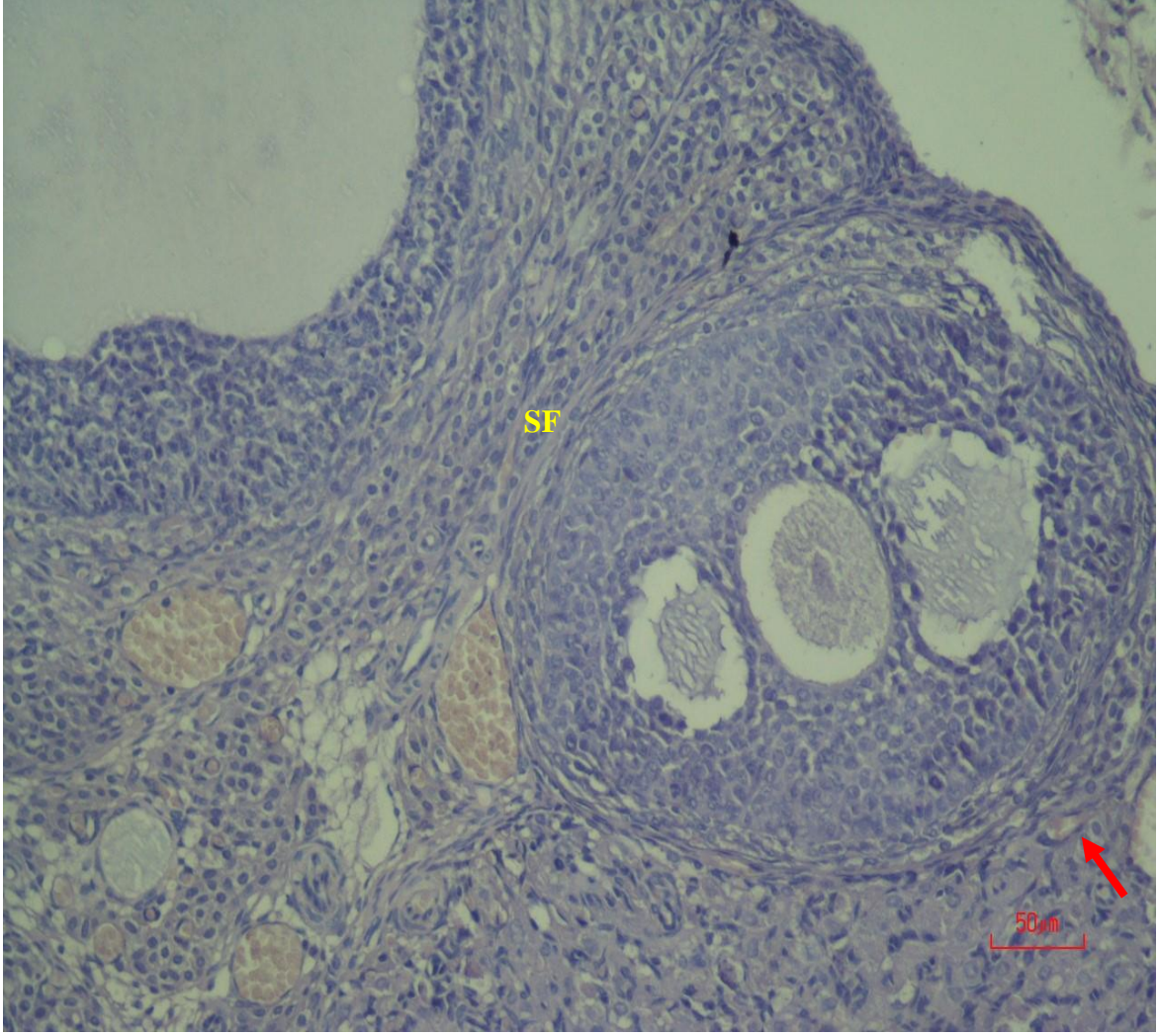
**Şekil 4.1.** Ovaryum kontrol grubuna ait kesitin ışık mikroskopik görüntüsü. Kesite bakıldığında, primordiyal folikül (PF) ve sekonder follikül (SF) görülmektedir. Folliküle ait oosit (O), granüloza hücreleri (sarı yıldız) ve içerisinde oluşan bir antrum (A), bazal membran (kırmızı ok), follikülü saran teka hücreleri (sarı ok) ve korpus luteum (KL) izlenmektedir. H&E Bar=50 µm.



**Şekil 4. 2.** Ovaryumun LPS grubundan alınan kesitin ışık mikroskopik incelemelerinde birçok bölgede hemoraji (H) görülmektedir. Aynı zamanda yer yer dejenere olmuş folliküller izlenmektedir. Folliküllere bakıldığında ise sekonder folliküller (SF) de azalma atretik folliküllerde (AF) ise artış gözlemlenmektedir. H&E Bar=50 µm.



**Şekil 4. 3.** Bor+LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü incelendiğinde ödem ve hemorajik (H) görüntüler izlenmiştir fakat bu görüntülerin LPS grubuna göre daha az olduğu görülmüştür. Sekonder follikül (SF) ve graaf folliküller de (GF) herhangi bir hasara rastlanılmamıştır. H&E Bar=50 µm.



**Şekil 4. 4.** Bor grubuna ait ovaryum kesitinde germinal epitelyum (kırmızı ok) normal görünümde olup, Işık mikroskop altında görünen sekonder follikül (SF) ise yine normal yapısını korumuştur. H&E Bar=50 µm.

Bütün gruplardan elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. İncelemeler sonucunda kontrol grubunda bulunan ovaryum doku örneklerinde histolojik olarak bir farklılık gözlemlenmedi. Sekonder foliküller ve korpus luteum arasındaki bağ dokusu normal olarak izlenmekteydi. Ovaryumda bulunan tek katlı kübik yapıda germinal epitel düzgün dizilimli izlendi. Ovaryumun korteksinde bulunan primordiyal follikül, atretik follikül, unilaminar primer follikül, sekonder follikül ve multilaminar follikül normal olarak gözlemlendi.

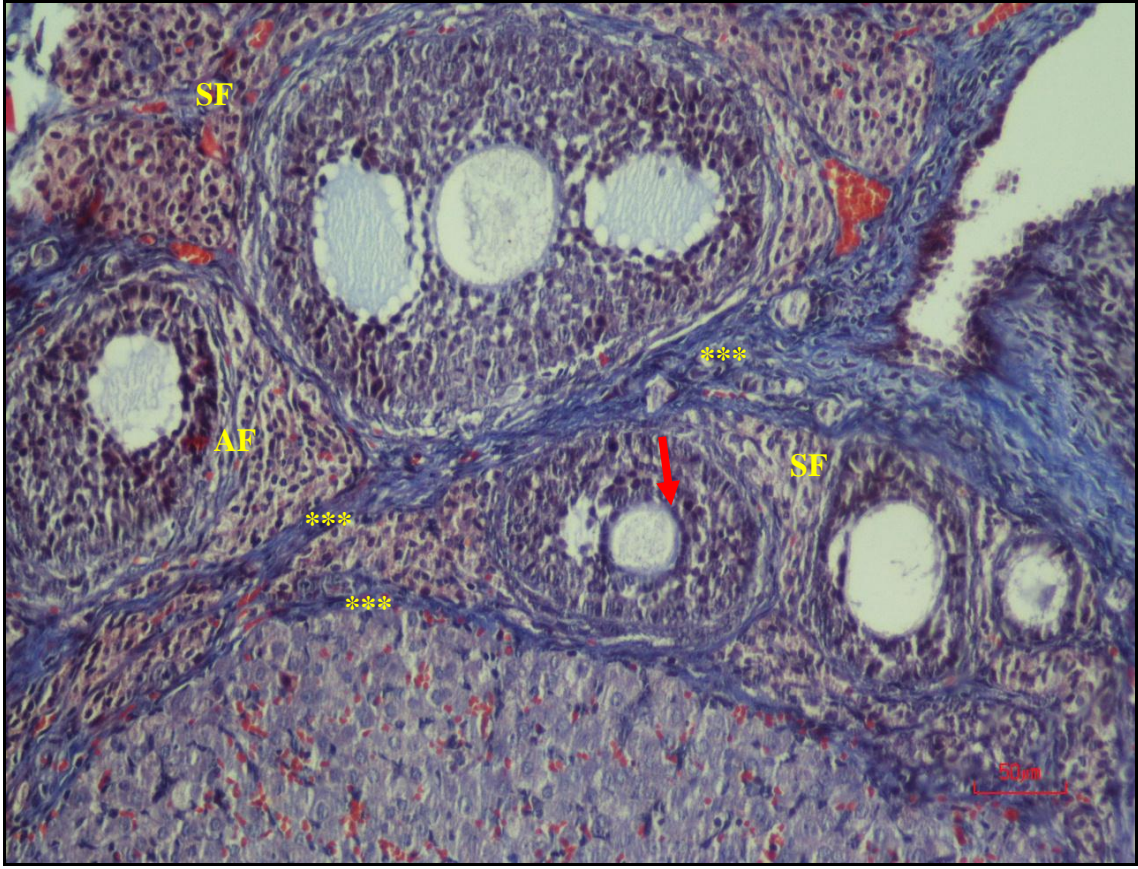
Ovaryum dokularının Borik asit grubu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri incelendiğinde normal histolojik bir görüntüye sahipti. Kontrol grubundaki folliküller fibröz bağ dokudan oluşmuş olan bir kapsülle çevriliydi. Aynı zamanda germinal epitel

kübik hücrelerden meydana gelmekteydi. Ovaryum dokusundaki korteks kısmında korpusluteum, primordiyal follikül, sekonder follikül, primer ve graaf folliküller bulunmaktaydı. Bununla birlikte folliküllerde yer alan zona pellusida ve oosit normal ve düzgün bir şekilde izlenmekteydi. Folliküllerin görüntüsü kontrol grubuyla aynı özelliklere sahipti.

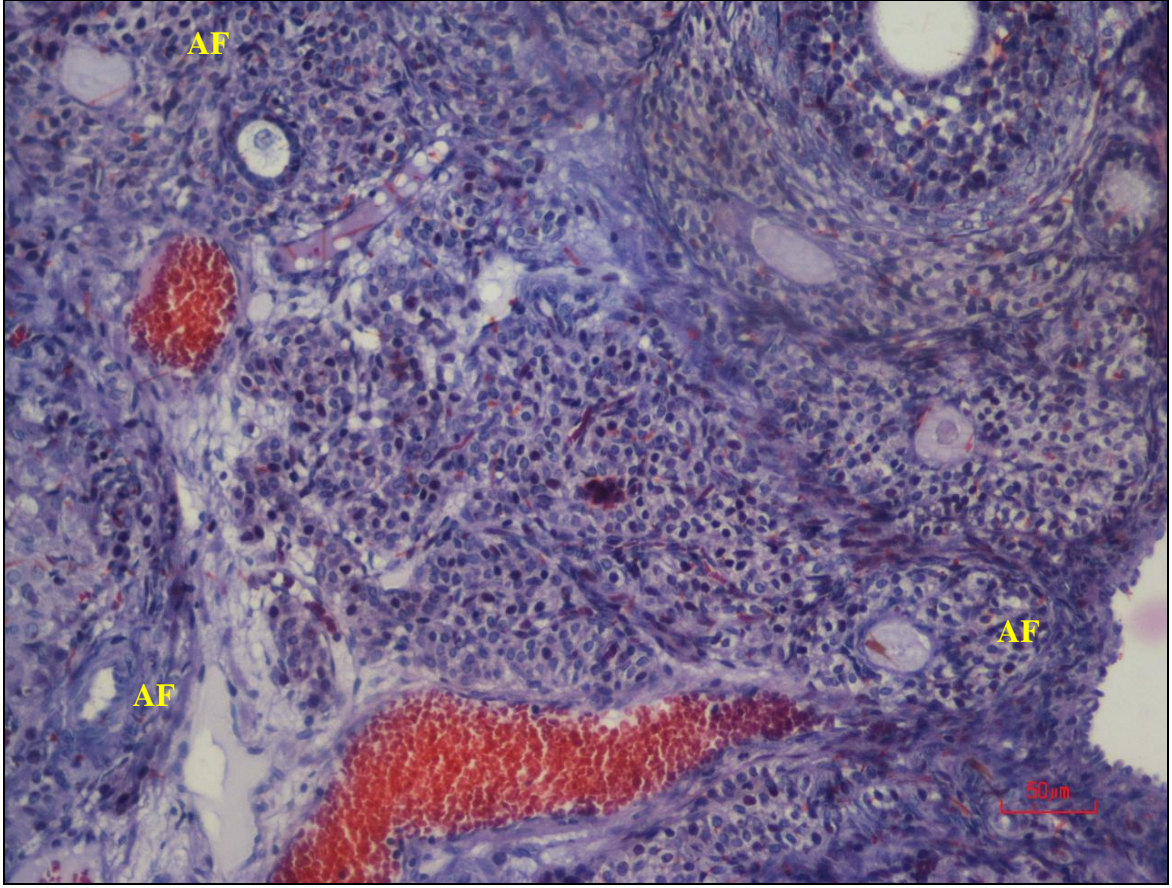
Ovaryum dokularının LPS+Borik asit grubundan alınan ovaryum kesitleri incelendiğinde ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında, sekonder ve graaf follikül sayılarının kontrol ve Borik asit grubuyla benzer olduğu gözlemlendi. LPS+Borik asit grubunda bulunan atretik follikül sayılarının ise LPS grubuna göre anlamlı düzeyde azalma olduğu gözlemlendi.

Ovaryum dokularının LPS grubundan alınan ovaryum kesitleri incelendiğinde, kontrol grubuyla yapılan karşılaştırma sonucunda birtakım değişikliklerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. LPS grubundaki primordiyal follikül sayılarında anlamlı ölçüde azalma belirlendi ( $p<0,05$ ). LPS grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında sekonder follikül sayılarında azalma olduğu gözlemlendi. Atretik follikül sayılarında ise artış olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ). LPS grubunda sekonder ve graaf foliküllerin granüloza hücrelerinde piknotik görünümlü nükleuslar gözlemlendi. Sekonder folliküllerde daha net bir şekilde olmakla beraber tüm foliküllerde ve bağ dokusu alanlarda dejenerasyon bulguları izlendi.

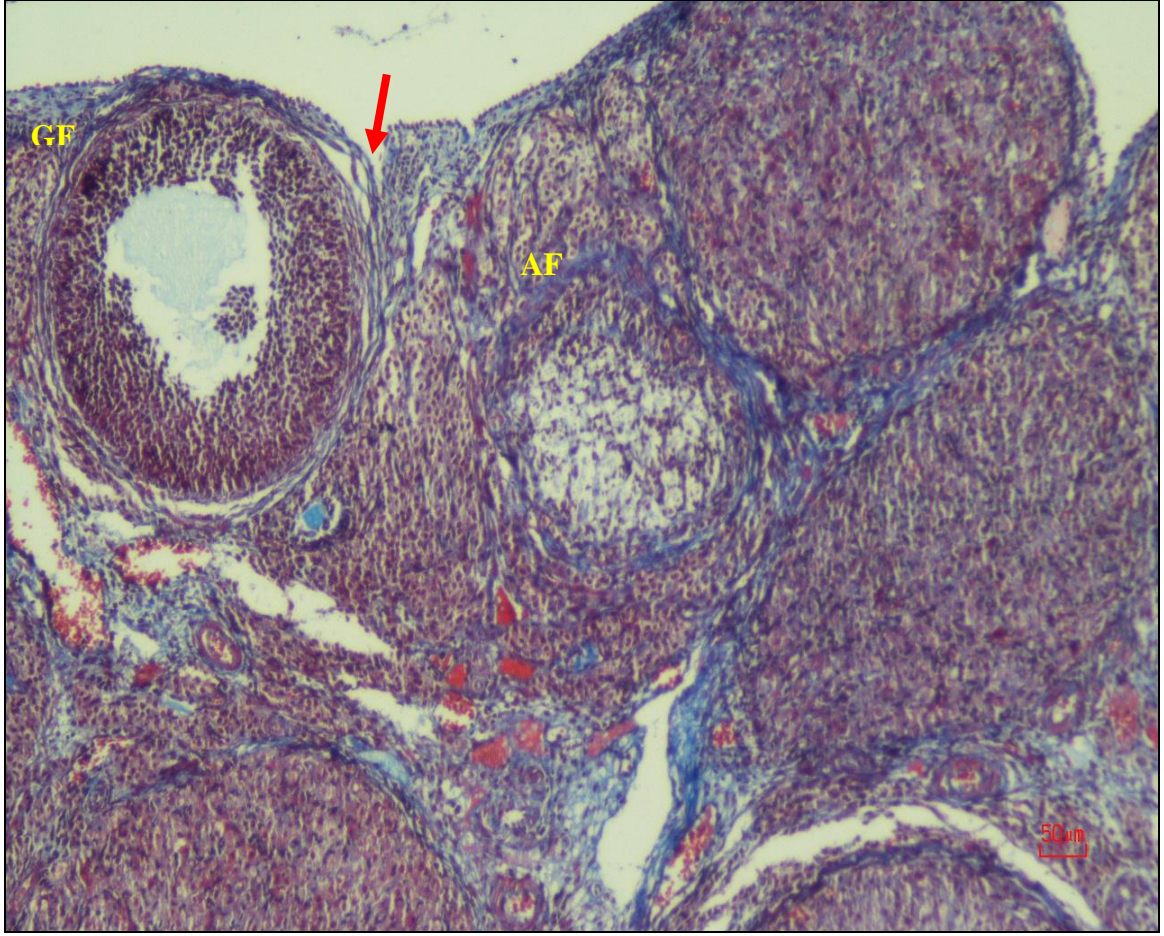
## 4.2. Masson Trikom Boyama ile Histopatolojik Değerlendirme



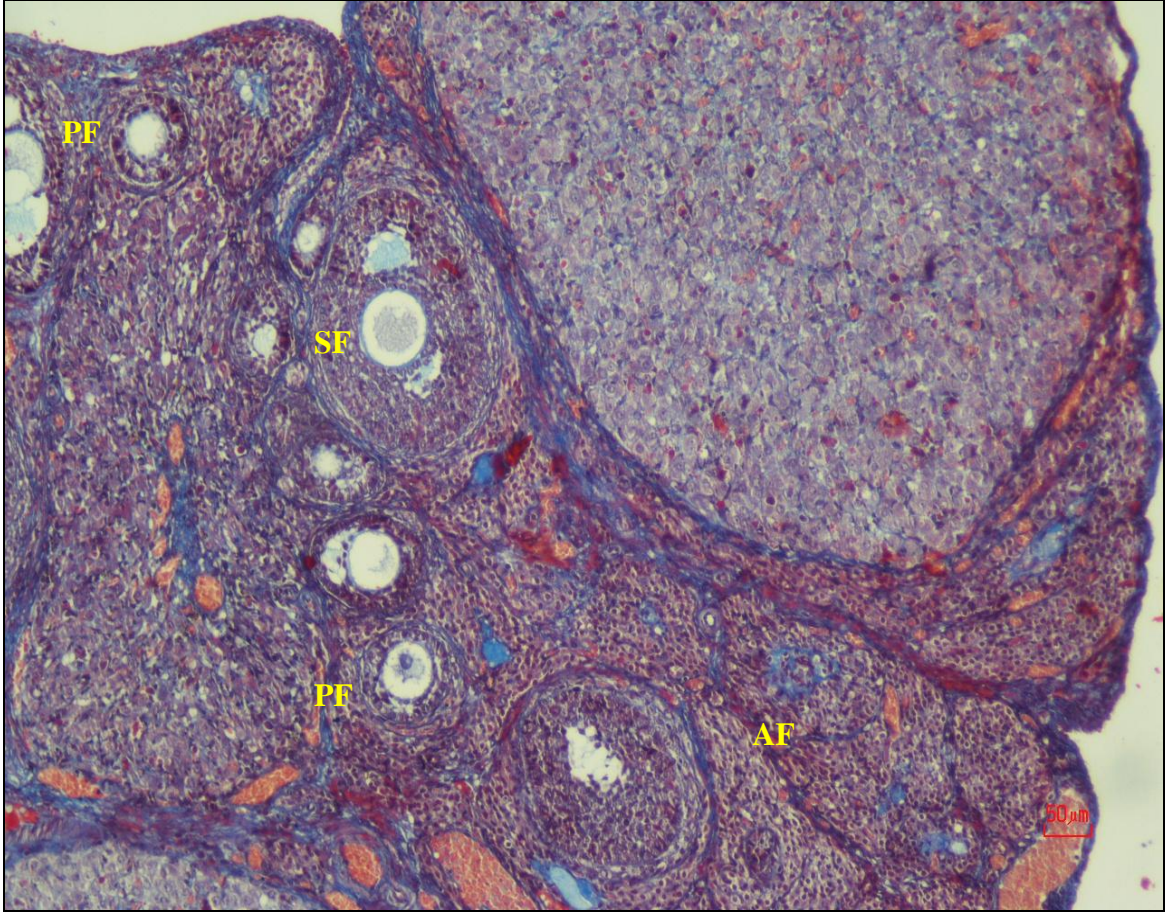
**Şekil 4. 5.** Kontrol grubundan alınan ovaryum kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Görüntü incelendiğinde sekonder folliküller (SF), atretik folliküller (AF) görülmektedir. Sekonder follikül içerisinde mavi renge boyanmış zona pellusida (kırmızı ok) yapısı görülmektedir. Sekonder follikül ve atretik follikül etrafında mavi renge boyanmış bağ dokusu (sarı yıldız) izlenmektedir. Masson Trikom Bar=50 µm.



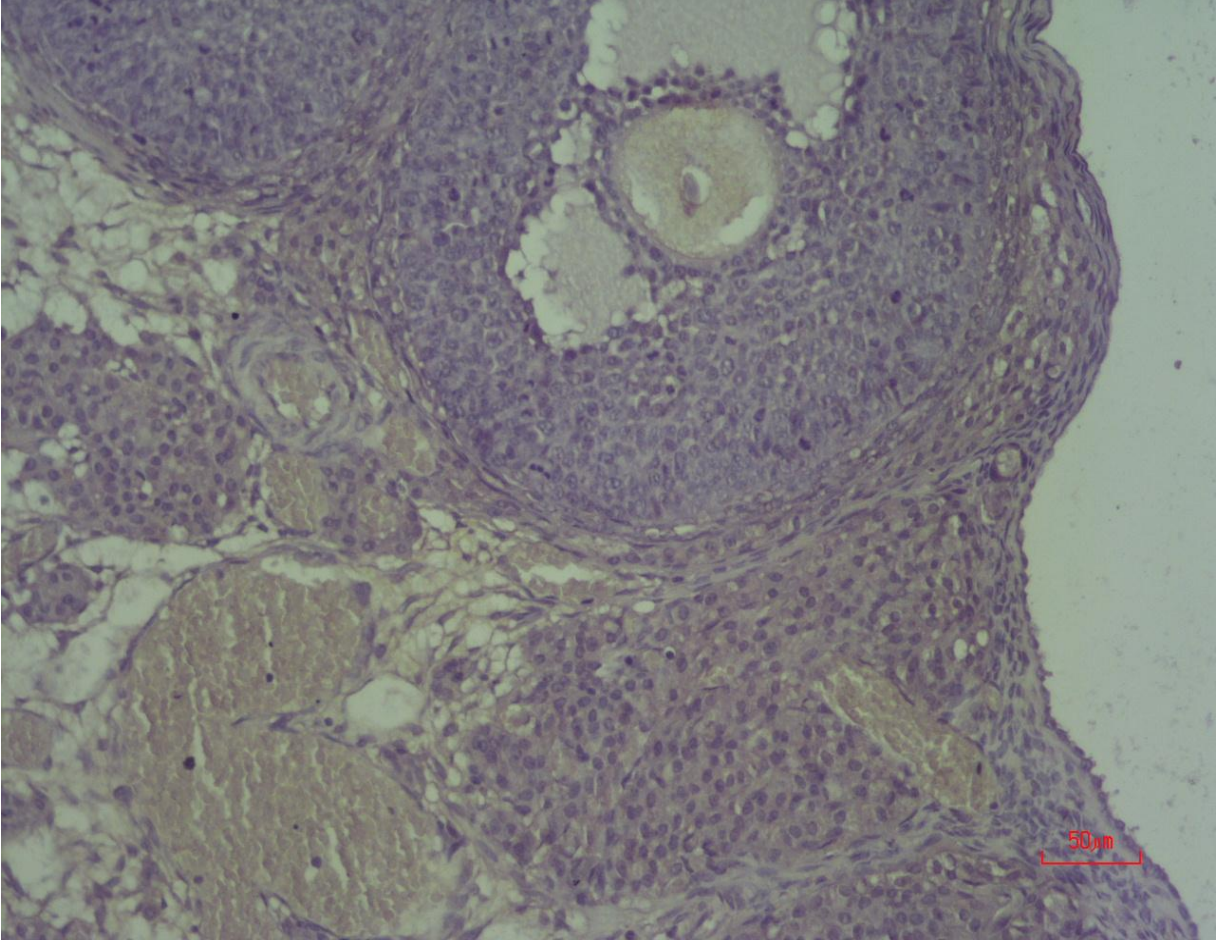
**Şekil 4. 6.** LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. Görüntü incelendiğinde sekonder follüküllerde ve primer follüküllerde azalma olduğu, atretik follüküllerde (AF) ise artış olduğu gözlemlendi. MassonTrikrom Bar=50 µm.



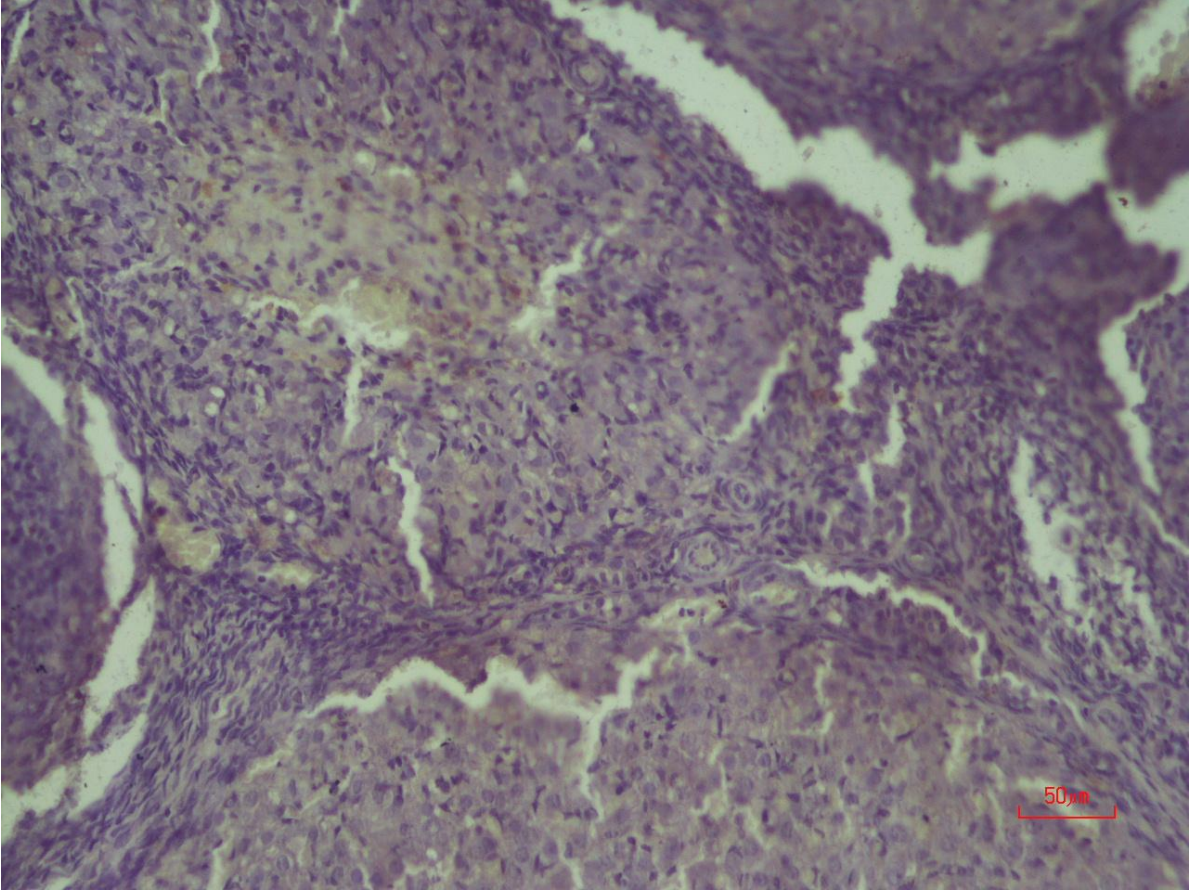
**Şekil 4. 7.** Bor+LPS grubundan alınan ovaryum kesiti incelendiğinde maviye boyanmış olan bağ dokusunda (kırmızı ok) dejenerasyon gözlemlendi. Aynı zamanda sekonder follükül ve graaf follükül (GF) sayılarının kontrol ve BA grubu ile benzer olduğu görüldü ve atretik follükül (AF) sayılarının ise LPS grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. MassonTrikrom Bar=50 µm.



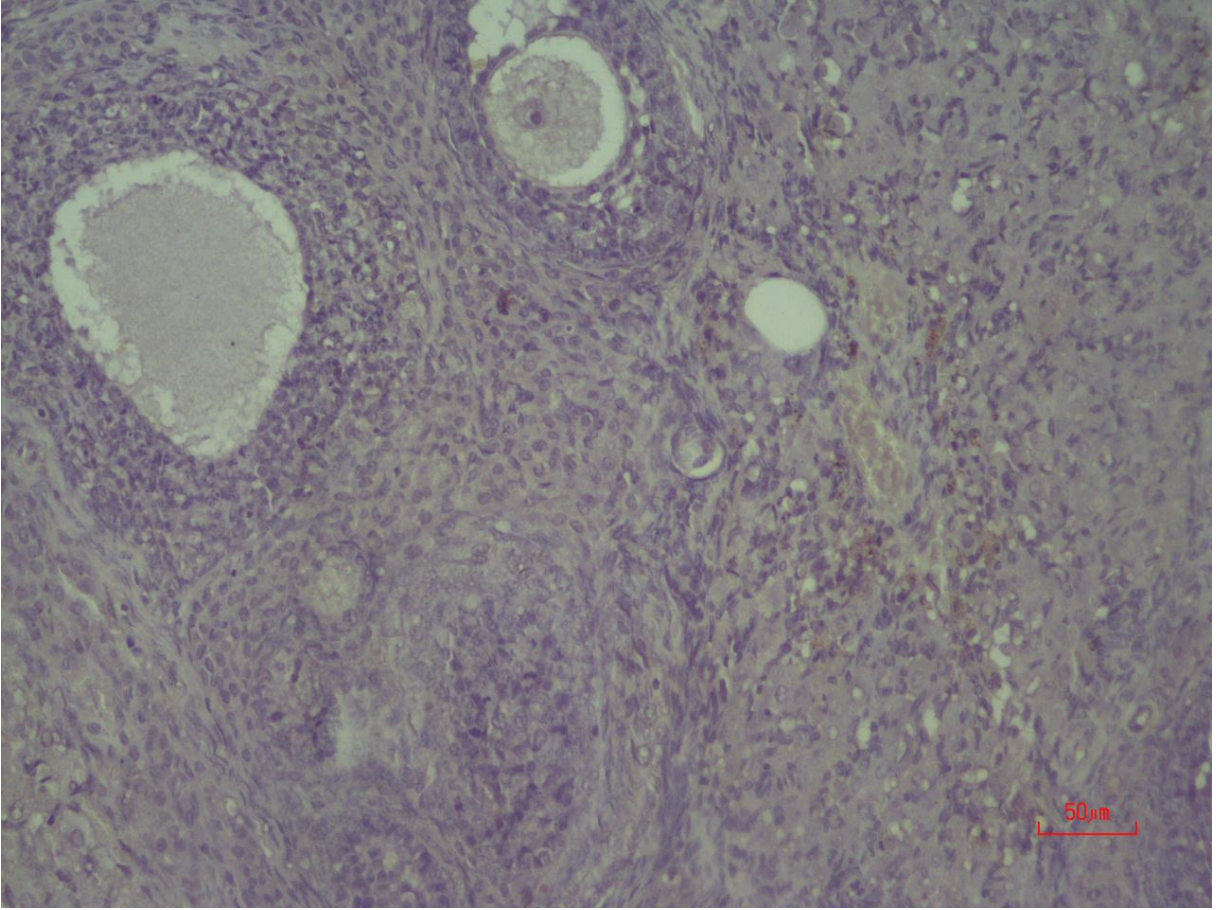
**Şekil 4. 8.** Borik asit grubundan alınan ovaryum dokusunun ışık mikroskopundaki görüntüsü. Görüntü incelendiğinde kontrol grubuyla benzer bir görüntü elde edildi. Görüntüde primer follikül (PF), sekonder follikül (SF) ve atretik follikül (AF) izlenmektedir. Atretik follikül sayısı olarak, diğer folliküllere göre daha az gözlemlendi. MassonTrikrom Bar=50 µm.



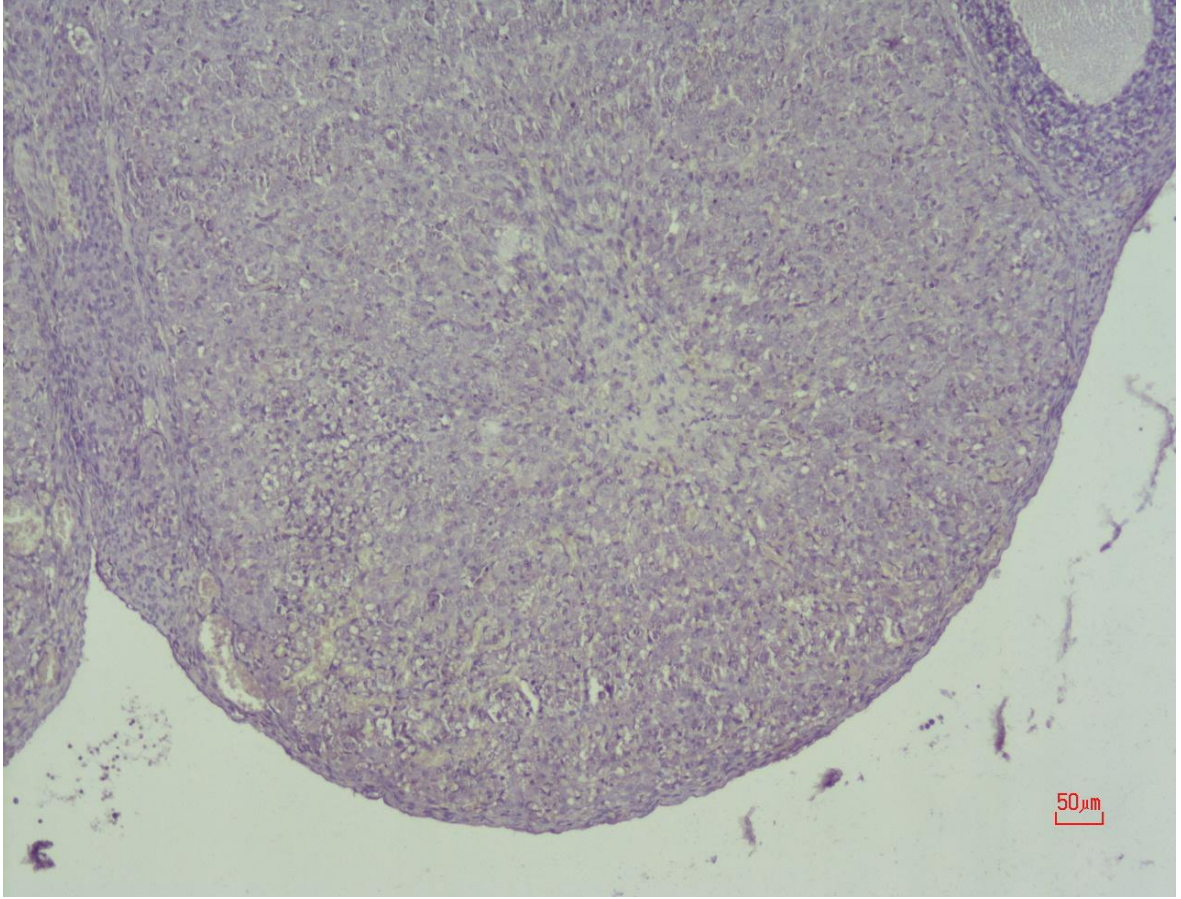
**Şekil 4. 9.** Kontrol grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm.



**Şekil 4. 10.** LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskobik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm.



**Şekil 4. 11.** Bor+LPS grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm.



**Şekil 4. 12.** Borik asit grubundan alınan ovaryum kesitinin immünohistokimyasal ışık mikroskopik görüntüsü. Bax boyama Bar=50 µm.

### **4.3. Biyokimyasal Bulgular**

Gruplar arası MDA, SOD ve CAT serum düzeylerine bakıldı. Yapılan incelemelerde LPS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında MDA serum düzeyi anlamlı olarak yüksek, LPS+Borik asit grubu karşılaştırıldığında MDA serum düzeyi düşük bulundu. LPS grubunda SOD ve CAT değerlerinde ise düşüş izlendi.

## 5. TARTIŞMA

Sepsis, vücutta bakteri ya da toksin varlığında meydana gelen enfeksiyona karşı vücudun vermiş olduğu ciddi bir reaksiyondur ve ölüme sebebiyet vermektedir (3,4). Kandaki endotoksinlerin artmasıyla endotoksemi meydana gelir ve bu da sepsis oluşumunda önemli bir etkidir. LPS ise gram (-) bakterilerin hücre duvarından elde edilen bir endotoksindir ve septik şok oluşmasında etkidir. Bundan dolayı birçok çalışmada deneysel endotoksemi oluşturmak için LPS kullanılmaktadır (48,49). Son yıllarda yapılan çalışmalarda borik asit en yaygın kullanılan bir bor bileşenidir. Borik asit anti oksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sebep olması nedeniyle sağlık alanında sıkça yararlanılmakta ve özellikle tıbbi ürünlerin katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (18,14). Oksidatif stres serbest radikallerin oluşması sonucu oksidan ve antioksidan enzimler arasındaki dengenin bozulmasıdır (29). Oksidatif stresin meydana gelmesi ciddi tehlike oluşturan bir durumdur. Hücrelerin metabolik evrelerinde reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller üretilmektedir. Fakat bu üretilen maddelerin miktarı antioksidanların seviyesini aşarsa ciddi patolojik durumlar meydana gelerek doku hasarı oluşur (29,30). Yapılan birçok çalışmada dokularda meydana gelen oksidatif stres değerlendirilmiştir.

Sepsis modeli oluşturarak yapılan çalışmalarda redoks dengesizliğinin önemli rol oynadığı görülmüştür. Redoks dengesizliği oksidatif strese ve organ hasarına yol açmaktadır. Warner ve ark. (1994) yaptıkları çalışmada sepsis modeli oluşturmuşlar ve antioksidan enzim aktivitesinde artış tespit etmişlerdir ve bu artışın doku hasarına sebep olduğunu ortaya koymuşlardır (54). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da sepsis oluşumuyla birlikte biyokimyasal değerlendirmelere baktığımızda antioksidan enzimlerdeki artışın gözlemlenmesi ve buna bağlı olarak ovarium dokusunda hasar görülmesi Warner ve ark. (1994) yaptıkları çalışmaya benzer özellik oluşturmuştur. Öz ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada ratlarda çekal ligasyon ve perforasyon ile endotoksemi oluşturmuşlar ve incebağırsak dokularında oluşan histopatolojik değişikliklere bakmışlardır (55). Sonuç olarak mukozal hasar, inflamasyon nedeniyle dokuda genişleme, yüzeysel epitelde harabiyet ve villuslarda ödem olduğunu gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada Bağcı ve ark. (2011) ratlarda intraabdominal sepsis modeli oluşturarak akciğerleri histopatolojik

olarak incelemişlerdir. İncelemeler sonucunda mononükleer hücrelerde infiltrasyon, alveolar septumda büyüme, alveollerde ödem, alveoler hasar, kapiller permoabilite miktarında artış gözlemlenmiştir. Parankimada ise ödem, hemoraji, vasküler konjesyon bulgularını elde etmişlerdir (56). Öz ve ark. (2008) yaptıkları çalışma ile Bağcı ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmaların histopatolojik sonuçlarıyla bizim çalışmamızın histopatolojik sonuçları karşılaştırıldığında benzer sonuçlar görülmüştür. Öz ve ark. (2008) sepsis sonucunda incebağırsakta hasar olduğunu gözlemlemiştir; Bağcı ve ark. (2011) ise oluşturdukları sepsis sonucunda akciğerlerde hasar oluştuğunu görmüştür. Bu çalışmalara benzer olarak, bizim çalışmamızda da sepsis oluşumu sonrasında histopatolojik değerlendirmeler sonucunda ovaryumda hasar meydana geldiğini gözlemledik. Sebai ve ark. (2008) ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada LPS kullanarak endotoksemi oluşturmuşlardır ve SOD, Katalaz GSH-Px enzimlerinde düşüş meydana geldiğini görmüşlerdir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda LPS ile oluşturulan endotokseminin serbest radikalleri artırdığı aynı zamanda antioksidan savunma sistemini bozarak oksidatif stresi oluşturduğu sonucuna varılmıştır (57). Bizde bu çalışmadaki gibi sepsis oluşturmak için LPS kullandık. Çalışmamızda benzer olarak SOD ve CAT enzim miktarlarına aynı zamanda bu çalışmadan farklı olarak MDA enzim düzeyine baktık. LPS ile oluşturduğumuz endotoksemide oksidatif stresin meydana geldiğini gördük. Buna bağlı olarak ovaryum dokusunda SOD ve CAT enzimlerinde düşüş MDA enziminde ise artış olduğunu gözlemledik. Bu çalışmalardan yola çıkarak bizde yapmış olduğumuz çalışmanın sonucuna göre sepsisin oksidatif stresi artırdığını söyleyebiliriz.

Yapılan çalışmalarda LPS ile meydana getirilen sepsis sonucunda oluşan organ hasarını önlemeye karşı farklı maddeler kullanılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Andrades ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada ratlarda sepsis modeli oluşturup N-asetil ile deferoksamin uygulayarak akciğer ve böbrek dokularını incelemişlerdir. Elde ettikleri veriler sonucunda tedavinin özellikle akciğerde etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (58). Bizim çalışmamızda benzer olarak ratlarda sepsis oluşturulup, borik asitin ovaryumlarda koruyucu etkisine bakılmıştır ve borik asitin ovaryum doku hasarını önlemede etkili olduğu görülmüştür. Sezer ve ark. (2010) yapmış oldukları bir çalışmada LPS ile sepsis oluşturulan sıçanlarda karaciğerde meydana gelen hasarda deksmedetomidin'in koruyucu etkisini incelemişlerdir. LPS verilen grupta karaciğerde dilatasyon, santral venözde ve hepatiksinüzoid kısımlarında konjesyon aynı zamanda dilatasyon ve inflamasyon görülmüştür. Deksmetomidin verilen grupta ise bu hasarın önemli düzeyde azaldığı

gözlemlenmiştir (59). Bu çalışmaya benzer olarak bizde çalışmamızda ratlarda LPS ile sepsis oluşturduk. Oluşan sepsis sonucu LPS uygulanan gruplardaki ovaryum dokusunda meydana gelen hasara bakıldığında, ovaryumlarda hemoraji, ödem ve foliküllerde azalma gözlemledik. Borik asit verilen grup incelendiğinde ise bu hasarın önemli ölçüde giderildiğini gözlemledik. Sominsky ve ark. (2012) yeni doğmuş olan dişi sıçanlara LPS uygulamışlardır. Oluşan inflamasyon sonucunda folikül rezervlerinde ciddi azalma saptadıklarını belirtmişlerdir (60). Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak folikül sayılarına bakılmıştır ve LPS grubunda folikül sayılarında azalma gözlemlenmiştir. Shokrizadeh ve ark. (2012) fareler üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, farelere LPS verilmesi sonucunda ovaryumda kısa ve uzun vadede meydana gelen etkilere bakmışlardır. LPS verildikten 3 gün sonra ovaryumda primer folikül, sekonder folikül ve korpu luteum miktarında ciddi azalma gözlemlenmişlerdir. 30. Gün sonunda baktıklarında ise 3 günlük grupla kıyaslandığında sekonder foliküllerde, primer foliküllerde ve korpus luteumda artış olduğunu gözlemlenmişlerdir. Sonuç olarak ise araştırmacılar LPS'nin kısa vadede ovaryum foliküllerine zararlı etki oluşturduğunu buna nazaran uzun vadede folikül miktarlarının artarak bu durumun iyileştiğini ifade etmişlerdir (61). Bu çalışmadan farklı olarak biz çalışmamızda sadece LPS uygulandıktan 12 saat sonraki etkisine baktık ve folikül sayılarında azalma gözlemledik. Şenoğlu ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada ratlarda sepsis modelini çekal ligasyonu ile meydana getirip, karaciğer dokusunu incelemişlerdir. N-asetil sistein ve beta glukagonun karaciğerde tedavi edici etkisine bakmışlardır. Sonuç olarak ise profilaksi kullanımını tavsiye etmişlerdir (62). Yapılan bu çalışmalara benzer olarak; bizim yapmış olduğumuz çalışmada LPS uygulanan gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ovaryum dokularında hemoraji, ödem ve folikül kayıplarının meydana geldiğini aynı zamanda ovaryum dokusu skarlaşmasının primordiyal foliküllerde toksisiteye sebebiyet verdiğini gözlemledik. Borik asit+LPS grubuyla karşılaştırdığımızda ise ovaryumdaki bu hasarın çok aza indiğini gözlemleyerek borik asitin koruyucu etkisi olduğunu saptadık.

Son yıllarda borik asit ile ilgili birçok alanda araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle borik asitin sağlık alanında kullanım alanları araştırılmaktadır. Küçükkurt ve ark. (2017) yapmış oldukları çalışmada gentamisinle oluşturulan doku hasarında borik asitin koruyucu etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada karaciğer dokusu MDA seviyelerine baktıklarında ve gruplar arası karşılaştırma yaptıklarında, gentamisin verilen grupta MDA seviyesinde artış gözlemlenirken, borik asit verilen grupta MDA seviyesinde düşüş CAT, SOD ve GSH

seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Aynı zamanda borik asit verilen grupla gentamisin verilen grup karşılaştırıldığında; karaciğer, testis, beyin ve akciğer dokularında minimum düzeyde histopatolojik değişimler izlenmiştir (63). Bizde çalışmamızda benzer olarak LPS verilen gruptaki ovaryum dokularında SOD, CAT enzimlerinde azalma, MDA enziminde ise artış olduğunu tespit ettik. Borik asit verilen grupta ise SOD, CAT değerlerinde artış, MDA değerinde azalma gözlemledik. Hazman ve ark. (2018) deney hayvanlarında yapmış oldukları çalışmada sisplatin toksisitesi ve nefrotoksosite meydana getirmişlerdir. Toksikite sonucu deney hayvanlarında oksidatif strese artış, apoptoz ve inflamasyon gözlemlenmiştir. Buna karşın farklı dozlarda borik asit uyguladıkları gruplarda bu hasarın azaldığını görmüşlerdir. Sonuç olarak ise farklı dozlarda uygulanan borik asitin tedavilerde etkili olabileceğini ortaya koymuşlardır (64). Bu çalışmadan farklı olarak biz çalışmamızda tek doz borik asit uyguladık ve borik asitin ovaryum hasarını engellediğini gördük. Karimkhani ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada; sıçanlarda miyokard infarktüsünü deneysel olarak meydana getirmişlerdir. Miyokard infarktüsüne karşı borik asitin koruyucu etkisine bakmışlardır. Oluşturdukları kalp hasarı sonrasında ST değerlerinde artış olduğu ve buna karşın yapılan borik asit uygulamasıyla bu değerde düşüş meydana geldiğini ve borik asitin tedavi edici özelliği olduğunu ifade etmişlerdir (65). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer veriler elde ettik. LPS ile oluşturduğumuz endotoksemi sonucunda LPS grubundaki ovaryum dokuları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında folikül kaybı, hemoraji ve ödem gibi hasarlar meydana gelmiş olup borik asit uygulanan grupla karşılaştırıldığında ise bu hasarın azaldığı ve borik asitin koruyucu etkisi olduğu ortaya konulmuştur.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda; deney gruplarından elde edilen histopatolojik bulgular doğrultusunda LPS'nin ovaryum dokularında folikül kaybı, hemoraji, ödem gibi hasarları meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda LPS uygulamasının ovaryum dokusundaki biyokimyasal değerlere bakıldığında SOD, CAT değerlerini düşürüp; MDA değerini artırarak oksidatif stres meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Oluşan hasara karşın borik asit uygulamasının bu hasarı giderdiği gözlemlendi. Histokimyasal ve biyokimyasal analizler karşılaştırıldığında sonuçlar birbirini destekler nitelikte kaydedilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda endotokseminin neden olduğu over hasarı üzerine borik asitin koruyucu etkisinin olduğunu söyleyebiliriz. LPS, sepsis ve borik asitle ilgili birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, ovaryum üzerinde buna benzer bir çalışma yapılmamasında dolayı çalışmamız özgün bir çalışmadır. Tez çalışmamızdan elde edilen verilerin ileriki çalışmalara ışık tutabileceğini ve literatüre katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Smith BP. Large animal internal medicine (5th Edition), Mosby-Year Book; 1996.
2. FıŖgın NT. Sepsis. OMÜ Tıp Dergisi. 2004; 21(2): 100-9.
3. İskit AB, Sungue A, Gedikoğlu G, G¼ç MO. The effect of bosentan, aminoguanidine and L-canavine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. Euro J Pharmacol. 1999; 379: 73-80.
4. Baykal A, İskit AB, Kaynaroğlu V, G¼ç MO, Sayek İ, Sanaç Y. Effects of adrenaline or endotoxin tolerance states on mesenteric blood flow in endotoxaemia. Aus NZJ Surg. 1999; 69: 134-137.
5. Kavuklu B, İskit AB, G¼ç MO, İlhan M, Sayek İ. Aminoguanidin attenuates endotoxininduced mesenteric vascular hiporeactivity. Br J Surg. 2000; 87: 448-453.
6. Baykal A, Kavuklu B, İskit AB, G¼ç MO, HaŖçelik G, Sayek İ. An experimental study of the effect of nitric oxide inhibition on mesenteric blood flow and interleukin-10 levels in lipopolysaccharide. World J Surg. 2000; 24: 1116-1120.
7. Baykal A, İskit AB, Hamaloğlu E, G¼ç MO, HaŖçelik G, Sayek İ. Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNF alpha concentrations after lipopolysaccharide challenge. Eur J Surg. 2000; 166: 722-727.
8. İskit AB, G¼ç MO. The timing of endotelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. Euro J Pharmacol. 2001; 414: 281-287
9. Salomão R, Ferreira BL, Salomão MC, Santos SS, Azevedo LCP, Brunialti MKC. Sepsis: evolving concepts and challenges. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2019; 52(4).
10. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). Jama, 2016; 315(8): 801-10.

11. Varadaradjalou S, Féger F, Thieblemont N, Hamouda NB, Pleau JM, Dy M, et al. Toll- like receptor 2 (TLR2) and TLR-4 differentially activate human mast cells. *European journal of immunology*, 2003; 33(4): 899-906.
12. Öz H. Sepsis ve Organ Yetersizlikleri: Koagülasyon. Dikmen Y, Demirkıran O. (Editörler) Güncel bilgiler ışığında sepsis. 2006; 51: 27-29.
13. Kalaçay D. Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Ratlarda Borik Asitin Total Oksidan Kapasite Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri ve Paraoksonaz Aktivitesine Etkisi. [Yüksek Lisans Tezi]. Kars: Kafkas Üniversitesi; 2013.
14. Ayrancı DFE. Akut Borik Asit Uygulanan Sıçanlarda Testis, Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokuları Üzerinde Gözlenen Histopatolojik Değişimler. [Doktora Tezi]. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi; 2005
15. İnce S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2010; 24(3): 161-4.
16. Eşrefoğlu M. Özel histoloji. 2. Baskı. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2016.
17. Auersperg N, Wong AST, Choi K-C, Kang SK, Leung PCK, Ovarian surface epithelium: Biology, endocrinology and pathology. *Endocrine Reviews*; 2001.
18. Williams CJ, Erckson GF, Morphology and Physiology of the ovary. *Endotex*; 2012.
19. Erdost H. Dişi Genital Sistem, İçinde: Özer A, Veteriner Özel Histoloji. Bursa: Dora yayınevi; 2016.
20. Yaman K, Fizyoloji. 4. Baskı. Bursa: Ezgi yayınevi; 2009.
21. Başaran A. Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı. 8. Baskı. Ankara: Pelikan yayınevi; 2010.
22. Ross MH and Pawlina W. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. Ankara: Palme Yayıncılık; 2016.
23. Guyton AC, Hall ME. Guyten and Hall Tıbbi Fizyoloji. Yeğen B.Ç. (Çeviren) 14. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2021.
24. Kierszenbaum A. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. 2. Baskı. Ankara: Palme yayıncılık; 2006.

25. Sadler TW, Langman's Medical Embryology. 12th.ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
26. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. 10. Baskı, Dalçık H, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2016.
27. Eşrefoğlu M. Embriyoloji. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri; 2017.
28. Ross MH, Pawlina W. Histology, a Text and Atlas. 6. Baskı. Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
29. Dumitrescu L, Popescu-olaru I, Cozma L, Tulba D, Hinescu ME, Ceafalan LC, Gherghiceanu M, Popescu BO. Oxidative Stress and The Microbiota-Gut Brain Axis, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018; 2406594.
30. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N, Free Radical, Antioksidants and Functional Foods; Impact On Human Health: Pharmacognosy Reviews, 4: 2010
31. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oxidative Stress and Its Impacts On Intracellular Lipids, Proteins and DNA. JCELI. Journal of Clinical and Experimental Investigation .2015; 6 (3): 331-336
32. Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi. 2011; 9 (1): 73-83.
33. McCord JM, Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance, Clin. Bioche. 1993; 26: 351-357.
34. Fridovich I. Superoxide Dismutases. Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology. 1986; 58: 61-97.
35. Sen S, Chakraborty R. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, And Therapy: The Role Of Antioxidants In Human Health. Silvana A, Maria H (Editörler). American Chemical Society: Washington: DC; 2011.
36. Lubos E, ve ark, Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanism stotherapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal, 2011; 15 (7): 1957-1997.
37. Forrest HN, Curtiss DE. Boron, Advances in Nutrition. 2020; 11(2): 461-462.
38. Tombal TD, Özkan ŞG, Ünver İK, Osmanlıoğlu AE. Bor bileşiklerinin özellikleri, üretimi, kullanımı ve nükleer sektör teknolojisinde önemi. Bor Dergisi. 2016; 1(2): 86-95.

39. Kuru R, Yarat A. Bor ve sağlığımıza olan etkilerine g¼ncel bir bakış. Clin Exp. Health Sci. 2017; 7: 107-14.
40. Yiğitbaşıoğlu H. T¼rkiye için ¼nemli bir maden: Bor. Coğrafi Bilimler Dergisi. 2004; 2(2): 13-25.
41. G¼yag¼ler T. T¼rkiye Bor Potansiyeli. 4. End¼striyel Hammeddeler Sempozyumu. İzmir: 2001.
42. ETİ MADEN. 2021 Yılı Bor Sekt¼r Raporu.
43. Demirtaş A. Bor'un insan beslenmesi ve sağlığı açısından ¼nemi. Atat¼rk ¼niversitesi Ziraat Fak¼ltesi Dergisi. 2010; 41(1): 75-80.
44. Barth RF, Soloway AH, Fairchild RG, Brugger RM. Boron neutron. Realities and Prospect Canser, 1992; 70(12): 2995-3007.
45. Scorei RI, Popa R. Boron-containing compounds as preventive and chemotherapeutic agents for cancer. Anticancer Agents Med Chem. 2010; 10(4): 346-51.
46. Pisare MA, Dagrosa MA, Juvenal GJ. Boron neutron capture therapy in cancer: past, present and future. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2007; 51(5): 852-6.
47. Hiratsuka J, Kamitani N, Tanaka R, Tokiya R, Yoden E, Sakurai Y, Suzuki M. Long-term outcome of cutaneous melanoma patients treated with boron neutron capture therapy (BNCT). Journal of Radiation Research. 2020; 61(6): 945-951
48. Kawahara K. Variation, Modification and Engineering of Lipid A in Endotoxin of Gram-Negative Bacteria. Int J Mol Sci. 2021; 22(5).
49. İskit A. Sepsiste Deneysel Modeller. Yoğun Bakım Dergisi. 2005; 5(2): 133-6.
50. King JD, Kocincova D, Westman EL. Lam JS. Review: Lipopolysaccharide biosynthesis in pseudomonas aeruginosa. Innate Immun. 2009; 15(5): 261-312.
51. Hagiwara S, Iwasaka H, Hidaka S. ve diğerleri. Tip-1 ANG II resept¼r¼n¼n antagonisti sıçanlarda LPS kaynaklı septik şoka karşı koruma sağlar. Yoğun Bakım Tıbbı. 2009; 35: 1471-1478.
52. İlhan AO, Can B, Kar F. ve diğerleri. Y¼ksek akut alkol t¼ketiminin neden olduğu karaciğer, b¼brek ve beyin doku hasarlarına çeşitli dozlarda borik asidin koruyucu etkilerinin araştırılması. Biol Trace Elem Res. 2023; 201: 5346-5357.
53. Kara ¼. Cisplatinin Oluşturduğu Sıçan Ovaryum Hasarında Eदारavonun Koruyucu Etkisi [Doktora Tezi]. Kayseri: Erciyes ¼niversitesi; 2021.

54. Warner A, Bencosme A, Healy D, Werme C. Prognostic Role of Antioksidant Enzymes in Sepsis: Preliminary Assesment. Clin Chem. 1995; 41(6): 861-871.
55. Öz M. Sepsisli Ratlarda Meloksikam ve Diklofenak Sodyumun İnce Barsak Mukoza ve Lenf Nodlarındaki İmmün Hücrelerin Dağılımına, Mukozal Hasarın Gradelemesine ve Apopitoz Oranlarına Etkisi [Uzmanlık Tezi]. Şanlıurfa: Harran Üniversitesi; 2008.
56. Bağcık Ş. Atorvastatinin Rat İntroabdominal Sepsis Modelinde Sekonder Akciğer Hasarı Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması [Uzmanlık Tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi; 2011.
57. Sebai H, Ben-Attia M, Sani M, Aouani E, Ghanem-Boughanmi N. Protective Effect of Resveratrol on Acute Endotoxemia-Induced Nephrotoxicity in Rat Through Nitric Oxide Independent Mechanism. Free Radic Res. 2008; 42(11-12): 913-920
58. Andrades M, Ritter C, de Oliveira MR, Streck EL, Fonseca Moreira JC, Dal-Pizzol F. Antioxidant Treatment Reverses Organ Failure in Rat Model of Sepsis: Role of Antioksidant Enzymes Imbalance, Neutrophil Infiltration and Oxidative Stress. J Surge Res. 2011; 167(2): 307-13.
59. Sezer A, Memiş D, Usta U, Süt N. The Effect of Dexmetomidine On Liver Histopathology in a Rat Sepsis Model: An Experimental Pilot Study, 2010; 16: 108-112.
60. Sominsky L, Meenhan CL, Walker AK, Bobrovskaya L, McLaughlin EA, Hodgson DM. Neonatal Immune Challenge Alters Reproductive Development in the Female Rat. Horm Behav. 2012; 62(3): 345-55.
61. Shokrizadeh H, Babaei H, Imana M, Kheirandish R. Short and Long-Term Effects of Lipopolysaccharide-Induced Endotoxemia on Mice Ovarian Tissue: Histomorphometrical Evaluation. Veterinnarski Arhiv.2019; 89(5): 669-682.
62. Şenoğlu N, Yüzbaşıoğlu MF, Aral M, Ezberci M, Kurutaş EB, ve diğerleri. Protective Effects of N-acetylcysteine and Beta-Glucan Pretreatment on Oxidative Stress in Cecal Ligation and Puncture Model of Sepsis. J Invest Surg. 2008; 21(5): 237-243.
63. Küçükkurt İ. Potential Protective Effect of Boron Against Gentamicin-Induced Oxidative Stress on Rat Tissues. Kocatepe Veterinary Journal. 2017; 10(3): 172-179.

64. Hazman Ö. The Effect of Boric Acid and Borax on Oxidative Stress Inflammation, ER Stress and Apoptosis in Cisplatin Toxication and Nephrotoxicity Developing as a Result of Toxication. *Inflammation*. 2018; 41(3): 1032-1048.
65. Karimkhani H, Özkoç M, Shojaolsadati P, Uzuner K, Dönmez HU, Kanbak G. Protective Effect of Boric Acid and Omega-3 on Myocardial Infarction in an Experimental Rat Model. *Biological Trace Element Research*. 2021; 199(7): 2612-2620.

## EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Kararı

T.C. KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARLARI			
Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplantı Saati	Karar Sayısı
11 / 01 / 2023	1	14: 00	4

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU başkanlığında yapılan Hayvan Deneylei Yerel Etik Kurulu toplantısında aşağıdaki karar alınmıştır.

**KARAR NO – 4:** Araştırma yrtcs Prof. Dr. Mustafa KARA Liderliğinde 32 Adet Sıçan (Rat) zerinde yapılması planlanan “ Endotokseminin Neden Olduğu Over Hasarı zerine Borik Asidin Koruyucu Etkisi” adlı araştırmanın etik açıdan yapılabilirliğine ve konunun ilgiliye tebliğine oybirliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU  
(Başkan)

Dr.Öğr.yesi. Zeynel Abidin ERBESLER  
ye

Doç.Dr. Atilla TAŐKIN  
ye

Doç.Dr. Ertuğrul KUL  
ye

Dr. Zikri GREL  
ye

Ecz. Suat YAğMUR  
ye

Veteriner Hekim Demirel ERGÜN  
ye

(Form No: FR- 347 ; Revizyon Tarihi: .../.../... ; Revizyon No: ...)

## Ek 2: Özgeçmiş

<b>KİŞİSEL BİLGİLER</b>	
<b>Adı Soyadı:</b>	<b>Melek AYDIN</b>
<b>Uyruğu:</b>	<b>Türkiye Cumhuriyeti</b>
<b>Orcid Numarası:</b>	<b>0009-0003-2767-6801</b>

<b>EĞİTİM BİLGİLERİ</b>	
<b>Lisans</b>	
<b>Üniversite:</b>	<b>Gazi Üniversitesi</b>
<b>Fakülte:</b>	<b>Sağlık Bilimleri Meslek Yüksek Okulu/KIRŞEHİR</b>
<b>Bölümü:</b>	<b>Hemşirelik</b>
<b>Mezuniyet Yılı:</b>	<b>2008</b>
<b>Yüksek Lisans</b>	
<b>Üniversite:</b>	<b>Ahi Evran Üniversitesi</b>
<b>Enstitü:</b>	<b>Sağlık Bilimleri</b>
<b>Anabilim Dalı:</b>	<b>Histoloji ve Embriyoloji</b>
<b>Mezuniyet Yılı:</b>	<b>2024</b>
<b>Doktora</b>	
<b>Üniversite:</b>	
<b>Enstitü:</b>	
<b>Anabilim Dalı:</b>	
<b>Mezuniyet Yılı:</b>	