



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GELİŞME SÜRECİNDE CAPSAİCİN UYGULANMIŞ RAT
OVARYUMLARINDA VANİLLOİD RESEPTÖR 1'İN İMMUNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONU**

Şerife TÛTÛNCÛ

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2009



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GELİŞME SÜRECİNDE CAPSAİCİN UYGULANMIŞ RAT
OVARYUMLARINDA VANİLLOİD RESEPTÖR 1'İN İMMUNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONU**

Şerife TÛTÛNCÛ

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Nesrin ÖZFİLİZ

BURSA-2009

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	50
KAYNAKLAR.....	54
TEŞEKKÜR.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	65

ÖZET

Capsaicin acı kırmızı biberin etken maddesidir. *Capsaicin*'in spesifik olarak bağlandığı reseptöre *capsaicin* reseptörü ya da vanilloid reseptör 1(VR1) adı verilmiştir. Bu çalışma ile, postnatal gelişme süreleri boyunca 1mg/kg dozda subkutan *capsaicin* uygulanan ratların ovaryumlarında VR1'in lokalizasyonu ve ekspresyonunun gözlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 90 adet Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar puberte, puberte sonrası ve erişkin dönem olmak üzere 30'ar rattan oluşan 3 ana gruba, bu gruplar da kendi içlerinde kontrol (10), taşıyıcı solüsyon (TED) (%10 Tween 80, %10 Etanol, %80 Distile su) (10), deney (10) olmak üzere üç alt gruba ayrıldı ve çalışma 7 hafta sürdürüldü. Deney alt grubundaki ratlara 1 mg/kg dozda *capsaicin* %10 Etanol, %10 Tween 80, %80 Distile su içersinde çözülürerek enjekte edildi. Taşıyıcı solüsyon (TED) alt grubundaki ratlara %10 Etanol, %10 Tween 80, %80 Distile sudan oluşan solüsyon enjekte edildi. Kontrol alt grubundaki ratlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Üç farklı gelişme dönemindeki ratlarda ovaryum folliküllerinin granuloza hücrelerinde, intersitisyel hücrelerde ve korpus luteumlarda farklı şiddette immunpozitif VR1 reaksiyonları gözlemlendi. Puberte dönemindeki ratlarda immunreaksiyon en fazla deney alt grubunda, puberte sonrası dönemdeki ratlarda kontrol alt grubunda ve erişkin dönemdeki ratlarda ise deney ve taşıyıcı solüsyon (TED) alt gruplarında gözlemlendi.

Düşük doz uzun süre *capsaicin* uygulamasının VR1 ekspresyonunu inaktive etmediği, bununla birlikte *capsaicin* uygulanan deney grubunda follikül atrezisinin düşük olması, *capsaicin*'in gonadların gelişimi üzerine olumlu yönde etki yaptığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: *Capsaicin*, rat, VR1, ovaryum

SUMMARY

Immunohistochemical Expression of VR1 in Capsaicin Treated Rat Ovaries During Development

Capsaicin is the main ingredient in hot chilli peppers. The specific receptor of *capsaicin* is known as the *capsaicin* receptor or vanilloid receptor 1 (VR1). In this study we aimed to evaluate the localization and expression of VR1 in the ovaries of rats treated with 1mg/kg subcutaneous *capsaicin* during postnatal development.

Ninety female Sprague-Dawley rats (21 d old) were used. The rats were randomly divided into 3 groups (n=30 each) as pubertal, post pubertal and adult. Each group was subdivided into three groups. The first subgroup (control) was given no injections. The second subgroup (TED) received 0.3 cc solvent (10% Tween 80, 10% ethanol and 80% distilled water) and the third subgroup (experiment) received subcutaneous injection of equal volume of *capsaicin* (1 mg/kg/d) for 7 weeks. VR1 immunoreactivity was determined in ovarian follicular granulosa cells, interstitial cells and corpus luteum cells. The immunoreactivity was observed mostly in experimental pubertal subgroup, in control, post pubertal subgroup, in adult TED-experimental subgroups of rats.

These results indicate that prolonged administration of a low dose *capsaicin* can not inactivate the expression of VR1. However follicular atresia was lower in *capsaicin* treated group than the other groups. This indicates that *capsaicin* may play an important role in the post natal development of gonads.

Key words: *Capsaicin*, rat, VR1, ovary

GİRİŞ

Acı kırmızı biber, botanik bilimde Solanacea familyasına ait bir bitki olup, *Capsicum annuum* olarak bilinmektedir. *Capsaicin*, acı kırmızı biberin etken maddesidir, ilk olarak Tresh tarafından 1846 yılında izole edilmiştir (1, 2, 3). *Capsaicin* acı, yakıcı, beyaz ve kokusuz özellikte alkaloid ($C_{18}H_{17}NO_3$) yapıda bir maddedir (4).

Acı kırmızı biberin organizma üzerinde etkilerini inceleyen çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalar 1990'lı yıllarda yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda acı kırmızı biber yerine etken madde *capsaicin* kullanılmıştır.

Capsaicin organizmada başta gastrointestinal, kardiovasküler ve solunum sistemleri olmak üzere pek çok sistem üzerinde etkilidir. Son yıllarda fizyolojik ve farmakolojik etkilerinden dolayı tıpta ve ilaç sanayisinde kullanımı yaygınlaşmıştır. *Capsaicin*'in etkisi, dozuna, uygulama şekline ve hedef organa göre değişiklikler göstermektedir (5, 6).

Capsaicin başlıca sensorik sinirler üzerinde mevcut olan vanilloid reseptör 1 (VR1) aracılığı ile nöyronlarda, nöyronal eksitasyonu, proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını, reseptörün desensitizasyonunu ve nöyronal toksisiteyi içeren olaylar zincirini tetikler (7, 8). *Capsaicin*'in VR1'e bağlanması nöropeptidlerin, örneğin Substance P (SP), Calsitonin Gene Related Peptid (CGRP) salınımına neden olmaktadır. *Capsaicin* uygulamasının devam etmesi sensorik sinirlerden SP'nin salınımının yoğalmasına ve ağrının ortadan kalkmasına dolayısı ile nörotoksisiteye neden olur (3, 7, 8, 9). *Capsaicin*'in immun sistem üzerine etkisi doza bağlı olarak değişir. Düşük konsantrasyonda *capsaicin* uygulanması immun sistemi uyarırken, yüksek yoğunluktaki dozu ise immun cevabı baskılar. Bu etki somatostatin ve SP salınımıyla ilgilidir (10, 11).

Capsaicin'in karbonhidrat metabolizmasını, karaciğer enzimlerinin aktivitesini arttırdığı (12, 13), lipid metabolizmasını uyararak yağ dokuda lipidlerin yakılmasını kolaylaştırdığı (12) ve oksijen tüketimini arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca *capsaicin*'in solunumu başlangıçta uyardığı sonra azalttığı ve serum glikoz-insülin seviyesini yükselttiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *capsaicin*'in karaciğer glikojeninde hızlı bir azalmayla birlikte serum trigliseridlerinde dereceli artış sağladığı, dolaşım sisteminin fonksiyonuna yardımcı olduğu ve bunun sonucunda metabolizma üzerine genel uyarıcı etki yaptığı belirtilmiştir (12, 14, 15).

Acı kırmızı biber yumurtacı tavuk üreticileri tarafından da kullanılmaktadır. Oktay ve arkadaşları (16) erişkin tavukların yemlerine acı kırmızı biber ilave ederek 81 gün

süreyle beslemişler, yumurta sarısının renginin koyulaştığını, yumurta veriminin, yemden yararlanmanın ve kuluçka üretiminin etkilenmediğini gözlemişlerdir. Furuse ve arkadaşları (17) diyetlerine acı kırmızı biber ilave ettikleri erişkin yumurtacı tavuklarda karın içi yağ miktarında azalma, yumurta performansında ise %3 oranında artma olduğunu bildirmişlerdir.

Özer ve arkadaşları (18,19) acı kırmızı biberin tavuk ve horozlarda genital sistemin gelişmesi üzerinde uyarıcı bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Acı kırmızı biberli rasyonla beslenmiş olan tavuk ve horozların hipofiz ve epifiz bezlerinin elektron mikroskopik düzeyde yapısal özelliklerinin incelendiği bir başka çalışmada tavuk ve horozların hipofizinde gonadotropik hücrelerin sentez aktivitesinin ilk aylardan itibaren belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir (20).

Vanilloidlerin bağlandığı reseptörlere vanilloid reseptör denir (21). Vanilloidler ekzojen ve endojen olarak ikiye ayrılır; endojen vanilloidlere örnek olarak yangıya bağlı pH değişiklikleri ve yüksek sıcaklık değişiklikleri (22), ekzojen vanilloidlere ise, kaktüsde bulunan rezinferotoksin, anandamide ve acı kırmızı biberin etken maddesi *capsaicin* verilebilir (23).

Capsaicin'in spesifik olarak bağlandığı reseptöre *capsaicin* reseptörü ya da vanilloid reseptör 1 (VR1) adı verilmiştir (21). VR1, Transient Receptor Potential (TRP) ailesinde yer alan bir iyon kanal reseptörüdür. TRP 3 alt gruba ayrılır; Canonical Transient Receptor Potential (TRPC), Melastatin–Related Transient Receptor Potential (TRPM) ve Vanilloid Receptor–Related Transient Receptor Potential (TRPV). *Capsaicin*'le aktivite gösteren TRPV1, TRP'lere sonradan eklenen bir alt gruptur. TRPV1 migren ve kronik obstruktif solunum hastalıklarında meydana gelen nörojenik yangılar sonucu nöronlarda ortaya çıkar (24). Ağrı iletim yollarının aktivasyonuna ek olarak vanilloid reseptörler yangısal cevaba öncülük eden peptidlerin salınımını da tetikler. Vanilloid reseptörün alışılmamış bir karakteristik özelliği de, tehlikeli ısı artışına cevap olarak *capsaicin*'e benzer şekilde dahili bir akım üretmesidir. Bu cevap sadece yüksek ısıda oluşur ve vanilloid reseptör antagonistleri ile bloke edilir (25). Acı biberli yiyeceklerle alınan etken madde *capsaicin*, VR1'e bağlanarak sensorik sinir hücrelerinin membranında depolarizasyon şekillendirir ve membrandan hücre içine Ca^{+2} akışının oluşmasını sağlar. Uyarı daha sonra merkezi sinir sistemine gönderilir ve baharatta bulunan acının duyuşal olarak algılanması meydana gelmiş olur (26, 27).

Bu çalışma ile, gelişme süreleri boyunca 1mg/kg dozda subkutan *capsaicin* uygulanan ratların ovaryumlarında meydana gelebilecek olası yapısal farklılıkları tespit

etmek, VR1'in in vivo olarak ovaryumda lokalizasyonunu ve ekspresyonunu ilk kez göstermek ve *capsaicin*-VR1 etkileşimini incelemek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Ovaryum

Ovaryumlar memeli hayvanlarda genellikle benzer yapı gösterirler (28). Organı en dıştan tek katlı yassı ya da kübik hücrelerden oluşmuş germinatif epitel çevreler.

Ovaryumun yüzeyini örten germinatif epitel gençlerde tek katlı kübik, ileri yaşlarda ise tek katlı yassıdır. Epitelin altında sıkı bir bağ dokunun oluşturduğu tunika albuginea bulunur (29, 30). Ovaryum aralarında kesin bir sınır olmayan iki bölüm, korteks ve medulladan oluşur (28).

Organın periferal bölümünü korteks oluşturur. Ergin dişilerde kortekste, farklı gelişme dönemlerinde çok sayıda folliküller bulunmaktadır. Ayrıca, dejenere olmuş atretik folliküller, korpus luteum, korpus albicans, intersitisyel hücreler (29) ve bağ doku hücreleri bulunur. Korteksin yüzlek kısmı derin kısımlarına göre daha fazla miktarda fibrotik yapı gösterir (28). Ovaryum korteksi başlangıçta geniş bir alanda primordiyal folliküller ile doludur. Ovaryum geliştikçe korteksin bu bölümü, tunika albugineanın altında dar bir bölge haline dönüşür.

Ovaryumun merkezi bölümünü oluşturan medulla gevşek bağ dokusu içinde damardan zengin bir yapı gösterir (28, 29). Medulla bölgesinde çok sayıda bulunan damarlardan başka hilus hücreleri, düz kas hücreleri ve sinir teli demetleri bulunur. Morfolojik olarak testislerdeki Leydig hücrelerine benzeyen hilus hücrelerinin sayı ve lokalizasyon bakımından yaşam siklusu boyunca oldukça değişken olduğu görülmüştür (31). Medulladaki kan damarları büyük folliküllerin etrafında kapillar yapıda bulunurlar. Lenf kapillarları kan kapillarlarına eşlik eder, teka eksterna ve korpus luteumların merkezi bölümlerinde bulunurlar. Medulladaki sinirler damarlarla beraber seyrederek. Sinirler ayrıca folliküllerin etrafında, korpus luteumda ve tunika albugineada bulunurlar (28, 30).

Ovositlerin Kökeni ve Olgunlaşması

Ovositler intrauterin yaşam döneminde ortaya çıkarlar ve puberte ile olgunlaşmaya başlarlar. Ovositlerin öncüsü olan hücrelere primordiyal germ hücreleri denir. Bu hücreler vitellus kesesinin endoderminden köken alırlar. Embriyonun katlanmaları sırasında vitellus kesesinin dorsal bölümü embriyonun içine dahil olur. Bu esnada primordiyal germ

hücreleri arka barsağın dorsal mezenteriyumu boyunca ilerleyerek genital kabartı bölgesine göç ederler. Bu germ hücreleri genital kabartı bölgesine yerleşince hareket özelliklerini kaybederler ve çok sayıda mitoz bölünme geçirerek çoğalırlar (28, 30, 32, 33). Aynı bölgede ovogonyumlara eşlik eden, genital kabartının mezenşim kökenli somatik hücreleri de (prefolikül hücreler) bulunur ve bunlar da mitoz yoluyla çoğalırlar. Hücrelerarası köprüler ile birbirine bağlı olan ovogonyumlar ve bunlara eşlik eden prefollikül hücreleri, 'eşey baloncuğu' denilen bir yapıyı oluştururlar. Bazal membran ile sarılı olan bu baloncuk, fetal ovariumun derinlerine doğru kordon biçiminde uzar ve rudimenter bir yapı olan rete ovariiyi oluşturur. Kortikal kordonların ya da diğer bir deyişle primer seks kordonlarının boyutları arttığında primordiyal germ hücreleri bu yapıların içerisine girer. Oluşan primordiyal folliküllerin her biri, primordiyal germ hücrelerinden köken alan bir ovogonyum içerir. Ovogonyumlar primer seks kordonlarından gelişen tek katlı yassı follikül hücreleri ile sarılmışlardır. Fetal yaşam sırasında ovogonyumlar çok sayıda mitoz geçirerek binlerce primordiyal follikül meydana getirir (33). Bu aşamada, ovogonyum olarak mitoz bölünmelerini tamamlamış olan eşey hücreleri, mayoz bölünmenin birinci olgunlaşma bölünmesinin profaz evresinin leptoten, zigoten, pakiten evrelerini tamamlamış ve diploten dönemine girmişlerdir ve primer ovosit olarak adlandırılırlar.

Primer ovositler ovogonyumlardan daha iridirler ve eşey kordonunun derinlerinde yer alırlar. Eşey kordonundaki somatik hücreler tek katlı yassı hücreler olarak ovositi çepeçevre kuşatırlar, en dıştan da bazal membran ile sarılı olarak eşey kordonundan ayrılırlar ve bağımsız hale gelirler, bu yapıya primordiyal follikül denir. Primordiyal folliküllerdeki yumurta hücresi primer ovosittir (ovosit I) ve puberteye kadar yıllarca dinlenme aşamasında (diyakinez) kalabilir (28, 29, 33, 34, 35). Moore ve Persaud'a göre yıllar süren bu bekleme döneminin sebebi, primer ovositleri çevreleyen follikül hücrelerinin ovosit maturasyon inhibitörü (OMİ) adındaki maddeyi salgılayarak ovositin mayotik bölünme sürecini durdurmasıdır (33).

Foliküler Gelişme

Erken dönemdeki embriyonal gelişme süresince primordiyal germ hücreleri birçok kez mitoz geçirerek ovariumun korteksine göç ederler (28). Fetal hayatın dördüncü ve beşinci aylarındaki gelişmede bazı ovogonyumlar gelişirler ve olgun gametleri oluştururlar. Bu aşamada mayozun I. mitoz bölünmesi sonucunda primer ovositler oluşur. Fetal

yaşamın yedinci ayında primer ovositler, tek sıralı folliküler hücreler (granüloza hücreleri) tarafından bir sıra çevrenirler ve primordiyal follikülleri oluştururlar.

Folliküler gelişimin birkaç safhası vardır; primordiyal follikül, primer follikül, sekonder follikül ve olgun follikül (28, 29). Folliküllerin gelişimi puberte ile başlar. Folliküller geliştikçe oval biçim alır ve korteksin daha iç kısımlarına doğru göçerler. Gelişme sırasında hem ovositte, hem follikül epitelinde hem de çevre stromal hücrelerde değişiklikler gözlenir. Primordiyal folliküllerdeki primer ovositler büyürler ve çevrelerindeki tek katlı yassı follikül epitelini önce tek katlı kübik, tek katlı prizmatik ve mitoz ile çoğalarak çok katlı follikül epitelini (granüloza hücreleri adını alırlar) şekillendirirler. Böylece bu dönemde FSH ve LH'nın etkisiyle, primordiyal folliküllerden sırasıyla primer, sekonder ve olgun folliküller gelişir. Ovulasyondan az önce ya da ovulasyon sırasında I. mitoz bölünme tamamlanır ve primer ovosit (ovosit I), sekonder ovosit (ovosit II) olarak ovule olurlar. II. mitoz bölünme ovulasyondan sonra tuba uterinada, spermatozoonun ovosit II'ye girişi sırasında tamamlanır. Döllenme meydana gelmez ise, II. mitoz bölünme metafaz safhasında durur ve ovum ikinci olgunlaşma bölünmesini tamamlayamadan oviduktta otolize uğrar (29, 33, 34).

Primordiyal folliküller: Primordiyal folliküllerin en fazla sayıda bulunduğu dönem doğum öncesi dönemdir. Her primordiyal follikül tek sıra yassı follikül hücreleriyle çevrilidir ve ortasında ovosit I hücresi bulunur (28, 29, 35, 36, 37). Çok nadir olarak birden fazla ovosit ortak epitel hücreleriyle kuşatılır. Bu folliküller tunika albugineanın altında kalınca bir tabaka oluştururlar (37).

Ovosit I yaklaşık 20 milimikron çapında büyük bir hücredir. Nukleusu ve nukleolusu büyük, kromatini ince, nukleusu biraz eksentrik konumdadır (37). Bu nukleuslarda kromozomlar çoğunlukla açılmış haldedir ve koyu olarak boyanmazlar (36). Folliküllerin sitoplazmalarında çok sayıda mitokondri, az sayıda golgi kompleksi ve endoplazmik retikulum sisternası bulunur (29, 35). Yassı follikül hücreleri bazal lamina üzerine otururlar ve birbirlerine desmozomlar ile bağlanırlar (29).

Ovaryumda çeşitli gelişme aşamalarındaki folliküller olarak primer, sekonder ve olgun folliküller görülür. Bazı kaynaklara göre bu klasik tanımlamanın dışına çıkılarak folliküller, ovositin çevresindeki follikül epitelinin durumuna göre değişik biçimde adlandırılırlar. Bunlara göre follikül epitelini tek katlı ya da çift katlı olanlar primer, boşluk (antrum) içerenler sekonder folliküller ve Graff folliküller de olgun folliküller olarak adlandırılmıştır (28, 36, 38).

Büyümekte Olan Folliküller (Folliküler Farklılaşma):

Folliküllerin büyümesi esas olarak follikül hücrelerinin, primer ovositin ve follikülü çevreleyen bağ doku unsurlarının büyümesi ile olur (29).

Primer Follikül: Primordiyal folliküller gelişmeye devam ederek primer follikülleri oluşturur. Yassı olan follikül hücreleri tek katlı kübik hücreler haline geldiğinde folliküle unilaminer primer follikül adı verilir. Follikül hücreleri mitoz ile çoğalırlar ve çok katlı follikül epiteli ya da granüloza tabakasını oluştururlar. Follikülün bu haline multilaminer primer follikül adı verilir ve follikül hücreleri arasında gap junctionlara rastlanır (28, 29, 36, 35, 38). Bu esnada ovosit nukleusu büyür, mitokondri sayısında artış olur ve sitoplazmada eşit dağılım gösterir. Endoplazma retikulumu hipertrofiye uğrar ve golgi kompleksleri de follikül hücre zarının altına doğru göç eder.

Ovosit ile follikül epitelleri arasında homojen görünüşte bir kalınlaşma meydana gelir. Bu yapıya membrana pellusida ya da zona pellusida (ZP) adı verilir (28, 29, 34). Zona pellusida en az üç farklı glikoprotein içerir (29). Bunlar ZP, ZP1 ve ZP3'dür. Bunlardan en önemlisi sperm için bir reseptör olarak görev yapan ZP3'dür. Sperm yüzeyinde yer alan ve galaktosil transferaz olan bir protein ZP3'ün oligosakkarit zincirleri ile etkileşir; proteazlar, hiyalüronidazlar ve sperm akrozomundaki diğer maddeler ortama salınır ve bu enzimler spermin zona pellusidayı aşmasına ve ovositin plazma zarına ulaşmasına yardım eder (39).

Işık mikroskopunda homojen, camsı görünüşlü olan bu yapıda elektron mikroskopunda ovosit ve follikül epitellerine ait mikrovilluslar gözlenir. Bu uzantılar birbirleri ile gap junctionlar aracılığıyla temas kurarlar. Bu değişiklikler oluşmakta iken, follikülün bitişiğinde etrafını saran stroma farklılaşma göstererek teka folliküliyi oluşturur. Daha sonra bu tabaka *teka interna* ve *teka eksterna* olarak farklılaşır (28, 29, 33, 36, 38). Teka internanın hücreleri tamamen farklılaştığında steroid üreten hücreler ile aynı yapı ve özelliklere sahip olurlar. Bu özellikleri sitoplazmalarında bol miktarda bulunan düz endoplazmik retikulumları, tübüler kristaya sahip mitokondrileri ve çok sayıda lipid damlacıkları verir (29, 30). Endokrin özelliğe sahip diğer yapılar gibi teka interna da damarlardan zengindir (29, 37). Teka interna hücreleri östrojenin öncüsü olan androstenedion (29), ovulasyon öncesi dönemde progesteron, az miktarda follikül sıvısı (33) ve az miktarda da intrafolliküler FSH salgırlar (29). Teka eksterna, bağ doku iplikleri, mekik şekilli bağ doku hücreleri ve küçük kan damarlarından oluşur (28, 29, 34,

37, 40). Teka hücrelerinin ayrıca follikülün gelişimi sırasında beslenmeyi sağlamak için teka internadaki anjiogenezisi uyaran kan damarı büyütücü faktörü ürettikleri düşünülmektedir (33). İki teka tabakası arasında ve teka eksterna ile ovaryum stroması arasındaki sınırlar belirgin değildir (29, 37). Teka interna ile granüloza tabakası arasındaki sınır ise hücrelerin morfolojik olarak farklı olması ve aralarında kalın bir bazal membran bulunmasından dolayı belirgindir (29).

Sekonder folliküller: Primer folliküller granüloza hücrelerinin sayılarının ve büyüklüklerinin artması ile gelişmeye devam ederler. Bu sırada follikül epitel hücreleri yavaş yavaş erimeye başlar, *antrum* adı verilen boşluklar oluşur (28, 33, 36, 38). Oluşan antrumlarda follikül sıvısı (likör follikülü) birikmeye başlar (29). Başlangıçta küçük boşluklar halinde gözlenen antrumlar birleşerek tek bir boşluk halini alırlar. Antrum içermesinden dolayı folliküle *sekonder follikül* adı verilir (29, 36, 38). Bu folliküller primer folliküllere göre korteksin biraz daha derin kısımlarında bulunurlar (28). Antrumda toplanan follikül sıvısı plazma sızıntılarını ve follikül hücreleri tarafından salgılanan maddeleri içerir. Aynı zamanda glikozaminoglikanlar, bazı proteinler (steroid bağlayıcı proteinler) ve yüksek konsantrasyonda steroidleri (östrojen ve progesteron) içerir (29). Folliküler gelişme devam ettikçe granüloza hücreleri follikül duvarı üzerinde belli bir yerde daha fazla sayıda yoğunlaşırlar ve küçük bir tepelik oluştururlar. Ovosit de içeren bu yapıya *kumulus ooforus* adı verilir (29, 34, 36). Kumulus ooforus antruma doğru uzantı yapar ve bundan sonra ovosit daha fazla büyümeyebilir (29).

Olgun folliküller: Olgun (Graff) follikül yaklaşık 2.5 cm çapındadır ve ovaryum yüzeyinden dışarı doğru şişkinlik yapan saydam bir vezikül olarak görülebilir. Antrumda follikül sıvısının toplanmasının sonucunda follikül boşluğunun genişliğinde artış olur ve ovosit granüloza hücrelerinden oluşmuş bir sap ile follikül duvarına bağlanır. Sıvı toplanmasına ve basınç artışlarına bağlı olarak granüloza hücrelerinin sayılarında azalmalar meydana gelir ve ince bir katman halinde kalır. Ovum etrafındaki ilk tabakayı oluşturan granüloza hücreleri zona pellusida ile temas halindedir. Bu hücreler prizmatikleşerek *korona radiyatayı* oluşturur. Korona radyata ovum ovaryumu terk ederken ona eşlik eder.

Foliküler Atrezi

Ovaryumda bulunan folliküllerin çok az bir kısmı ovule olurken, büyük bir kısmı atreziye olur. İnsanlarda fetal dönemde ovaryumda milyonlarca germ hücresi (ovosit) vardır, gebeliğin 5. ayında bu sayı maksimum seviyeye ulaşır (28, 41). Ovositlerdeki dejenerasyon folliküler gelişmeden önce yani doğumdan önce şekillenir ve doğumda ovaryumda bulunan primordiyal folliküllerin sayısı düzenlenir (41). Folliküler atrezi doğum öncesinde başlar ve menapoz sonrası da devam eder (29). Folliküler atrezi esnasında granüloza hücrelerinde DNA sentezi azalırken RNA sentezinde herhangi bir değişiklik gözlenmez. Atrezinin ilk aşamasında granüloza hücrelerinde gerileme meydana gelirken, rat, insan ve tavşanlarda teka hücrelerinde hipertrofi meydana gelir (42).

Folikül atrezisi FSH ve LH gibi endokrin faktörlerle kontrol edilir (36). Folliküler atrezinin özellikle arttığı bazı dönemler vardır. Maternal hormonların etkisinin ortadan kalktığı doğumdan hemen sonraki dönem ile hormon düzeylerinin değiştiği puberte ve gebelik dönemi atrezinin en üst seviyede olduğu dönemlerdir. Atrezide programlanmış ölüm ya da apoptosis denen hücre ölümü söz konusudur. Atrezi folliküler gelişmenin herhangi bir aşamasında gerçekleşebilir (29).

Korpus Luteum

Ovulasyondan kısa bir süre sonra, ovaryum follikülünün ve teka follikülünün duvarları büzülür ve katlanır. Ovaryum içinde kalan granüloza ve teka hücreleri LH'nın etkisiyle geçici bir endokrin bez oluşturur. Oluşan bu yapıya korpus luteum (sarı cisim) adı verilir (29, 33, 37). Korpus luteumdan progesteron ve az miktarda östrojen hormonları salgılanır. Buradan salgılanan östrojen hipofizden salgılanan FSH ve LH sekresyonunu önlerken, progesteron da folliküllerin gelişmesini önleyerek ovulasyona engel olur (29, 34).

Folikül sıvısının boşalması ile follikül duvarı büzülür ve follikül boşluğunda bir miktar kanama şekillenir. Pıhtılaşan kan zamanla yerini bağ dokuya bırakır. Bağ dokusunun oluşması ile ortadan kaldırılan kan pıhtısının artıkları korpus luteumun en iç kısmına yerleşir (28, 29). Korpus luteumun parenşiminin %80'ini granüloza lutein hücreleri, geri kalanını ise daha küçük yapıda ve daha az sayıda olan teka lutein hücreleri oluşturur. Teka lutein hücreleri granüloza lutein hücrelerine göre daha koyu boyanırlar (29). Granüloza lutein hücreleri steroid salgı yapan hücrelerin özelliklerini taşırlar.

Teka internanın kan kapillerleri ve lenfatik damarları korpus luteumun iç kısmına doğru yerleşerek bu yapının zengin vasküler ağını oluşturur.

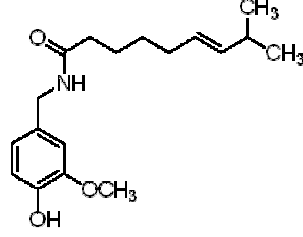
Gebelik meydana gelmediği takdirde korpus luteumun ömrü 10-14 gündür. Bu süre sonunda luteinizan hormonun eksikliği sonucu korpus luteum dejenere olup ortadan kalkar ve menstruasyon korpus luteumu ya da korpus luteum peryodikum adını alır. Eğer gebelik şekillenirse koryonun sinsityotrofoblast hücreleri tarafından salgılanan koryonik gonadotropin korpus luteumu uyarır ve ömrü 6 aya çıkar (33). Bu süre sonunda korpus luteumun etkisi azalmakla birlikte tam olarak kaybolmaz. Gebeliğin sonuna kadar progesteron salgılamaya devam eder ve gebelik korpus luteumu ya da korpus luteum graviditatis adını alır (29, 34). Gebelik korpus luteumu ayrıca relaksin hormonu salgılayarak, simfizis pubisin bağ dokusunu yumuşatır ve doğumu kolaylaştırır (29).

Menstruasyon ve gebelik korpus luteum hücreleri otoliz ile dejenerasyona uğrar. Yerlerini sıkı bağ dokusundan oluşan beyaz renkte skar doku alır ki, bu yapıya *korpus albicans* adı verilir (28, 29, 33, 34). Korpus luteumun yıkımında prostaglandinler de etkilidir (34).

Capsaicin

Acı kırmızı biber, botanik biliminde Solanacea familyasına ait bir bitki olup, *Capsicum annuum* olarak bilinmektedir. *Capsaicin* acı, yakıcı, beyaz ve kokusuz özellikte alkaloid ($C_{18}H_{17}NO_3$) yapıda bir maddedir. Kırmızı biberlerin acılık dereceleri içerdikleri *capsaicin* oranına göre değişmektedir. *Capsaicin*'in biberdeki kuru ağırlığı ortalama 0.83-1.32 mg / g'dır (4).

Bu bitkinin anavatanı Meksika'dır ve 1492 yılında Amerika'nın keşfi ile birlikte Avrupa'ya getirilmiştir. Acı kırmızı biberin kullanımı Azteklere kadar dayanmaktadır. Yazıtlarından acı kırmızı biberi antimikrobiyal ve antihemolitik ajan olarak kullandıkları görülmüştür. Bu bitkiye Latince *Capsicum* ismini veren Fransız botanikçi Turneyfort'tur. Acı kırmızı biberin acılığını veren alkaloid yapıdaki bu bileşen ilk olarak Tresh tarafından 1846 yılında izole edilmiştir. Tresh bu bileşeni *Capsaicin* olarak isimlendirmiştir ve *capsaicin*'in yapısının vanilloidler ile yakından ilişkili olduğunu düşündüğünü bildirmiştir (43).



Şekil-1: *Capsaicin*'in yapısı (43).

Nelson 1919 yılında *capsaicin*'in kimyasal yapısının vanilloid olduğunu tespit ederek Tresh'in bulguları ile benzer sonuçlar elde etmiştir (43). Daha sonra Szallasi ve Blumberg vanilloidlerini endojen ve ekzojen olarak iki gruba ayırmışlardır. Vanilloid etkenler, çoğunlukla periferik sinir sonlarında ve belirli tipte reseptörler ile etkileşime girerler (44, 45).

Dünyada yaygın olarak kullanılan acı kırmızı biber Hint ve Meksika mutfağında daha da sıklıkla kullanılmaktadır (43, 46, 47). Ülkemizde en fazla Güney Doğu Anadolu Bölgesinde yetiştirilmekte ve tüketilmektedir. Acı kırmızı biberin gıda katkı maddesi ve ağrı giderici olarak kullanımı çok eski yıllara dayanmaktadır.

Acı kırmızı biberin organizma üzerinde etkilerini inceleyen bilimsel araştırmalar 1990'lı yıllarda yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda acı kırmızı biber yerine etken madde *capsaicin* kullanılmıştır. *Capsaicin* organizmada başta gastrointestinal, kardiovasküler ve solunum sistemleri olmak üzere pek çok sistem üzerinde etkilidir. Son yıllarda fizyolojik ve farmakolojik etkilerinden dolayı tıpta ve ilaç sanayisinde kullanımı yaygınlaşmıştır. *Capsaicin*'in etkisi, dozuna, uygulama şekline ve hedef organa göre değişiklikler göstermektedir (5, 6).

Capsaicin başlıca sensorik sinirler üzerinde mevcut olan VR1 aracılığı ile nöronlarda, nöronal eksitasyon, proinflamatuar mediyatörlerin salınımı, reseptörün desensitizasyonu ve nöronal toksisiteyi içeren olaylar zincirini tetikler (7, 8). *Capsaicin*'in VR1'e bağlanması nöropeptid maddelerin (SP, CGRP) salınımına neden olmaktadır. *Capsaicin* uygulamasının devam etmesi sensorik sinirlerden SP'nin salınımının azalmasına ve ağrının ortadan kalkmasına dolayısıyla nörotoksositeye neden olur (3, 7, 8). Kronik *capsaicin* uygulanan sıçanların medulla spinalislerindeki dorsal kornuda primer sensorik nöronlarda SP'nin spesifik ve etkileyici bir şekilde azaldığı görülmüş ve *capsaicin* uygulamasının devam etmesi halinde nöronların bir bölümünde önce uyarım ile başlayan sonra "*Capsaicin duyarsızlığı*" olarak kabul edilen etkilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir (48).

Jancs'o-G'abor ve arkadaşları (49) yaptıkları çalışmada, *capsaicin*'in primer sensorik nöronları ve termoregülasyondan sorumlu olan hipotalamik nöronları aktive ettiğini ve bu sinirlerde oluşan hasarı azalttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın ardından yapılan başka bir çalışmada, neonatal ratlara *capsaicin* enjekte edilmiş ve primer sensorik nöronlarda *capsaicin*'e karşı duyarlılığın azaldığı gözlenmiştir. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda *capsaicin*'in neonatal olarak uygulanmasının, spesifik reseptörleri uyardığı ve bunun sonucunda ağrı, viseral hiperrefleks ve nörojenik yangılar gibi bazı patolojik bulguların ortaya çıktığı gösterilmiştir (50).

19. ve 20. yüzyılda fizyologlar *capsaicin*'in topikal ya da sistemik uygulanmasının ardından ağrı kesici etkisinden başka, organlarda hiperaktivite sonrası refleks azalması, hipotansiyon ardından hipertansiyon, taşikardi, bronkokonstriksiyon, öksürük ve hipotermiyi takiben bradikardi şekillendiğini bildirmişlerdir (51-56).

Capsaicin'in immun sistem üzerine etkisi doza bağlı olarak değişir. Düşük konsantrasyonda *capsaicin* uygulanması immun sistemi uyarırken, yüksek dozu ise immun cevabı baskılar. Bu etki somatostatin ve SP salınımıyla ilgilidir. Düşük dozda verilen *capsaicin* SP salınımını uyarır, damar geçirgenliğini artırır, dolayısıyla reaksiyon bölgesine T lenfositlerin göçü hızlanır. İmmunglobulinlerin ve T lenfositlerin sentezi artar. Yüksek dozda verilen *capsaicin* ise nöronlarda önce eksitasyon yapar sonrasında da aşırı eksitasyona bağlı olarak sinirlerde desensitizasyon oluşur ve nöronlarda SP salınımı durur. Dolayısı ile immun sistemi baskılar (10, 11).

Capsaicin'in karbonhidrat metabolizmasını, karaciğer enzimlerinin aktivitesini arttırdığı (12, 13), lipid metabolizmasını uyararak yağ dokuda lipidlerin yakılmasını kolaylaştırdığı (12) ve oksijen tüketimini arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca *capsaicin*'in solunumu başlangıçta arttırdığı sonra azalttığı ve serum glikoz-insülin seviyesini arttırdığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *capsaicin*'in karaciğer glikojeninde hızlı bir azalmayla birlikte serum trigliseridlerinde dereceli artış sağladığı, dolaşım sisteminin fonksiyonuna yardımcı olduğu ve bunun sonucunda metabolizma üzerine genel uyarıcı etki yaptığı belirtilmiştir (12, 14, 15).

Ayrıca *capsaicin*'in sindirim sisteminde anti-mikrobiyal ve anti-kanserojenik etkileri olduğu bildirilmektedir. Salmonella enteritis ile enfekte kanatlılarda diyet ile verilen *capsaicin*'in iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir (57).

Ratlarda, kalp operasyonlarında deri altı *capsaicin*'in uygulanması (50 mg/kg) sonucu muhtemelen CGRP uyarılmasına bağlı olarak doku korunmasının arttığı saptanmıştır (58). *Capsaicin*'in uzun süreli verilmesinin midede alkol, aspirin ya da stress

gibi ajanlar ile oluşan lezyonların iyileşmesinde etkili olduğu belirtilerek, oluşacak hasarlara karşı da koruyucu rol oynadığı, bu durum üzerinde *capsaicin*'e duyarlı afferent nöronların etkin olduğu saptanmıştır (59).

Ratlarda küçük ensizyonlar oluşturularak yapılan elektrofizyolojik çalışmalar, termal ve mekanik uyarılar oluşturan sinirlerde periferal hassasiyetin ortaya çıktığını ve buna bağlı olarak postoperatif ağrıların oluştuğunu göstermektedir (60). Pospisilova ve arkadaşları (61) ratlarda yaptıkları başka bir çalışmada yine küçük ensizyonlar oluşturmuşlar ve ratlara yüksek dozda *capsaicin* vererek *capsaicin*'in analjezik etkisini göstermişlerdir.

Capsaicin kimyasal madde yanıkları ve normal yanıklar sonucu oluşan ağrıları gidermek amacıyla periferal sinirler üzerine direkt olarak tedavi amaçlı kullanılmış ve *capsaicin*'in periferal orjinli ağrıları gerçekten azalttığı gösterilmiştir (62-65). Lokal olarak uygulanan *capsaicin*, nörojenik vasküler reaksiyonu azaltarak ve *capsaicin*'e duyarlı sinir fibrillerinin yenilenmesini sağlayarak ağrı eşiği şiddetini artırır. Ayrıca *capsaicin*'in lokal olarak uygulanması deride hiçbir lezyon oluşturmazken, neonatal *capsaicin* uygulamaları sonucunda deride lezyon oluşumu gözlenmiştir (66, 67). Son zamanlarda %0.025- 0.075 oranında *capsaicin* içeren preparatları herpes virus zonaları, diyabetik nöropati, torakotomi, mastektomi, amputasyon ağrıları ve ağrılı deri tümörleri gibi patolojik vakaların çoğunda geniş bir kullanım alanı bulmuştur (68-71).

Intranazal *capsaicin* uygulamaları sonucunda kronik baş ağrıları başarı ile tedavi edilmiştir (72). Benzer çalışmalar ile *capsaicin* uygulamalarının baş ağrılarını önlemedeki faydalı etkileri desteklenmiştir (73, 74). Ayrıca vanilloidlerin intratekal ya da epidural uygulanmaları sonucunda da ağrı hissi kaybı şekillenmektedir.

Capsaicin ve resinferotoksinin tedavi edici etkilerinin oluşmasına çeşitli mekanizmalar katkıda bulunur. Yeni doğan ratlara *capsaicin*'in sistemik olarak uygulaması sonucunda *capsaicin*'e duyarlı spinal ve kranial sensorik ganglionlarda, topikal uygulamaları sonucunda ise temporal peptiderjik ve nonpeptiderjik afferent sinir fibrillerinde lokal olarak kayıp şekillenir (75, 76). *Capsaicin*'in perinöyral olarak uygulanması sonucunda da *capsaicin*'e duyarlı sinir fibrillerinde duyu kaybı şekillenir (77).

Acı kırmızı biber yumurtacı tavuk üreticileri tarafından da kullanılmaktadır. Oktay ve Olgun (16) erişkin tavukların yemlerine acı kırmızı biber ilave ederek 81 gün süreyle beslemişler, yumurta sarısının renginin koyulaştığını, yumurta veriminin, yemden yararlanmanın ve kuluçka üretiminin etkilenmediğini gözlemişlerdir. Furuse ve

arkadaşları (17) diyetlerine acı kırmızı biber ilave ettikleri erişkin yumurtacı tavuklarda karın içi yağ miktarında azalma, yumurta performansında ise %3 oranında artış olduğunu bildirmişlerdir.

Özer ve arkadaşları (18, 19) yumurtacı tavuk ve horozlarla yaptıkları çalışmalarda, rasyonlarına acı kırmızı biber ilave edilerek beslenen civcivlerden puberte çağına gelmiş tavuk ve horozlarda karın içi yağlanmanın azaldığını, canlı ağırlık artışının yavaşladığını, tavukların ovaryumlarında folliküler gelişmenin daha hızlı olduğunu ve kontrol grubuna oranla deney grubu tavukların 11 gün önce ve iki kat daha fazla sayıda yumurta verdiklerini görmüşlerdir. Erken yumurtlamaya paralel olarak acı kırmızı biberli rasyonla beslenenlerde yumurta kanalında epiteliyal ve kassal gelişmenin kontrol grubuna göre daha erken olduğu gözlenmiştir. Horozlarda ise deney grubunda testis ağırlığı, uzunluğu, genişliği ve seminifer tubullerde duvar kalınlığının arttığı saptanmıştır. Seminifer tubuluslarda üçüncü aydan itibaren spermatogenik hücre serisinde tamamlanma, Sertoli hücrelerinde fonksiyonel faza geçiş, seminifer tubulus lumenlerinde spermatozoonların varlığı tespit edilmiştir. Benzer özellikleri kontrol grubunda ancak bir ay sonra görebilmişlerdir. Deney grubunda epididimal kanalda 3. aydan itibaren, kontrol grubunda ise bir ay sonra spermatozoonlar görülmüştür.

Erdost ve arkadaşları (78) tarafından bir günlük yaştan itibaren diyetlerine düşük dozda acı kırmızı biber ilave edilen tavuk ve horozların beş aylık gelişme süreci içinde hipofiz bezinde FSH ve LH sentezinin ilk aylardan itibaren arttığı saptanmıştır. FSH-ir (Folikül Stimulan hormon immun reaktif) ve LH-ir (Luteinizan hormon immun reaktif) hücre aktivitesinde görülen artış, bu hormonların hedef organları olan gonad gelişimini etkileyeceğini düşünmüşlerdir. Hipofiz ön lobunda hücreler arasında endokrin hücreler ile sinaptik ilişki içinde olan çok sayıda SP içeren fibriller olduğunu bildirmişlerdir. Hipofiz ön lob hormonlarının nöyral kontrolünün bu fibriller aracılığı ile gerçekleştiği düşünüldüğünde *capsaicin*'in bu fibriller ve sistemler üzerindeki olası etkisinin de oldukça fazla olabileceği düşünülmüştür.

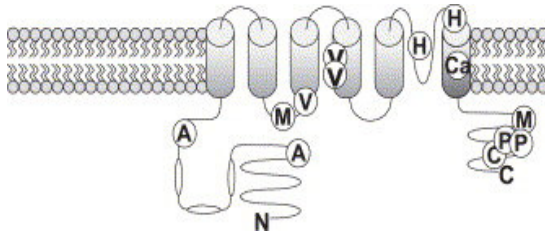
Vanilloid Reseptör 1 (VR1)

Vanilloidlerin bağlandığı reseptörlere vanilloid reseptör denir (21), vanilloidler ekzojen ve endojen olarak ikiye ayrılır. Endojen vanilloidlere örnek olarak yangıya bağlı pH değişiklikleri ve yüksek sıcaklık değişiklikleri (22), ekzojen vanilloidlere ise, kaktüsde

bulunan reziniferatoksin, anandamide ve acı kırmızı biberin etken maddesi *capsaicin* verilebilir (23). Reziniferotoksin ve *capsaicin*'in ortak vanilloid özelliklerine dayanılarak yapılan çalışmalar, bu iki bileşiğin yapısal olarak ilişkili olduklarını ortaya koymuştur (79). Deneysel olarak reziniferotoksinin *capsaicin*'e benzer şekilde eksitasyon ve desensitizasyona yol açtığı fakat bu etkisinin *capsaicin*'den bin kat daha zayıf şiddette olduğu bildirilmiştir (80).

Capsaicin'in spesifik olarak bağlandığı reseptöre *capsaicin* reseptörü ya da vanilloid reseptör 1 (TRPV1 ya da VR1) adı verilmiştir (21, 23). VR1 426 aminoasit içeren ve ~ 95 kDa ağırlığında bir proteindir. VR1 TRP (Transient Receptor Potential) ailesinde yer alan bir iyon kanal reseptörüdür. TRP ailesi en az 6 alt familya içerir. Bunlar; TRPA (Ankyrin Transient Receptor Potential), TRPC (Canonical Transient Receptor Potential), TRPM (Melastatin-Related Transient Receptor Potential), TRPN (No Mechanoreceptor potentials), TRPP (Polycystin Transient Receptor Potential) ve TRPV1'inde içinde bulunduğu TRPV (Vanilloid Receptor-Related Transient Receptor Potential)'dir (81). *Capsaicin*'le aktivite gösteren TRPV1 (VR1), TRP'lere sonradan eklenen bir alt gruptur. TRPV1'in yapısı ve aminoasit dizilişi tüm TRPV ailelerinde benzerdir (9, 81). TRPV1 altı tane transmembran domein içerir.

Nagy ve arkadaşları (82) VR1 reseptörünü Şekil-2'de gösterildiği gibi şematize etmişlerdir.



Şekil-2: VR1'in membran yapısı (82)

N: N terminus, C: C terminus, A: Protein Kinaz A için bağlanma bölgesi,
M: CaMKII (Kalmoduline bağlı protein kinaz II) için bağlanma bölgesi,
Ca: Ca⁺² nin permeabilitesinin düzenlendiği bölge
P: PtdIns(4,5)P2 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) bağlandığı bölge
V: Vanilloidlerin bağlandığı bölgeler, H: Protonların bağlandığı bölgeler,

TRPV1 migren ve kronik obstruktif solunum hastalıklarında meydana gelen nörojenik yangılarda, nöronlarda ortaya çıkar (24).

VR1 *capsaicin* tarafından, 43⁰C'nin üzerindeki sıcaklıkta ve düşük pH'da (pH≤5) oluşan membran depolarizasyonu ve iyon kanallarının açılması sonucu aktive edilir. VR1

ilk olarak sadece santral sinir sistemindeki nöyronlarda ortaya konulmuştur (83). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar VR1'in mast hücreleri, derideki keratinositler ve idrar kesesi epitel hücreleri gibi nöyron içermeyen çeşitli hücrelerde de bulunduğunu göstermiştir (84).

VR1'in primer sensorik nöyronlardan başka, 1/3-1/2 dorsal rot ganglionlarından, trigeminal ganglion nöyronlarından, nodoz ganglion nöyronlarından ve sinirden yoksun hücrelerden de eksprese edildiği RT-PCR, in situ hibridizasyon, western blott ve immunhistokimyasal olarak yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak VR1'in tüm bu fonksiyonel hücrelerden nasıl eksprese edildiği hala açıklığa kavuşturulamamıştır (85, 86).

VR1'in sensorik nöyronlarda nöropeptidlerin salınımında rol oynadığı son yıllarda yapılan çalışmalar ile saptanmıştır. *Capsaicin*'in VR1 ile bağlanmasıyla Na^+ , Ca^{+2} ve K^+ iyonlarının hücre içine akışı şekillenmektedir. Bu durum nöyrona depolarizasyona ve nöropeptid maddelerin, örneğin nörokinin A (NKA), SP ve CGRP'in salgılanmasına neden olmaktadır (87, 88).

Yapılan çalışmalar VR1'in sitoplazmik membranlar, endoplazmik retikulum ve sitoplazmik veziküllerden eksprese edildiğini göstermiştir (89, 90). VR1 sitoplazmik membranlarda depo halinde bulunur. Sitoplazmik membrandan VR1 ekspresyonu olduğu zaman veziküllerdeki VR1 mediatörleri membrana doğru geçerek aktifleşirler (90). Endoplazmik retikulumdan reseptör ekspresyonu ise tam olarak açıklanamamıştır. Sonuç olarak reseptörler çeşitli uyarılarla aktifleştiği zaman hücre içine Ca^{+2} iyonunun akışı uyarılır ve aynı zamanda da Ca^{+2} homeostazisi düzenlenir (91, 92).

1997 yılında Caterina ve arkadaşları tarafından sensorik nöyronlarda VR1'i kodlayan fonksiyonel cDNA elde edilmiştir. Kemirgen dorsal kök gangliyonundan elde edilmiş birbirinden bağımsız klonların bulunduğu cDNA havuzlarında, insan embriyonik böbrek kökenli HEK 293 hücrelerinde VR1'in geçici olarak eksprese edildiği gözlenmiştir (9). Transfekte hücreler Ca^{+2} ye duyarlı boyalar ile yüklenerek, hücre içindeki serbest Ca^{+2} 'nin *capsaicin* uyarısı karşısındaki artışı histokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir (93).

Caterina ve Julius sensorik nöyronlarda ağrının stimülasyonunda etkin proteinlerin belirlenmesi için VR1 ile ilgili dizinleri GenBank'dan araştırmışlardır (94). Reseptörün işlev görmeye başlamasıyla hücre içine katyon akışı tetiklenir, aksiyon potansiyeli başlar ve ardından baharatlı yiyeceklerle ilişkili olarak yanma duyusu oluşur. Acı baharatlı yiyeceklerle alınan etken madde *capsaicin*, VR1'e bağlanarak sensorik sinir hücrelerinin membranında depolarizasyon şekillendirir ve membrandan hücre içine Ca^{+2} akışının

oluşmasını sağlar. Uyarı daha sonra merkezi sinir sistemine gönderilir ve baharatta bulunan acının duyuşsal olarak algılanması meydana gelmiş olur (26, 27).

VR1'in çeşitli patolojik olguların başlamasında etkili bir kontrol mekanizması olduğu bildirilmektedir (9, 95, 96). Yapılan çalışmaların bir kısmında VR1'in yangı, aşırı ağrı hassasiyeti ve viseral hiperrefleks gibi patolojik durumların gelişmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (21, 97, 98). *Capsaicin* ağrı ve yangıyı arttırdığı, ancak lokal uygulamaları sonucunda da yangıya bağılı aşırı ağrı hassasiyetini azalttığını bildiren çalışmalar vardır (99). Yangıya bağılı olarak gelişen aşırı ağrı hassasiyetinin gelişmesinde *capsaicin* reseptörünün etkilerine bakılmış; bu mekanizma ile ilgili olarak iki hipotez üzerinde durulmuştur. Birinci hipoteze göre, bradikinin, NGF, ATP ya da prostaglandin E2 gibi yangı ajanları yangı süresince eksprese edilirler. Bunun sonucunda primer sensorik nöronların periferel uçlarından yangıdan sorumlu reseptörlerin ekspresyonu gerçekleşir. Bu reseptörlerin aktivasyonu hücre içi iletilerin (PKA-Protein kinaz A, PKC-Protein kinaz C, PLC- Fosfolipaz C) oluşmasını tetikler ve TRPV1 iyon kanalları boyunca oluşan yüksek reseptör eşiğini azaltır (100-104). İkinci hipotez ise; endojen ligandların reseptör aktivitesini etkilediğı ile ilgilidir. Capsazepin gibi *capsaicin* antagonistleri inflamasyon sonucu oluşan aşırı ağrı hassasiyetini azaltmaktadır (105, 106). Deneysel olarak oluşturulmuş pankreatitlerde neonatal *capsaicin* uygulanmasının biyokimyasal markırlarda, serumda bulunan amilaz, miyeloperoksidaz gibi maddelerde ve yangı sonucu oluşan ödem miktarında meydana gelen artışın azaldığını göstermişlerdir ve bu durumun VR1 ile ilgili olduğunu tespit etmişlerdir (107).

VR1'in her üç embriyonal yapraktan (endodermal, mezodermal ve ektodermal) köken alan hücrelerden eksprese edildiğine dair çalışmalar da yapılmıştır. Endodermal olarak, rat midesi epitel hücrelerindeki mRNA'lardan, (108). Mezodermal olarak, idrar kesesi düz kas hücrelerinde, E14 ve P30 rat hücre hatlarından geliştirilen kardiomyositlerde (109), prostat bezi ve idrar kesesi instersitisyel hücrelerinde, (110, 111) Ektodermal olarak da, insan derisinde ve iç kulakta keratinositlerde TRPV1 ekspresyonu gösterilmiştir (112, 113).

Ağrı iletim yollarının aktivasyonuna ek olarak vanilloid reseptörler yangısal cevaba öncülük eden peptidlerin salınımını da tetikler. Vanilloid reseptörün alışılmamış bir karakteristik özelliğı de, tehlikeli ısı artışına cevap olarak *capsaicin*'e benzer şekilde dahili bir akım üretmesidir. Bu cevap sadece yüksek ısıda oluşur ve vanilloid reseptör antagonistleri ile bloke edilir. Tehlikeli ısı hissi ile *capsaicin* reseptörü arasındaki ilişki,

acı biber yenildiğinde hissedilen ve aslında fiziksel olmayan yanma hissini açıklayabilir (25).

VR1 ile ilgili olarak, gastrointestinal sistemde yapılan çalışmalarda, primer ve vagal sensorik nöronların uçlarından, miyenterik pleksuslardaki nöronlardan, ince barsak villuslarından ve gastrik epitel hücrelerinden VR1'in eksprese edildiği gösterilmiştir (108, 114, 115, 116). Ayrıca düşük dozlarda verilen *capsaicin*'in gastrik mukozayı asit ve alkol gibi maddelerin oluşturduğu hasarlara karşı koruduğu da tespit edilmiştir (117). *Capsaicin* farklı mekanizmalar aracılığı ile doku hasarlarını önlemektedir. Bu mekanizmalardan ilkinde göre; *capsaicin* primer sensorik nöronlardan CGRP'in ekspresyonunu uyarır ve CGRP ekspresyonu sonucunda damarlarda gevşeme şekillenerek hiperemi oluşur, oluşan hiperemi doku hasarını önler. Diğer mekanizmaya göre; *capsaicin*'in CGRP ekspresyonunu artırması sonucunda prostaglandin E2 aktive olur. Prostaglandin E2 de salgı yapan hücreleri uyarak koruma mekanizmasını harekete geçirir (118, 119). Pothoulakis ve arkadaşları (120) VR1'in gastrointestinal sistemde primer sensorik nöronları uyarak yangı ve hipermotilitenin gelişmesine neden olduğunu ve burada aracı rolünü Substance P'nin oynadığını bildirmişlerdir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar VR1'in merkezi sinir sisteminde birçok bölgeden salgılandığını göstermiştir. Medulla spinalis ve buradan köken alan postsinaptik yapılarda (121), beyindeki olfaktorik hücrelerde, 3. ve 5. serebral kortekste, sentromedian ve paraventriküler talamik nükleuslarda, hipotalamusta, substansiya nigra ve serebellar korteks bölgelerinde (122) ve bazı motor hastalıkların ilerlemesinde etkili olabileceğini desteklemektedirler (123).

Örtü sistemi ile yapılan çalışmalarda, VR1'in derinin dermis-epidermis arasındaki bağlantı bölgesinde ve dermisdeki sinir fibrillerinde, Meissner sinir pleksuslarında ekspresyonu gözlenmiştir (89, 124). Ayrıca keratinositler tarafından gerçekleştirilen VR1 ekspresyonunun bazı deri hastalıklarının gelişmesinde rolü olabileceği düşünülmektedir (113).

Intravezikal olarak yapılan *capsaicin* ya da resinferotoksin enjeksiyonlarının, idrar kesesi düz kas hücrelerinde refleks aktivitesini ve idrar kesesi duvarındaki nörojenik yangıları arttırdığı bildirilmektedir (56, 125). Vanilloidlerle uyarılıp artmış kontraksiyon mekanizmasına göre; *capsaicin* ya da resinferotoksin direkt olarak idrar kesesinin subepitelial katmanındaki *capsaicin*'e duyarlı primer sensorik nöronların aktivasyonu ile sık sık idrara çıkma refleksi oluşturur (126-128).

Dolaşım sisteminde miyokarddaki sensorik fibrillerde ve koroner arterlerin perivasküler kıvrımlarında VR1 ekspresyonu gözlenmiştir (129). VR1-pozitif sensorik sinirlerin kan basıncının düzenlenmesinde etkili olduğunu gösteren çalışmalarda Wang ve arkadaşları (130, 131) neonatal *capsaicin* uygulanmasından sonra artan sodyum alımına karşılık idrar ile kısıtlı sodyum atılımının arteriyel hipertansiyon oluşturduğunu, plazmada rennin ve angiotensin II düzeylerindeki değişimin nöro-humoral mekanizma aracılığı ile etkili olduğuna işaret etmişlerdir.

Organizmada birçok sistem üzerinde VR1'in etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, VR1, *capsaicin* ve dişi genital organları ile yapılan çalışmalar çok az sayıdadır.

Rat ovaryumları sinirsel uyarımları sempatik, kolinergik, peptiderjik ve sensorik sinir telleri boyunca alır. Genellikle sensorik ekstrinsik sinirlerin folliküler büyüme, intersitisyel doku ve ovaryumlardaki damarlaşmayla ilgili olduğu kabul edilir (132). SP, NKA ve Neurokinin B (NKB) gibi taşıkininlerin de reproduktif fonksiyonların düzenlenmesinde rolleri olduklarını gösteren çalışmalar vardır (133, 134). Memeli dişi genital sisteminde *capsaicin*'e duyarlı primer afferent sinir tellerinde SP ve NKA'nın lokalizasyonu tespit edilmiştir (135). Barad ve arkadaşları (136) yapmış oldukları çalışmada, SP'nin insan ovaryumlarında mevcut olduğunu ve muhtemelen ovaryum fonksiyonları için düzenleyici bir görev yaptığını bildirmişlerdir. Çalışmada SP yoğunluğunun ovaryumdaki iri folliküllerde küçük folliküllere oranla daha az olduğu gösterilmiştir. Sensorik sinirlerin innervasyonunda ovaryumların SP içerdiği gözlenmiştir (137, 138). Birçok çalışmada, yeni doğan ratlarda *capsaicin* enjeksiyonundan sonra dişi genital organlarında SP, CGRP, NKA ve somatostatin'in immun reaksiyonunun, dikkat çekici şekilde azaldığı gösterilmiştir (139). SP içeren primer afferent nöronlardaki hasarların dişilik ve erkeklik davranışlarında azalmalara neden olduğu, çiftleşme esnasında penis ve serviksdeki nöroendokrin reflekslerde, hipofizdeki LH ve prolaktin sekresyonlarında engeller oluştuğu saptanmıştır (140).

Moran ve arkadaşlarının (141) *capsaicin* ve dişi genital sistem ile yapmış oldukları çalışmada ratların puberte çağına gelme sürelerinde herhangi bir farklılık görülmemiş olmasına rağmen yavrulama sayılarında azalma gözlenmiş. Aynı çalışmada *capsaicin* uygulanan gruplarda ratların ovaryumlarında follikül sayılarının azaldığı, atretik follikül sayılarının ise taşıyıcı ya da kontrol gruplarına göre arttığı gözlenmiştir. *Capsaicin* uygulanan ratların hepsi çiftleştirilmiş ve çok az sayıda hayvanın yavruladığı tespit edilmiştir. Nance ve arkadaşlarına (142) göre, intratekal *capsaicin* enjeksiyonunun östrus

siklusu ve ovaryum gelişiminde ya da dişi seksüel hareketleri üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Ancak yüksek dozda *capsaicin* uygulanmasının çiftleşmede nöroendokrin refleksin bozulmasına ve dolayısıyla serviks uterinin sensorik uyarılmasının eksikliğiyle fertilité üzerine olumsuz etki yaptığı gösterilmiştir.

Ovaryumlarda follikülogenezis ve atrezi olayları endokrin, parakrin-otokrin, immun ve sinir sistemini içeren kapsamlı bir kontrol mekanizmasının etkisi altındadır (143-146). Bu mekanizmaların işleyişinde VR1 sensorik sinirler aracılığı ile etkili olabileceği, transmitter maddelerin salınımını uyardığını ve bu yolla ovaryum follikülogenezis/atrezisine katıldığını bildirmektedirler (48). Bir başka çalışmada araştırmacılar, follikül çevresine yerleşen reseptörlerle fonksiyonel bilgilerin alındığını ve nöyonlar aracılığı ile hipotalamik ve ekstra hipotalamik merkezlere bu bilgilerin gönderildiğini saptamışlardır (147). Trujillo ve arkadaşları (148) bursa ovarika içine *capsaicin* uygulanmasının ovaryumlarda östrojen sekresyonunda artışa neden olduğunu ve ovaryum fonksiyonlarının düzenlenmesinde innervasyonun önemli rol oynadığını belirtmişlerdir. Traurig ve arkadaşları (149) yaptıkları bir çalışmada, yeni doğan ratlara *capsaicin* uygulamış, *capsaicin*'in vücut gelişimi, seksüel olgunluk ve fertilizasyon üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir. *Capsaicin* uygulanan hayvanların vücut ağırlıklarındaki artışın düştüğü, puberte zamanının geciktiği ve fertilitede azalma olduğu gösterilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları

Çalışma Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi ve Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütüldü. Çalışma materyali olarak 21 günlük 90 adet Sprague Dawley ırkı dişi ratlar kullanıldı. Ratlar puberte (42 günlük), puberte sonrası (56 günlük) ve erişkin dönem (70 günlük) olmak üzere 3 ana gruba, deney, taşıyıcı solüsyon (%10 Tween 80, %10 Etanol, %80 Distile su) uygulanan (TED) ve kontrol grupları olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Ratlar ad libitum, pelet şeklinde standart rat yemi ile beslenerek, içme suyunu serbest olarak tüketerek ve 12 saat aydınlık /12 saat karanlık periyodunda, 21-23 ° C sıcaklık ve %50-60 nem içeren ortamda bakıldı. Ratların her *capsaicin* enjeksiyonu öncesinde canlı ağırlıkları tartıldı ve uygulanacak olan *capsaicin* miktarı belirlendi. Deneysel Onay No: 25.04.2006/1

Çalışma Planı

Ratlar puberte (42 günlük), puberte sonrası (56 günlük) ve erişkin dönem (70 günlük) olmak üzere 30'ar rattan oluşan 3 ana gruba, bu gruplar da kendi içlerinde kontrol (10), taşıyıcı solüsyon (10) ve deney (10) olmak üzere üç alt gruba ayrıldı ve deney 7 hafta sürdürüldü.

Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması

Deney alt grubundaki 30 adet rata 1 mg/kg dozdaki *Capsaicin* (Sigma M 2028) %10 Etanol içinde çözdürüldükten sonra %10 Tween 80, %80 Distile su ilave edildi. Hazırlanan solüsyon subkutan olarak 21. günden itibaren 70. güne kadar her gün insülin enjektörü ile ratlara enjekte edildi.

Taşıyıcı solüsyon alt grubundaki 30 adet rat için 0,3 cc %10 Tween 80, %10 Etanol ve %80 distile sudan oluşan taşıyıcı solüsyon hazırlanarak *capsaicin* uygulamasına benzer şekilde enjekte edildi.

Kontrol alt grubundaki ratlara ise herhangi bir enjeksiyon uygulaması yapılmadı.

Hayvanların Canlı Ağırlık Ölçümü, Ovaryumlarının Alınması, Ovaryum Ağırlıklarının Ölçülmesi, Tespit ve Takip

Deneme alt grubundaki ratlara çalışma planına göre her gün 1 mg/kg dozda subkutan *capsaicin* uygulaması yapıldı. Taşıyıcı solüsyon alt grubundaki ratlara çalışma planına göre her gün daha önce açıklanan şekilde hazırlanan taşıyıcı solüsyon enjekte edildi. Kontrol alt gruplarına herhangi bir uygulama yapılmadı. Daha sonra sırası ile puberte dönemine (42. günde), puberte sonrası (56. günde) ve erişkin döneme (70. gün) gelen kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grubu ratların canlı vücut ağırlıkları tartıldı, dietil eter (Merck 100926) anestezisi altında her bir ratın kalbinden ortalama 3-4 ml kan alındı ve toplanan kanlar 5000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serumlardan Elisa yöntemi ile LH, FSH, Progesteron ve Östrojen seviyeleri ölçümleri yapıldı. Diğer taraftan ratlara servikal dislokasyon yapılarak ovaryumları alındı, ovaryum çevresindeki yağ dokusu temizlenerek tartımları yapıldı.

Her üç gruptaki kontrol, taşıyıcı solüsyon, deney alt gruplarına ait ratların ovaryumları, tartıldıktan sonra 24 saat süre ile %10'luk Tamponlu Formaldehit tespit solüsyonuna konuldu. Rutin doku takibi prosedürleri uygulandı ve dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 µ'luk kesitler alındıktan sonra normal histolojik yapının incelenmesi için Crossmon'ın üçlü boyama tekniği (150) kullanıldı.

İmmunohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan alınan 5 µ'luk ovaryum kesitlerinde VR1'in varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi.

Gereçler

Antikor sulandırma solüsyonu

Primer antikorların istenilen konsantrasyona sulandırılması sırasında Zymed firmasına ait 00-3118 kod numaralı Antibody diluent reagent solution kullanıldı.

Protein Bloklama Solüsyonu

Zymed firmasına ait, kullanıma hazır, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'in bloklama solüsyonu kullanıldı.

Primer Antikor

Çalışmada, Santa Cruz firmasına ait SC 28759, VR (R-130) kodlu VR1 rabbit poliklonal antikor kullanıldı. Antikor 1:1500 oranında antikor sulandırma solüsyonu ile sulandırıldı.

Sekonder Antikor

Zymed firmasına ait, kullanıma hazır, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'in biotinli goat anti-rabbit antikorunu kullanıldı.

Streptavidin Peroksidaz

Zymed firmasına ait, kullanıma hazır, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'in HRP-Streptavidin biotin peroksidazı kullanıldı.

Kromojen

Zymed firmasına ait 31079800 kodlu 3'3-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) kromojen ve substratlar kullanıldı.

DAB kromojen ve DAB substrat karışımından (1ml distile suya 1, 2 ve 3 numaralı substrattan 1'er damla karıştırılarak) dokuların üzerini kapatacak şekilde preparatlara damlatılarak 5 dakika beklendi. Bu solüsyon immunositokimyasal boyama sırasında taze olarak hazırlandı ve hazırlandıktan hemen sonra kullanıldı.

İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Solüsyonlar

Poly-L-lysine Solüsyonu

İmmunohistokimyasal boyamalarda kullanılacak olan lamlar, distile su içerisinde %15'luk Poly-L-lysine (Sigma P 8920) solüsyonu içerisinde 10-15 dakika bekletildi ve 37⁰C'lik etüvde bir gece kurutuldu. Ertesi gün kesitler bu lamlara çekildi.

Phosphate Buffered Saline (PBS) Solüsyonu

İmmunohistokimyasal boyamalar sırasında bütün yıkamalar için kullanılan PBS solüsyonu, sodyum klorürden (Merck,1.064.0100) 7,2 g, di-sodyum hidrojen fosfattan (Merck, 1.06586.0500) 1,48 g, sodyum dihidrojen fosfat monohidrattan (Merck, 1.06346.0100) 0,43 g tartılarak 1 lt distile su içinde eritilerek hazırlandı.

Hidrojen Peroksit Solüsyonu

Dokulardaki endojen peroksiti ortadan kaldırmak üzere distile su içerisinde %3'lük hidrojen peroksit (6 ml hidrojen peroksit + 64 ml distile su) (Merck 1.08600.1000) solüsyonu hazırlandı.

Sitrat Buffer Solusyonu

Dokulardaki antiijeni açığa çıkarmak için 1000 ml distile suya 2,1 g Sitrik asit (Merck, 1.00242.1000) eklenip karıştırıldı.

İmmunohistokimyasal Boyama Prosedürü

Streptavidin- Biotin- Peroksidaz yöntemine göre yapılan boyamada;

- 1- Polilizinli lama çekilen dokular 37⁰ C lik etüvde kurutuldu.
- 2- Deparafinizasyon işlemi için, dokular ksilole alındı (2x10 dakika).
- 3- Kesitler %100'lük alkol (2x5 dakika), %96'luk alkol (2x5 dakika), %80'lik ve %70'lik alkol (5 dakika) solüsyonlarından geçirildi.

- 4- Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için sitrat buffer (pH:6) solüsyonu içersine alınan kesitler mikrodalga fırında, 700 watt'lık devirde, 3 defa olmak üzere 5'er dakikalık ısıtma işlemine tabi tutuldu. Daha sonra sitrat buffer solüsyonu içersindeki kesitler 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı.
 - 5- Sitrat buffer solüsyonundan çıkarılan kesitler PBS ile yıkandı.
 - 6- Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için, dokular %3'lük hidrojen peroksit (6ml H₂O₂ + 64 ml distile su) solüsyonu içersinde 10 dakika inkübe edildi.
 - 7- Kesitler PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.
- Bundan sonraki aşamalarda kesitlerin kurummasını önlemek amacı ile kesitler chamber içersine konuldu.
- 8- PBS solüsyonundan çıkarılan dokuların etrafı iyice kurulandıktan sonra üzerlerine protein bloke edici solüsyon damlatıldı ve 60 dakika beklendi.
 - 9- Kesitler yıkanmadan üzerlerine 1/1500 oranında sulandırılmış primer antikor damlatılarak (30µl), 4°C de 1 gece bekletildi. Bu arada negatif kontrol grubu dokuları bloking solüsyonunda bekletildi.
 - 10- Daha sonra kesitler PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.
 - 11- PBS'den çıkan kesitlerin üzerine Biotin damlatılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi ve sonra dokular PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.
 - 12- PBS'den çıkan dokular üzerine streptavidin- biotin peroksidaz kompleks damlatılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi.
 - 13- DAB kromojen ve DAB substrat karışımından (1ml distile suya 1, 2 ve 3 numaralı substrattan 1'er damla eklenerek) kesitlerin üzerini kapatacak şekilde preparatlara damlatılarak 5 dakika beklendi.
 - 14- Daha sonra kesitler distile su ile yıkandı.
 - 15- Distile sudan çıkan kesitler çeşme suyunda yıkandı.
 - 16- Daha sonra kesitler çekirdek boyaması için 10 sn. Harris hematoksilen solüsyonunda bekletildi.
 - 17- Hematoksilen solüsyonundan çıkan dokular çeşme suyu ve distile suda yıkandı.
 - 18- Yıkama işleminden sonra dokular dereceli alkollerden (%96, 100) geçirilerek ksilole alındı (3x10 dakika).
 - 19- Kesitler üzerlerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Değerlendirme

İmmunohistokimyasal değerlendirme; folliküllerdeki granüloza hücrelerinin, intersitisyel hücrelerin, teka follikül hücrelerinin ve korpus luteumlardaki hücrelerin boyanma yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme bağımsız gözlemciler tarafından, boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı (151). Serum LH, FSH, Progesteron ve Östrojen seviyeleri Elisa yöntemi ile ölçülerek değerlendirmeleri yapıldı.

İstatistik Analizler

Kontrol, taşıyıcı solüsyon (TED) ve deney alt gruplarının canlı ağırlık kazancı ortalamaları, ovaryum ağırlıkları, immunohistokimyasal boyamalar ve Elisa ile elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri için Parametrik testlerden One Way Anova Testi kullanıldı. Ardından farklılığın nereden kaynaklandığını görmek için Duncan's Testi yapıldı (152).

BULGULAR

Morfolojik Bulgular

Çalışma süresince kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt gruplarını oluşturan ratlarda herhangi bir sebeple ölüm gözlenmemiştir. Ratlarda taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarında enjeksiyondan sonra herhangi bir davranış değişikliği gözlenmedi.

Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarındaki ratların canlı ağırlıkları 21. günden itibaren belirtilen çalışma planına göre her gün düzenli olarak tartıldı. Alınan sonuçlara göre her dönemin kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarındaki ratların canlı ağırlık kazancı ortalamaları kendi içlerinde karşılaştırıldı.

42 günlük (puberte dönemi) kontrol ve taşıyıcı solüsyon grupları arasında ortalama canlı ağırlık kazançlarında farklılık gözlenmiştir ve bu iki alt grup arasında istatistiki öneme rastlanılmamıştır. Kontrol grubundaki canlı ağırlık kazancı ortalamasının taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarına göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Kontrol-deney ve deney- taşıyıcı solüsyon grupları arasında istatistiki önem gösteren bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo-1, Şekil 3).

56 günlük (puberte sonrası dönemi) kontrol ve deney alt gruplarında ortalama canlı ağırlık kazançlarında farklılık gözlenmiş ve bu iki grup arasında istatistiki öneme rastlanılmamıştır. Kontrol- taşıyıcı solüsyon ve deney- taşıyıcı solüsyon grupları arasında istatistiki önemde bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo-1, Şekil 3). En fazla canlı ağırlık kazancının kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir.

70 günlük (erişkin dönem) kontrol-deney alt grupları ile taşıyıcı solüsyon-deney alt grupları arasında ortalama canlı ağırlık kazançlarında istatistiki öneme rastlanılmamıştır. Taşıyıcı solüsyon-kontrol alt grupları arasında istatistiki önemde bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo-1, Şekil 3). Kontrol ve taşıyıcı solüsyon grubundaki canlı ağırlık kazançları ortalaması birbirine benzer iken deney grubundaki canlı ağırlık kazancı ortalamasının bu iki gruptan daha az olduğu gözlenmiştir.

Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarındaki ratların ovaryum ağırlıkları ortalamaları kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. 42 günlük (puberte dönemi) her üç alt grupta istatistiki önemde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo-2, Şekil 4). 56 ve 70 günlük deney gruplarının ovaryum ağırlık artışlarının diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. 56 günlük (puberte sonrası dönemi) ve 70 günlük (erişkin dönem) gruplarında deney-kontrol ve taşıyıcı solüsyon-kontrol alt grupları arasında istatistiki

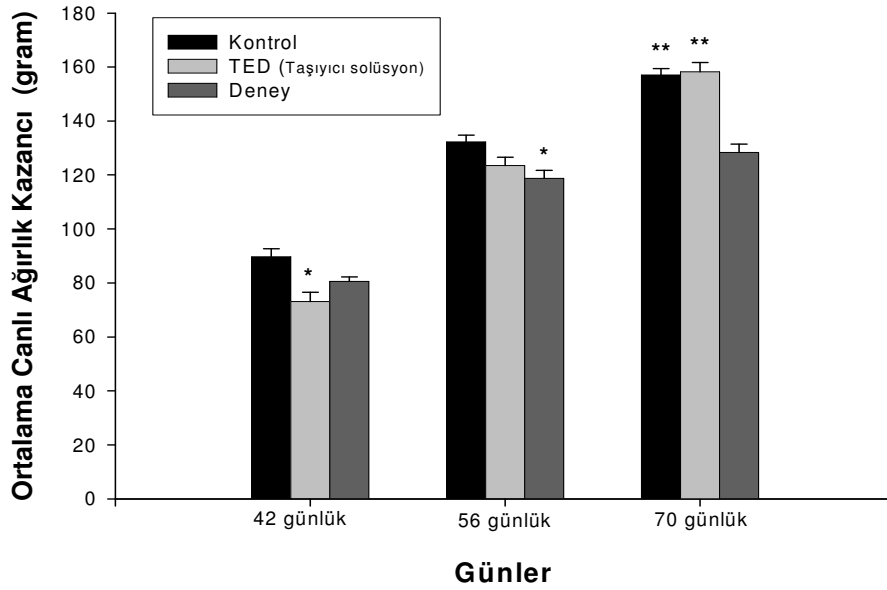
öneme rastlanılmıştır. Deney- taşıyıcı solüsyon alt grupları arasında farklılık gözlenmemiştir (Tablo-2, Şekil 4).

Tablo-1: Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarının ortalama canlı ağırlık kazançları (gram)

	42 Günlük	56 Günlük	70 Günlük
Kontrol $x \pm SE$	89,25 \pm 2,93	132,3 \pm 2,48	157,1 \pm 2,31**
TED (Taşıyıcı solüsyon) $x \pm SE$	73,11 \pm 3,51*	123,5 \pm 3,06	158,2 \pm 3,40**
Deney $x \pm SE$	80,6 \pm 1,60	118,7 \pm 3,04*	128,33 \pm 3,12

* Kontrolden farklı (p<0,05)

** Deneyden farklı (p<0,001)

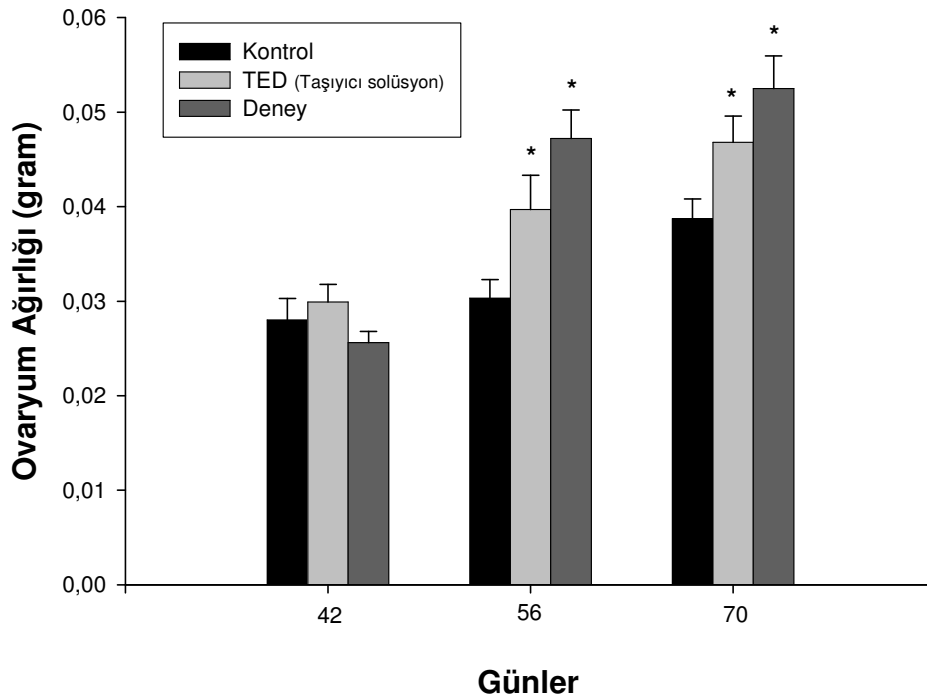


Şekil-3: Kontrol, taşıyıcı solüsyon (TED) ve deney gruplarındaki ratların ortalama canlı ağırlık kazançları (gram)

Tablo-2: Kontrol, taşıyıcı solüsyon (TED) ve deney gruplarının ovaryum ağırlıkları ortalamaları (gram)

	42 Günlük	56 Günlük	70 Günlük
Kontrol $x \pm SE$	0,0280 \pm 0,002	0,0303 \pm 0,002	0,0387 \pm 0,002
TED (Taşıyıcı solüsyon) $x \pm SE$	0,0299 \pm 0,002	0,0397 \pm 0,004*	0,0468 \pm 0,003*
Deney $x \pm SE$	0,0256 \pm 0,001	0,0472 \pm 0,003*	0,0525 \pm 0,003*

* Kontrolden farklı ($p < 0,05$)



Şekil-4: Kontrol, taşıyıcı solüsyon (TED) ve deney gruplarındaki ratların ovaryum ağırlık ortalamaları (gram)

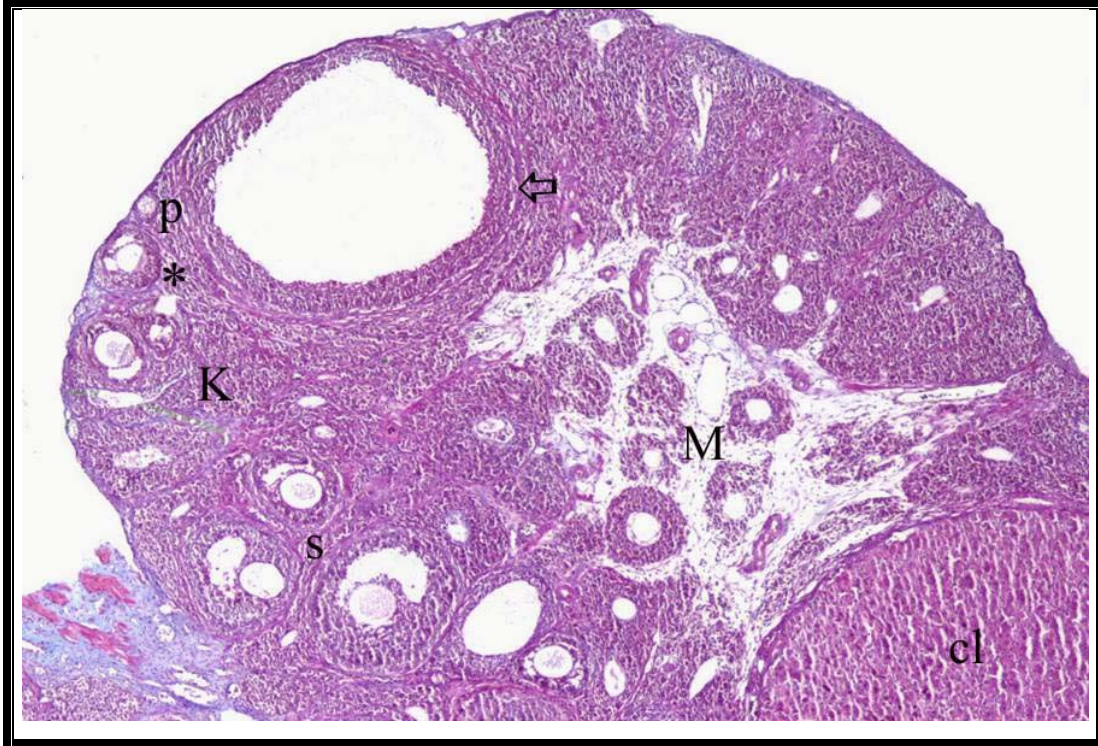
Histolojik Bulgular

Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney gruplarına ait ratların ovaryum kesitleri Crossmon'ın üçlü boyama yöntemi ile boyanıp incelendiğinde ovaryumların germinatif epitel ve altında tunika albuginea ile çevrili olduğu görüldü. Kortekste farklı gelişme dönemlerinde folliküller (primordiyal, primer, sekonder, Graff ve atretik), intersitisyel hücreler ve korpus luteumlar tespit edildi. Medullada ise bağ doku içerisinde farklı büyüklüklerde kan damarları ve bağ doku hücreleri gözlemlendi (Şekil-5, 6).

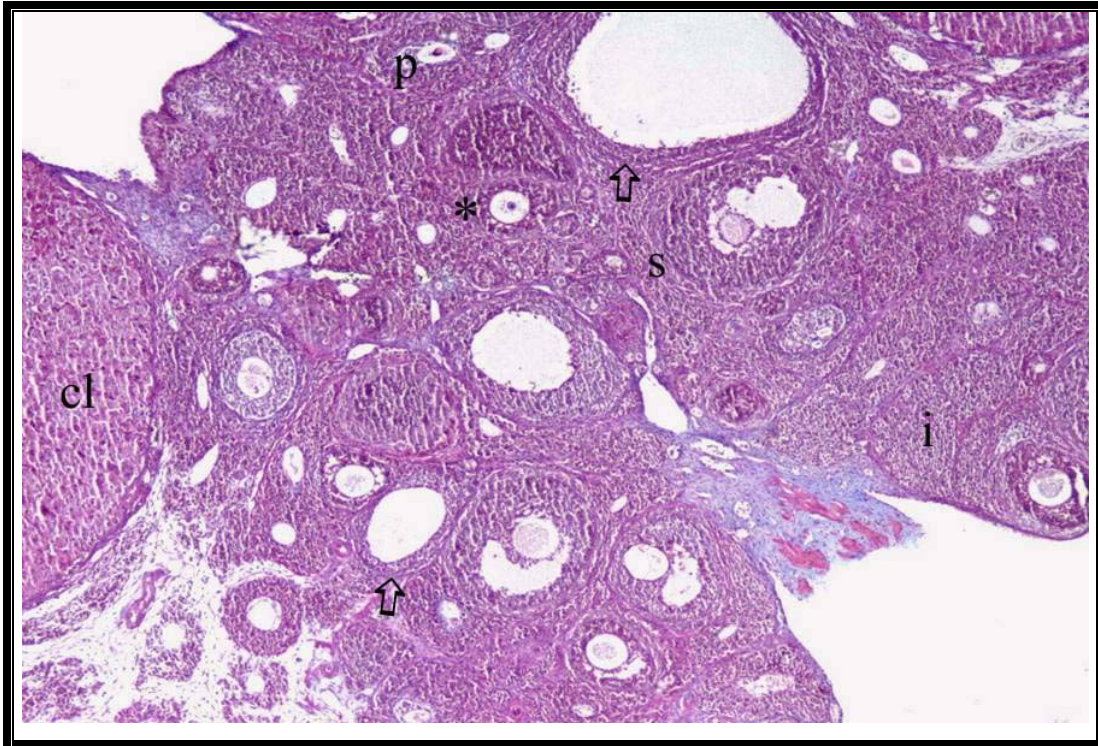
Preparatlar incelenirken follikül sayımı yapılmadı ancak genel olarak değerlendirildiğinde 42 günlük ratlarda kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları arasında follikül yoğunluğu bakımından dikkat çeken bir farklılık gözlemlenmedi. Kontrol ve taşıyıcı solüsyon gruplarında atretik follikül fazla iken deney alt grubunda gelişmekte olan follikül yoğunluğu daha fazla gözlemlendi. Kontrol alt grubundaki atretik follikül yoğunluğunun ise taşıyıcı solüsyon alt grubuna göre daha fazla olduğu tespit edildi (Şekil-7, 8, 9).

56 günlük kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları değerlendirildiğinde; gruplar arasında gelişmekte olan follikül yoğunlukları arasında farklılık gözlemlenmedi. Atretik follikül yoğunluğu bakımından karşılaştırıldığında kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları arasındaki farkın sırası ile giderek azaldığı tespit edildi (Şekil-10, 11, 12).

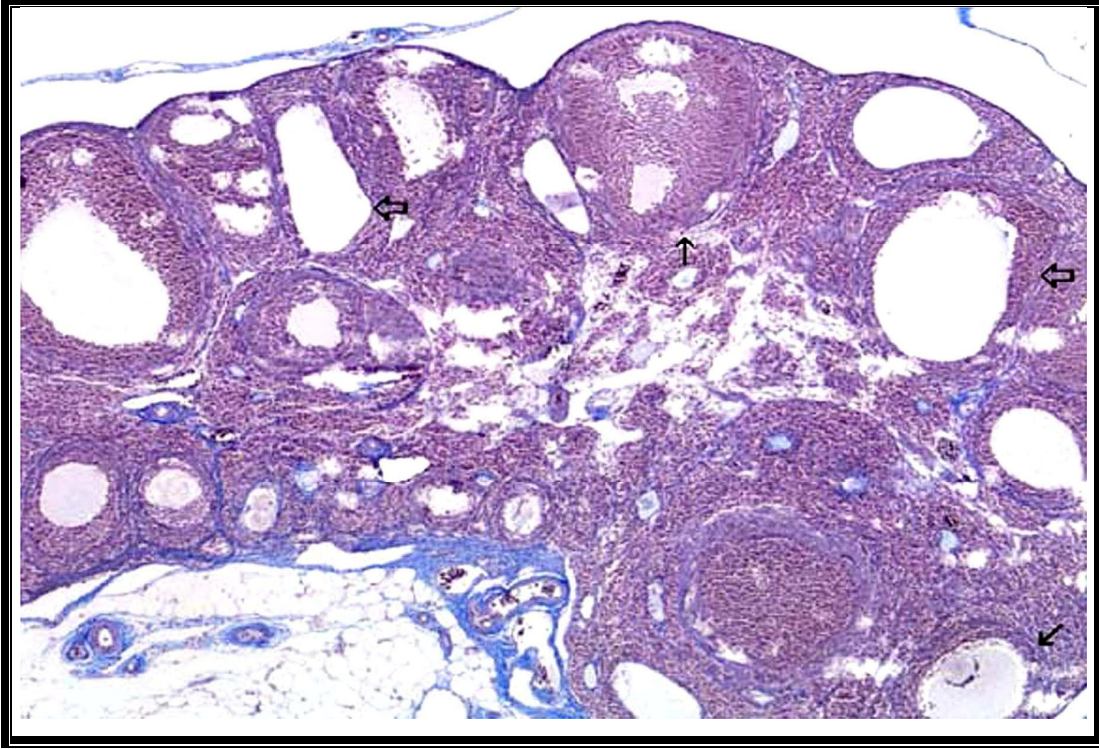
70 günlük, üç alt grupta gelişmekte olan ve atretik follikül yoğunlukları bakımından belirgin bir farklılık gözlemlenmedi. Her üç alt grupta korpus luteumlar daha sık görülmeye başladı (Şekil-13, 14, 15).



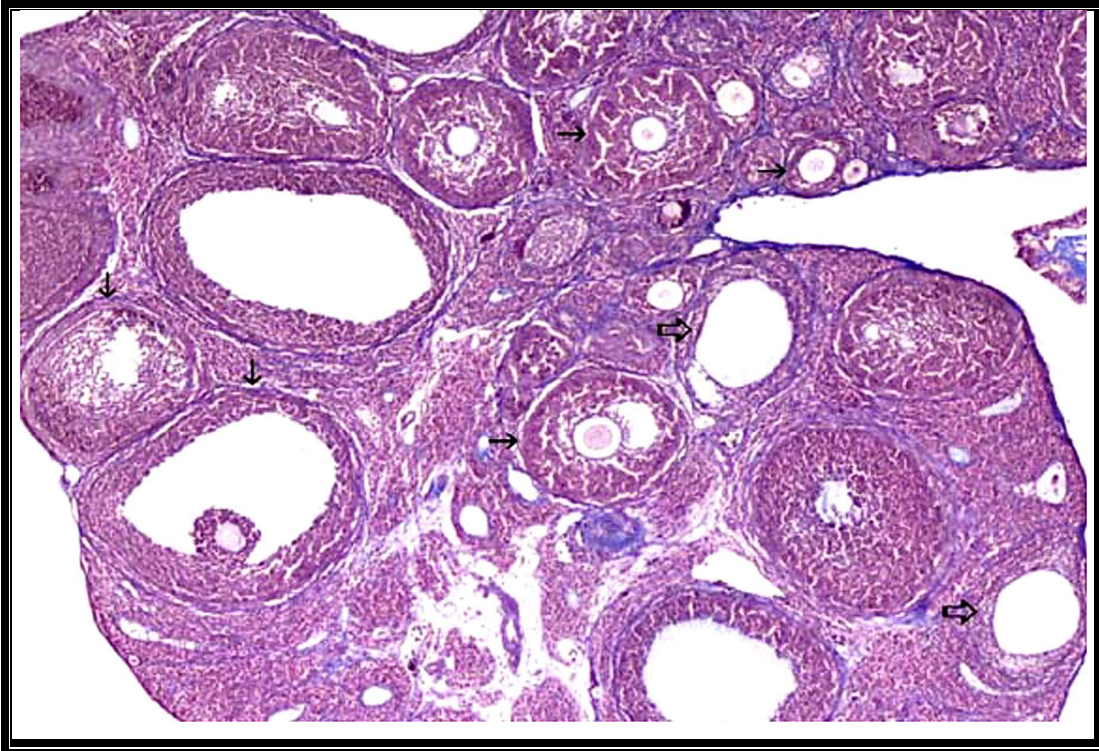
Şekil 5: Ovaryum genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
p: Primordiyal follikül, *****: Primer follikül, **s:** Sekonder follikül, **⇨:** Atretik follikül
cl: Korpus luteum, **K:** Korteks, **M:** Medulla



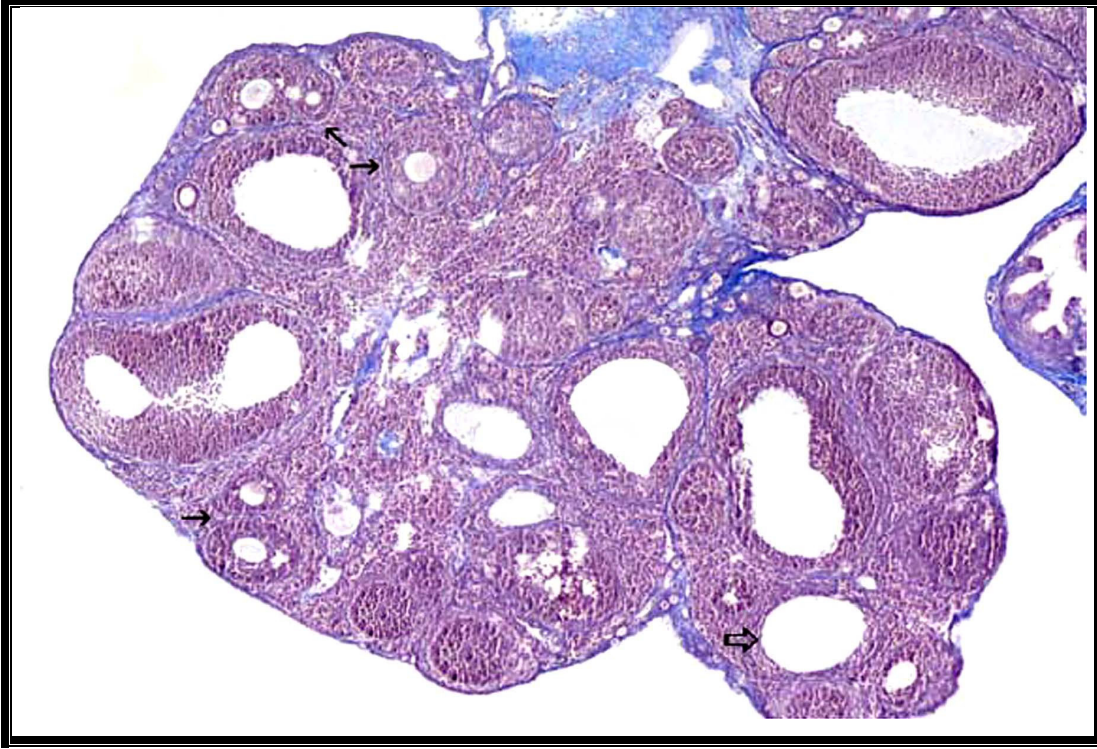
Şekil 6: Ovaryum genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
p: Primordiyal follikül, *****: Primer follikül, **s:** Sekonder follikül, **cl:** Korpus luteum,
⇨: Atretik follikül, **i:** İntersitsiyel hücreler



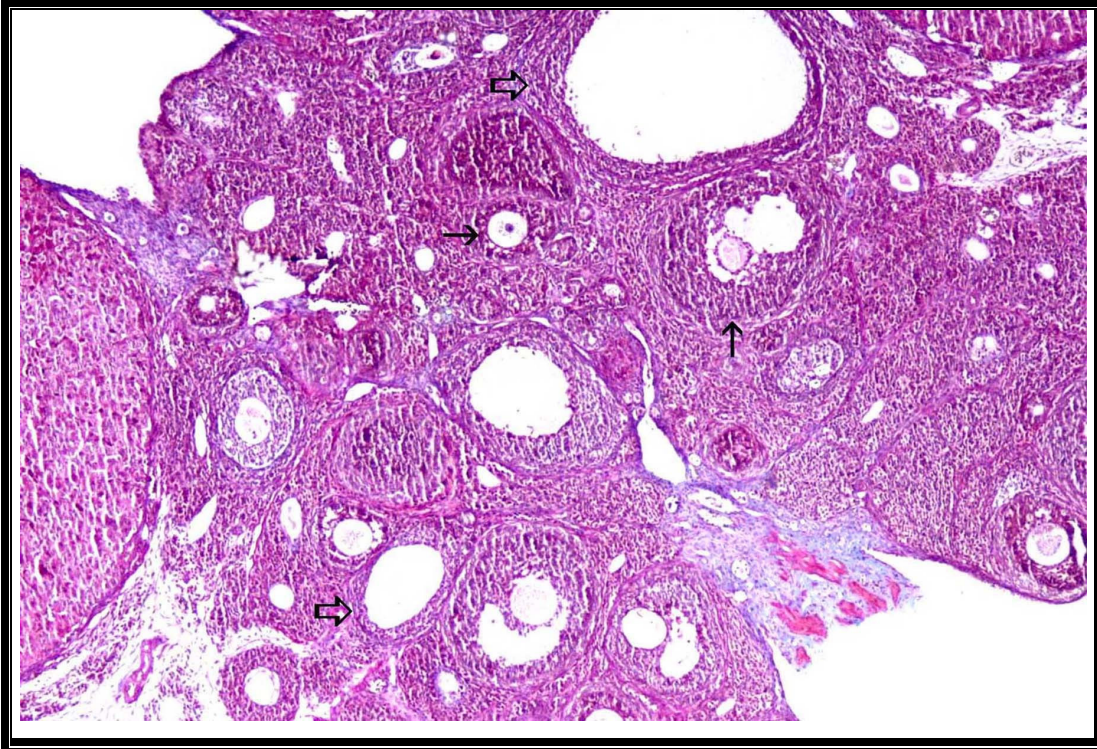
Şekil 7: 42 günlük kontrol grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan folliküller, ⇨: Atretik Folliküller



Şekil 8: 42 günlük taşıyıcı solüsyon (TED) grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan folliküller, ⇨: Atretik Folliküller



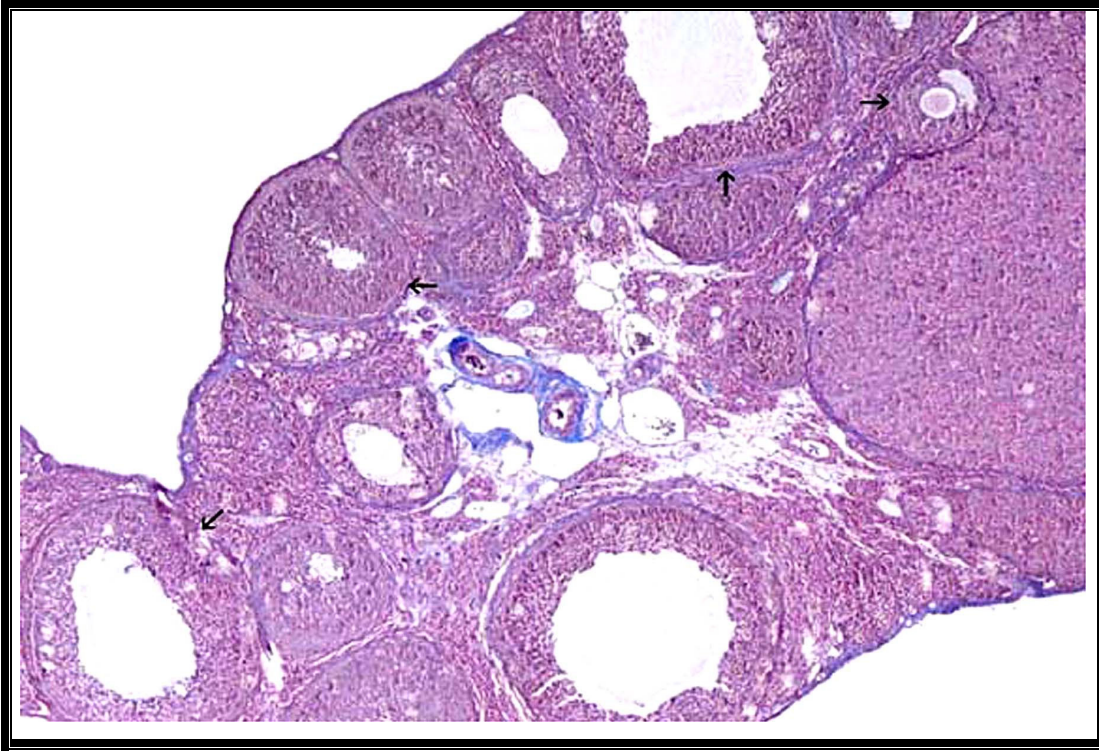
Şekil 9: 42 günlük deney grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan folliküller, ⇨: Atretik Folliküller



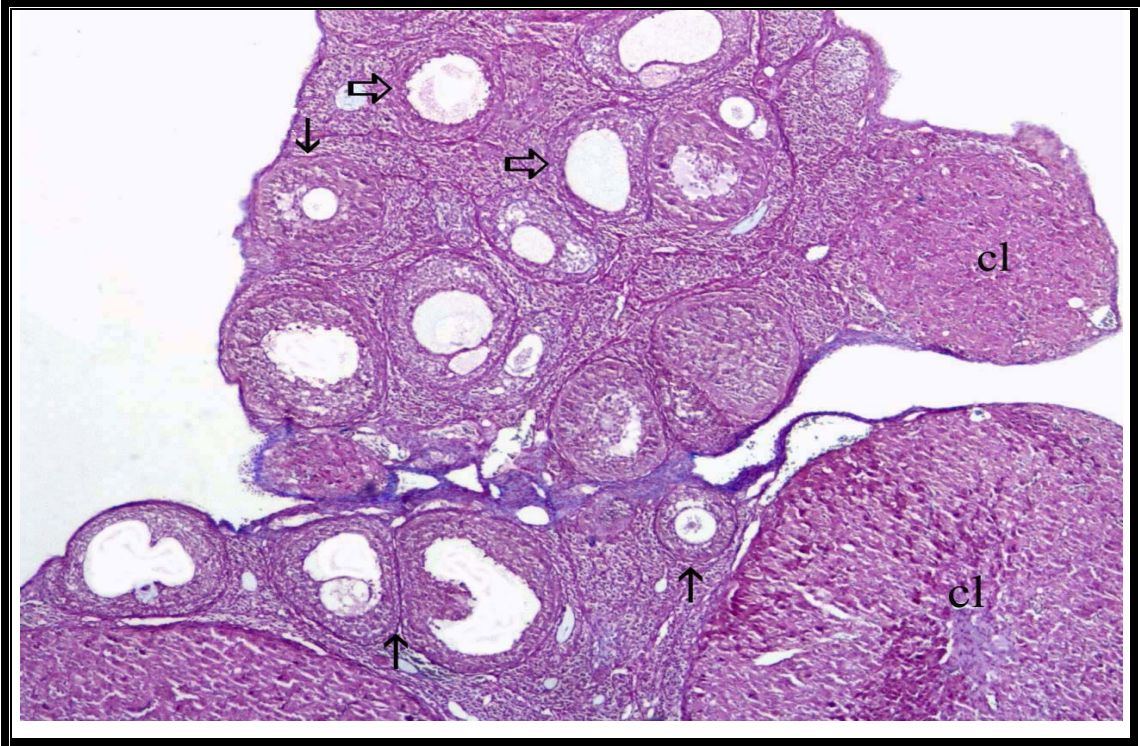
Şekil 10: 56 günlük kontrol grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan folliküller, ⇨: Atretik Folliküller



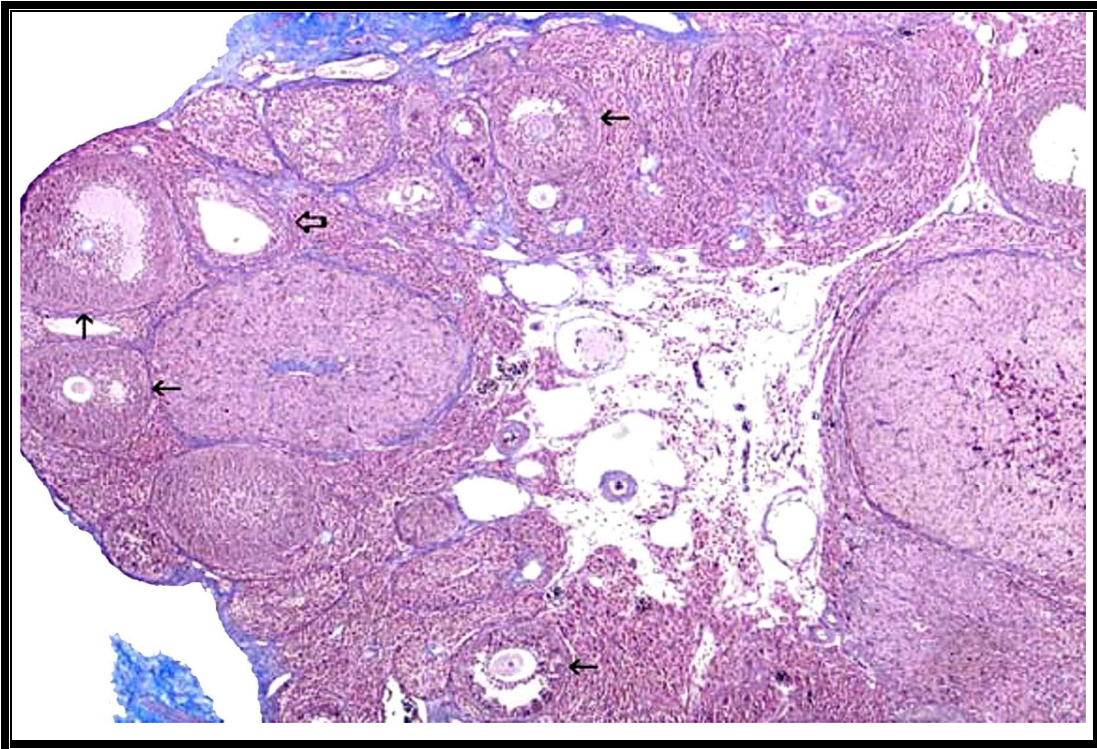
Şekil-11: 56 günlük taşıyıcı solüsyon (TED) grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan follüküller, ⇨: Atretik Follüküller



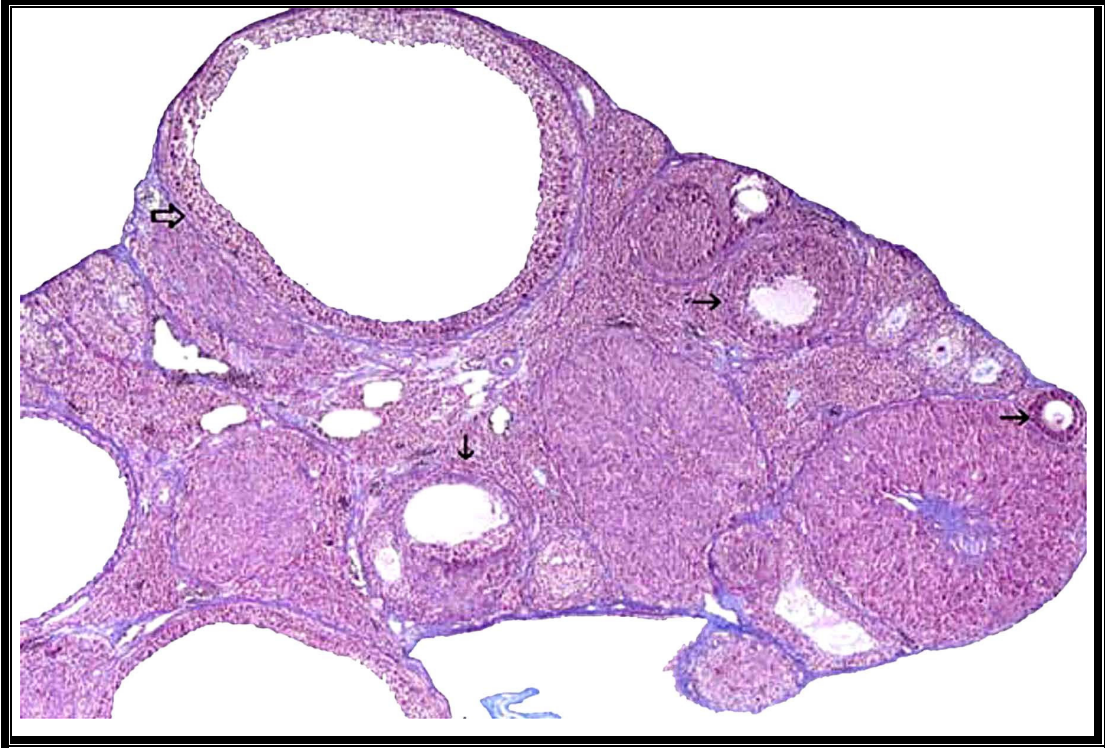
Şekil 12: 56 günlük deney grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan follüküller, ⇨: Atretik Follüküller



Şekil 13: 70 günlük kontrol grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan folliküller, ⇔: Atretik Folliküller, cl: korpus luteum



Şekil 14: 70 günlük TED grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan folliküller, ⇔: Atretik Folliküller, cl: korpus luteum



Şekil 15: 70 günlük deney grubu genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif
↑: Gelişmekte olan follüküller, ⇨: Atretik Follüküller, cl: korpus luteum

İmmunohistokimyasal Bulgular

İmmunohistokimyasal olarak VR1 ekspresyonu yöntemi uygulanan kontrol, taşıyıcı solüsyon (TED) ve deney alt gruplarına ait ovaryum preparatlarının değerlendirmeleri, folliküllerdeki granüloza hücrelerinin, intersitisyel hücrelerin, teka follikül hücrelerinin ve korpus luteumlardaki luteal hücrelerin reaksiyon yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme bağımsız gözlemciler tarafından, boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0 ile 3 puanları arasında değerler verilerek yapıldı. Her üç ana grupta da (42, 56 ve 70 günlük) farklı gelişme dönemlerindeki folliküllerin granüloza hücrelerinde, intersitisyel hücrelerde, teka follikül hücrelerinde ve korpus luteumdaki luteal hücrelerde değişik şiddette boyanma reaksiyonları gözlemlendi. Negatif kontrol preparatlarında herhangi bir boyanma gözlenmedi (Şekil-16).

42 günlük deney alt grubunda reaksiyon şiddetinin kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarına göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi. Kontrol alt grubunda da reaksiyon şiddetinin taşıyıcı solüsyon alt grubuna göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil- 17, 18, 19). Deney alt grubundaki reaksiyon şiddeti +++, kontrol alt grubundaki reaksiyon şiddeti ++ ve taşıyıcı solüsyon alt grubundaki reaksiyon şiddeti + olarak değerlendirildi (Tablo 3)

56 günlük kontrol alt grubunda reaksiyon şiddetinin deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarına göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil- 20, 21, 22). Deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarındaki reaksiyon şiddetlerinin ise birbirine benzer olduğu gözlemlendi. Kontrol alt grubundaki reaksiyon şiddeti ++ olarak değerlendirilirken, deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarındaki reaksiyon şiddeti + olarak değerlendirildi (Tablo 3).

70 günlük kontrol alt grubunda reaksiyon şiddetinin deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarına göre daha zayıf şiddette olduğu gözlemlendi. Deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarının reaksiyon şiddetinin birbirine yakın olduğu tespit edildi (Şekil- 23, 24, 25). Deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarındaki reaksiyon şiddetleri ++ olarak değerlendirilirken kontrol alt grubundaki reaksiyon şiddeti + olarak değerlendirildi (Tablo 3).

42, 56 ve 70 günlük gruplardaki deney, taşıyıcı solüsyon ve kontrol alt gruplarının kendi aralarındaki değerlendirmeleri de yapıldı.

Kontrol alt grupları arasında yapılan değerlendirmelerde 42 ve 56 günlük gruplarda reaksiyon şiddeti birbirine benzer iken, 70 günlük grupta diğer iki gruba göre zayıf şiddette

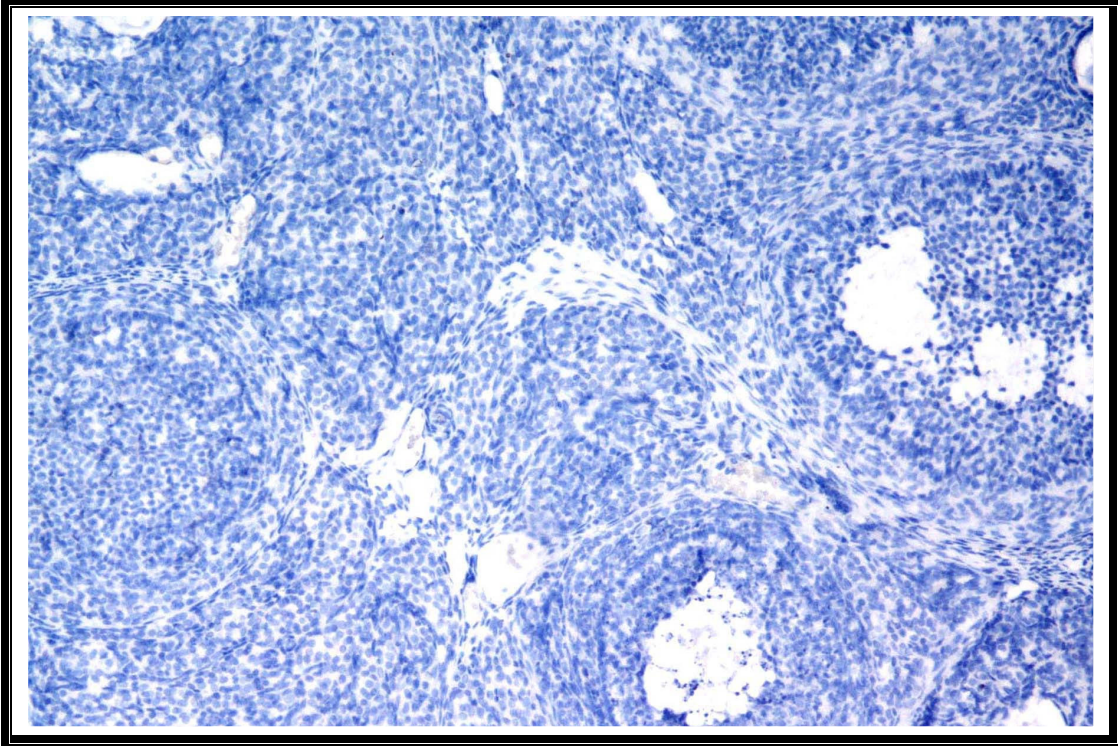
gözlemlendi. 42 ve 56 günlük gruplardaki reaksiyon şiddetleri ++, 70 günlük grupta + olarak değerlendirildi (Tablo 3).

Taşıyıcı solüsyon alt grupları arasındaki reaksiyon şiddeti 42 ve 56 günlük gruplarda 70 günlük gruplara göre daha zayıf şiddette gözlemlendi. 42 ve 56 günlük gruplardaki reaksiyon şiddeti +, 70 günlük grupta ++ olarak değerlendirildi (Tablo 3).

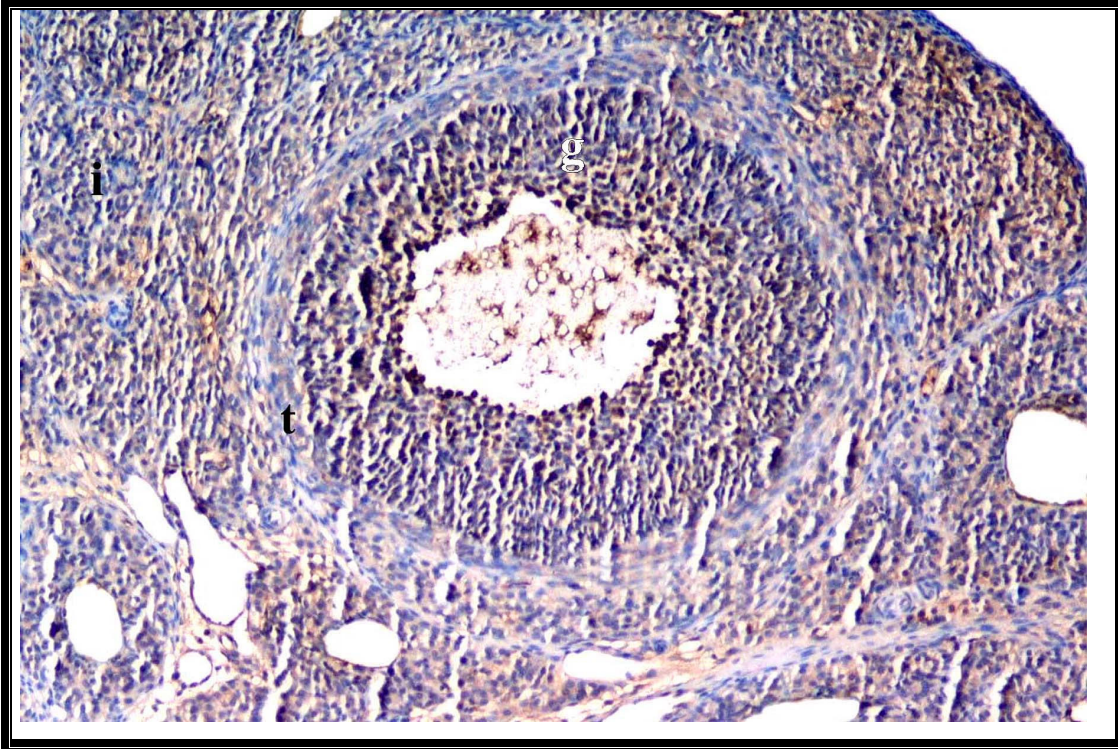
Deney alt grupları arasındaki reaksiyon şiddeti, 42 günlük grupta şiddetli, 70 günlük grupta orta şiddette, 56 günlük grupta ise zayıf şiddette gözlemlendi. 56 günlük grupta reaksiyon şiddeti +, 70 günlük grupta reaksiyon şiddeti ++ olarak değerlendirilirken, 42 günlük gruptaki reaksiyon şiddeti +++ olarak değerlendirildi. Yapılan mikroskopik incelemelerde gruplar arasında reaksiyon şiddeti bakımından farklılıklar gözlenmesine karşın, istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 3).

Tablo-3: 42, 56 ve 70 günlük ana grupların ovaryumlarında VR1 ekspresyonu reaksiyon şiddetleri
Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

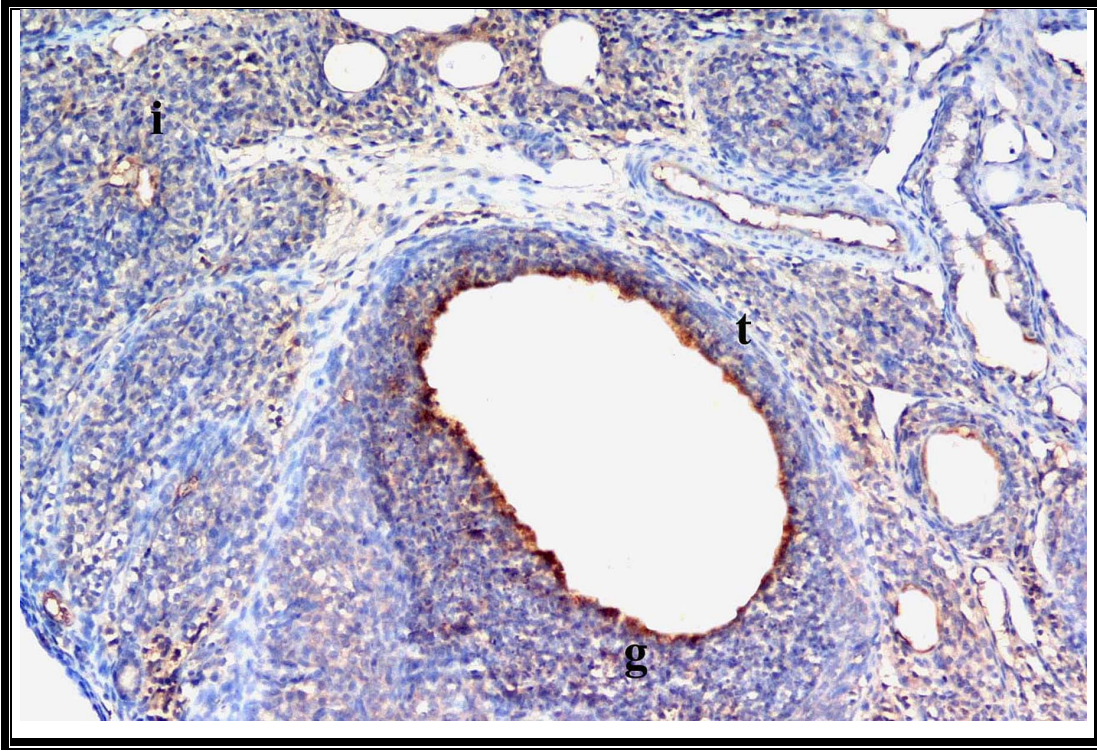
	42 Günlük	56 Günlük	70 Günlük
Kontrol	++	++	+
TED (Taşıyıcı solüsyon)	+	+	++
Deney	+++	+	++



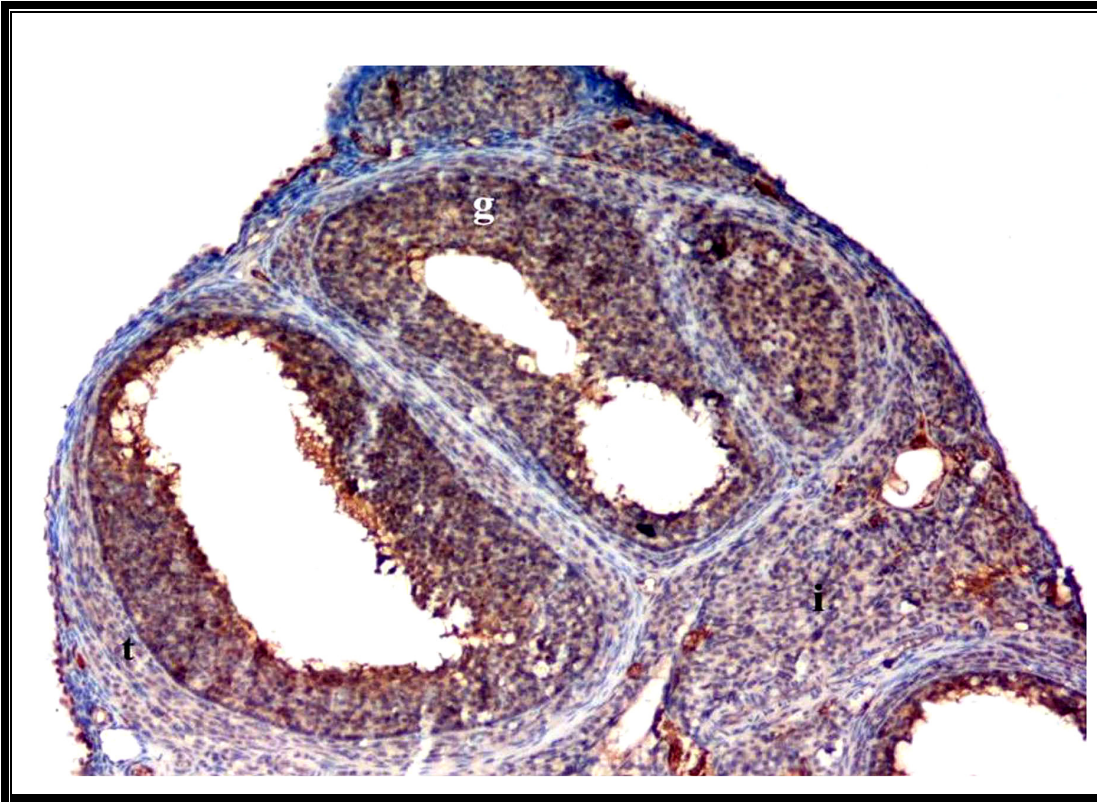
Şekil 16: VR1 ekspresyonu için negatif preparat x 10'luk objektif



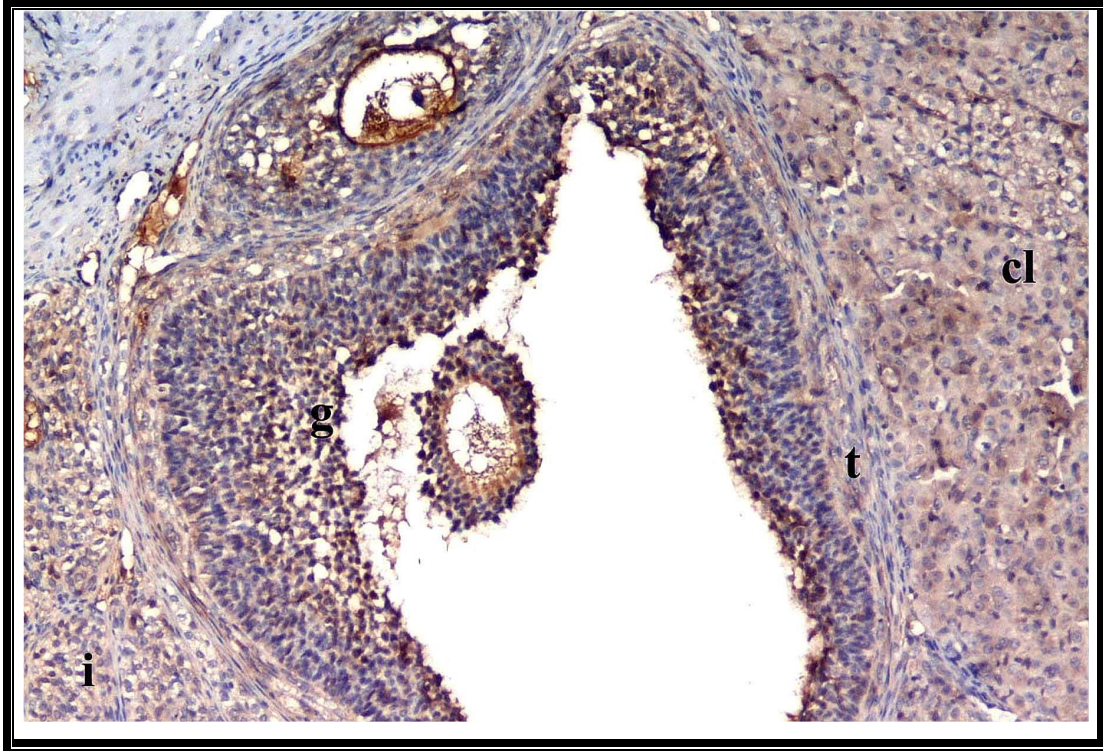
Şekil 17: 42 günlük kontrol grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follükülü, g : Granüloza hücreleri, i : İntersitysel bölge



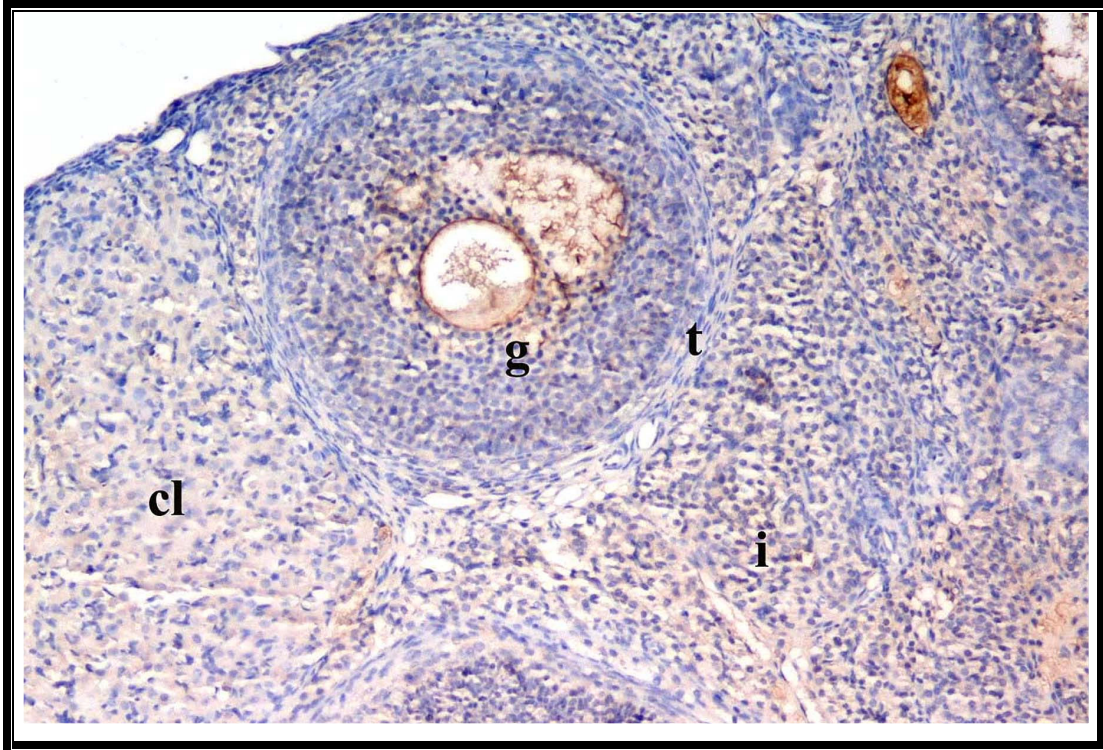
Şekil 18: 42 günlük taşıyıcı solüsyon (TED) grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follükülü, g : Granüloza hücreleri, i : İntersirisyel bölge



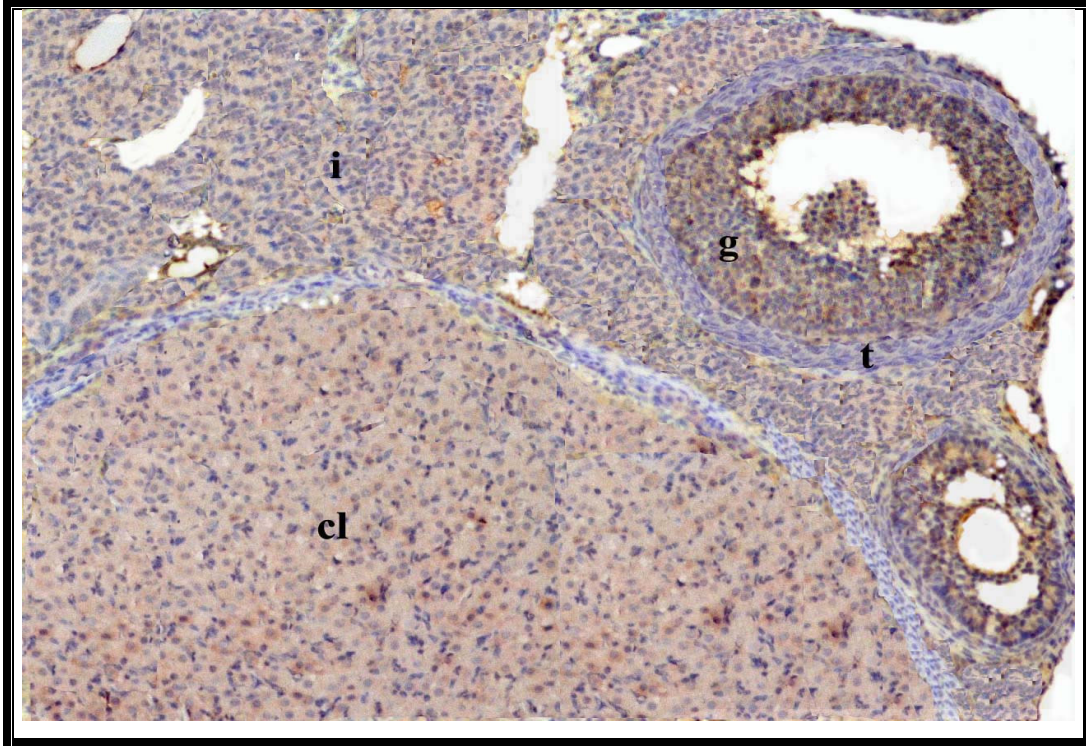
Şekil 19: 42 günlük deney grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follükülü, g : Granüloza hücreleri, i : İntersitisyel bölge



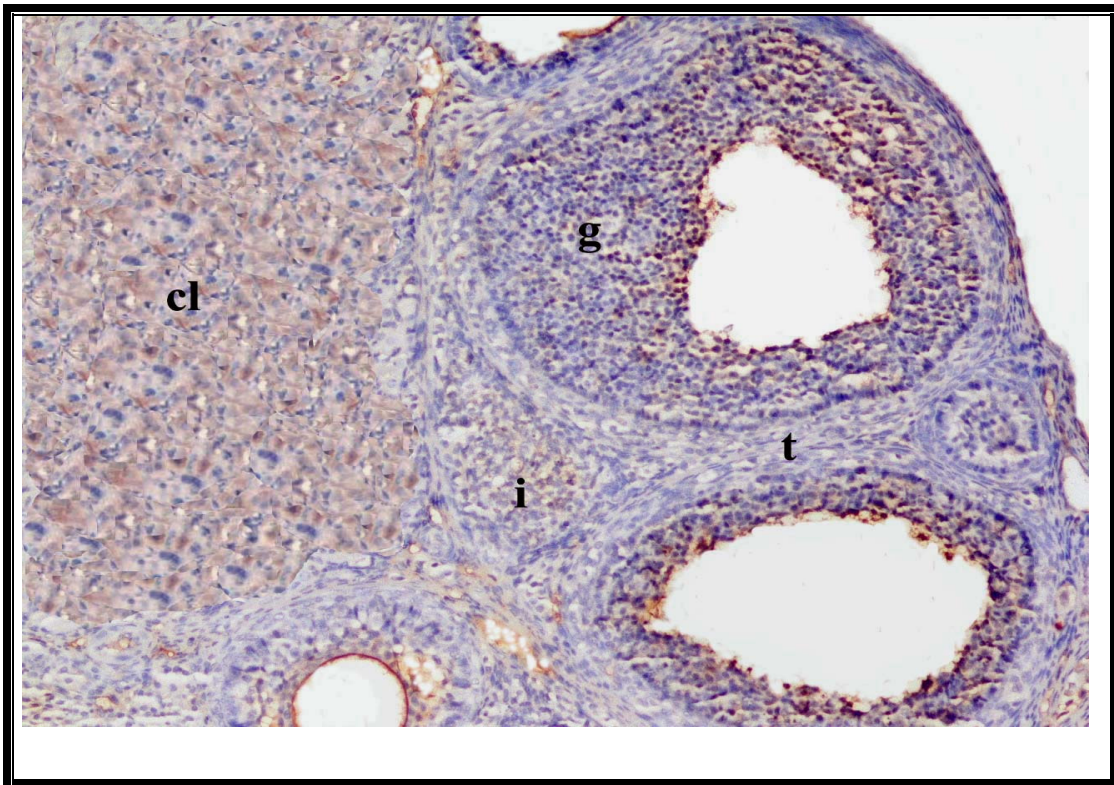
Şekil 20: 56 günlük kontrol grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follikülü, g : Granüloza hücreleri, i : İntersitsiyel bölge, cl : Korpus luteum



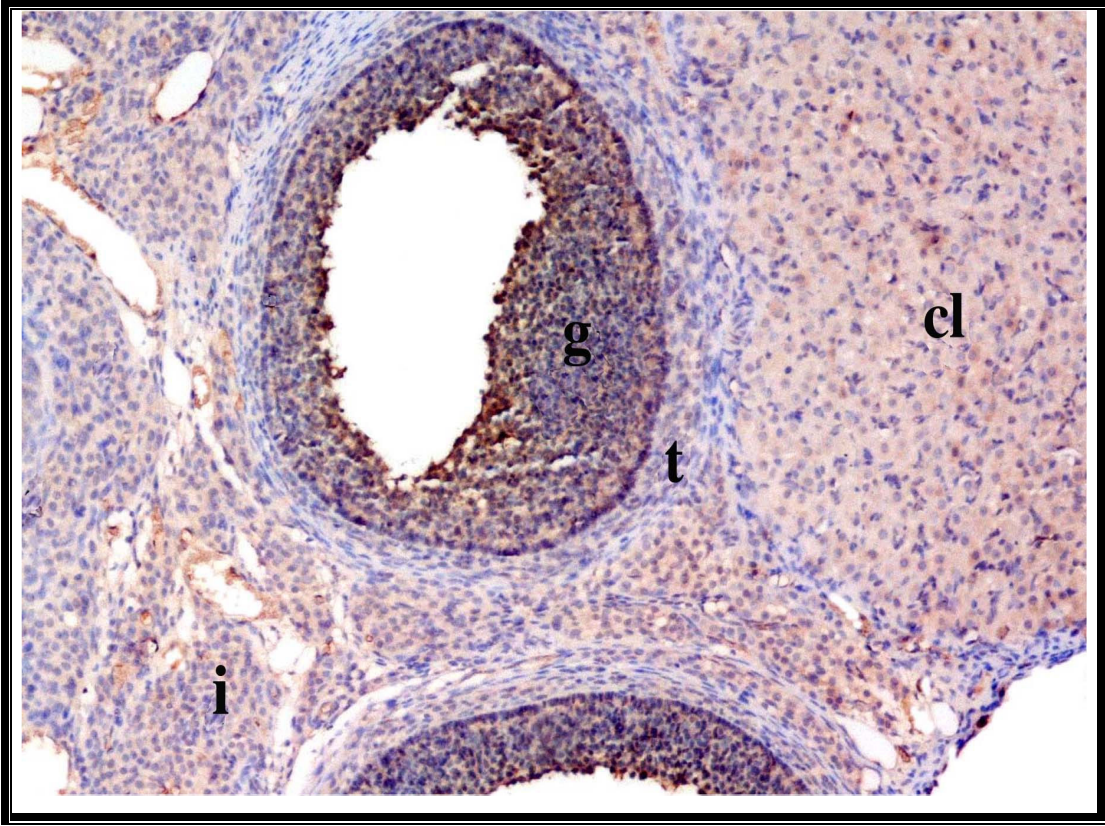
Şekil 21: 56 günlük taşıyıcı solüsyon (TED) grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follikülü, g : Granüloza hücreleri, cl : korpus luteum, i : İntersitsiyel bölge



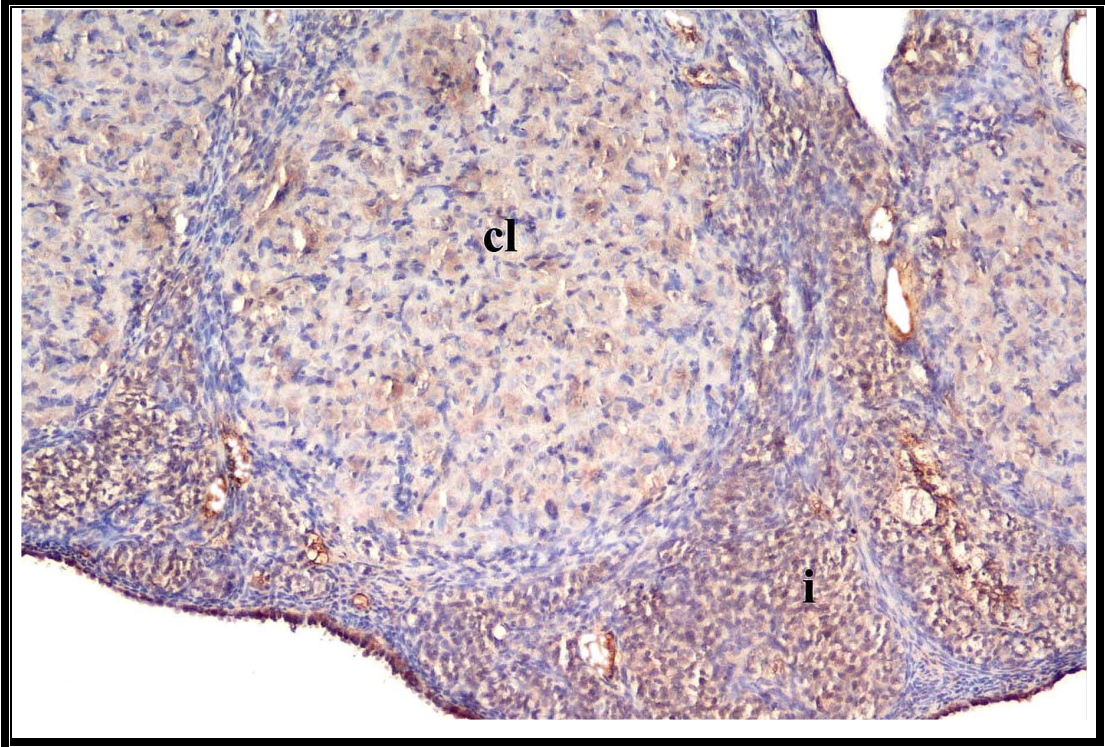
Şekil 22: 56 günlük deney grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follikülü, g : Granüloza hücreleri, cl : korpus luteum, i : İntersitsiyel bölge



Şekil 23: 70 günlük kontrol grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follikülü, g : Granüloza hücreleri, cl : korpus luteum, i : İntersitsiyel bölge



Şekil 24: 70 günlük taşıyıcı solüsyon (TED) grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
t : Teka follikülü, g : Granüloza hücreleri, cl : korpus luteum, i : İntersitisel bölge



Şekil 25: 70 günlük deney grubunda VR1 ekspresyonu x 10'luk objektif
cl : korpus luteum, i : intersitisel bölge

Biyokimyasal Bulgular

42, 56 ve 70 günlük ana çalışma grupları kontrol, taşıyıcı solüsyon (TED) ve deney alt gruplarında serum LH, FSH, Progesteron ve Östrojen hormon analizleri Elisa yöntemi ile yapıldı ve elde edilen sonuçların ortalama değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

LH: 42 günlük kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları kendi içlerinde değerlendirilerek deney alt grubundaki hormon seviyesinin kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarına göre daha yüksek olduğu, kontrol alt grubunun da taşıyıcı solüsyon alt grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 4, Şekil 26). 56 günlük grupta hormon seviyesinin deney alt grubunda diğer iki alt gruba göre daha fazla olduğu ve kontrol-taşıyıcı solüsyon alt grupları arasında ise bir yakınlık olduğu saptanmıştır (Tablo 4, Şekil 26). 70 günlük grubun deney ve kontrol alt gruplarında hormon seviyesi birbirine yakın iken, taşıyıcı solüsyon alt grubunda bu iki gruba göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4, Şekil 26). Her üç ana ve alt grup ortalamaları arasında görülen farklılıklar kendi içlerinde karşılaştırıldığında istatistiki bakımdan önem farkı tespit edilmemiştir.

42, 56 ve 70 günlük gruplar kendi aralarında değerlendirildiklerinde, 56 günlük kontrol alt grubundaki LH hormon seviyesinin 42 ve 70 günlük kontrol alt gruplarına göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Taşıyıcı solüsyon alt gruplarındaki değerlendirmede, 56 ve 70 günlük gruplar arasında çok az bir farklılık gözlenirken, 42 günlük grupta hormon seviyesinin diğer iki gruba göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Deney alt gruplarında ise, 42 ve 56 günlük gruplardaki hormon seviyeleri arasında fazla bir farklılık bulunmazken, 70 günlük grupta hormon seviyesinin diğer iki gruba göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Her üç alt grup ortalamaları arasında görülen farklılıklar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiki bakımdan önem farkı tespit edilmemiştir.

FSH: Analizler sonucunda her üç grup değerlendirildiğinde; 42 günlük deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarının FSH hormon ortalama değerleri birbirine yakın iken, kontrol alt grubu değerlerinin oldukça düşük olduğu saptanmıştır. 56 günlük; deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarının FSH düzeyleri birbirine yakın iken, kontrol alt grubunun FSH düzeyinin diğer iki alt gruptan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 70 günlük; deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarının FSH düzeyleri birbirine yakın iken, kontrol alt grubunun FSH düzeyinin diğer iki alt gruptan daha düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 4, Şekil 27).

Her üç ana ve alt grup ortalamaları arasında görülen farklılıklar kendi içlerinde karşılaştırıldığında istatistiki bakımdan önem farkı tespit edilmemiştir.

Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde, 56 günlük kontrol alt grubunun FSH düzeyinin 42 ve 70 günlük gruplara oranla daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Taşıyıcı solüsyon alt grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde 56 günlük grubun 42 ve 70 günlük gruplara oranla daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt grupları kendi içlerinde karşılaştırıldıklarında görülen farklılığın istatistiki bakımdan önem farkı tespit edilememiştir. 56 günlük deney alt grubunun 42 ve 70 günlük deney alt gruplarına oranla daha yüksek seviyelerde olup, görülen farklılığın istatistiki bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir.

Progesteron: Analizler sonucunda her üç grup değerlendirildiğinde; 42 günlük grupta taşıyıcı solüsyon ve kontrol alt gruplarının progesteron hormonu ortalama değerleri birbirine yakın ve deney alt grubuna göre yüksek olduğu gözlenmiştir. 56 günlük grupta; Deney alt grubundaki progesteron seviyesinin kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarına göre yüksek olduğu, taşıyıcı solüsyon alt grubunun da kontrol alt grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. 42 ve 56 günlük ana gruplar ve alt grupları arasında görülen farklılığın istatistiki bakımdan önemli olmadığı tespit edilmiştir. 70 günlük grupta ise taşıyıcı solüsyon alt grubunun progesteron düzeyinin kontrol ve deney alt gruplarına göre daha yüksek, kontrol alt grubunun ise deney alt grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4, Şekil 28). 70 günlük taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları, taşıyıcı solüsyon ve kontrol alt grupları arasında istatistiki bakımdan anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir.

Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları kendi aralarında değerlendirilerek 42 ve 56 günlük kontrol alt grupları progesteron seviyeleri birbirine yakın ve 70 günlük gruba göre daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Taşıyıcı solüsyon alt gruplarına bakıldığında; 56 ve 70 günlük taşıyıcı solüsyon alt gruplarının progesteron seviyelerinin birbirine yakın ve 42 günlük gruba oranla daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt grupları arasında görülen farklılığın istatistiki bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir. Deney alt grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde 42 ve 70 günlük grupların progesteron seviyelerinin birbirine yakın ve 56 günlük gruptan daha düşük seviyede olduğu gözlenmiştir. Deney alt gruplarında görülen farklılığın istatistiki bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir.

Östrojen: Analizler sonucunda her üç grup değerlendirildiğinde; 42, 56 ve 70 günlük grupların kontrol alt gruplarının östrojen düzeylerinin taşıyıcı solüsyon ve deney alt gruplarına göre daha yüksek, taşıyıcı solüsyon alt gruplarının ise deney alt gruplarına göre yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir (Tablo 4, Şekil 29). 42 ve 56 günlük gruplarda kontrol alt grupları ile taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları arasında istatistiki önem farkı tespit edilmiştir. 70 günlük grupta ise kontrol ve deney alt grupları arasında istatistiki önem farkı gözlenmiştir.

Kontrol, taşıyıcı solüsyon ve deney alt grupları kendi aralarında değerlendirildi ve şu sonuçlar elde edildi. 42 ve 56 günlük kontrol alt gruplarının östrojen düzeylerinin birbirine benzer ve 70 günlük gruba göre oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. 42 ve 70 günlük kontrol alt grupları ile 56-70 günlük kontrol alt grupları arasında görülen farklılığın istatistiki bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir. Taşıyıcı solüsyon alt gruplarına bakıldığında; 56 günlük grupta östrojen düzeyinin 42 ve 70 günlük gruplara göre daha yüksek, 70 günlük grubun ise 42 günlük gruba göre yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Deney alt gruplarına bakıldığında ise; 56 günlük grubun östrojen düzeyinin 42 ve 70 günlük gruplara göre daha yüksek, 70 günlük grubun ise 42 günlük gruba göre yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. Taşıyıcı solüsyon ve deney alt gruplarının kendi içlerinde görülen bu farklılığın istatistiki bakımdan önemli olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo-4: 42, 56 ve 70 günlük grupların serum LH, FSH, Progesteron ve Östrojen hormon düzeyleri

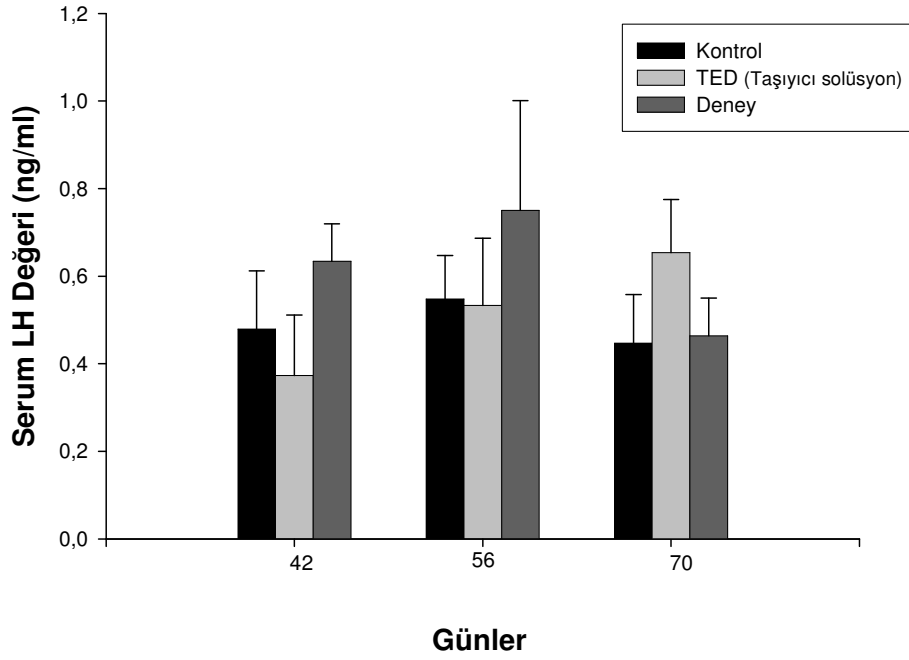
	n	42 günlük			56 günlük			70 günlük		
		Kontrol <i>x ± SE</i>	TED <i>x ± SE</i>	Deney <i>X ± SE</i>	Kontrol <i>x ± SE</i>	TED <i>x ± SE</i>	Deney <i>x ± SE</i>	Kontrol <i>x ± SE</i>	TED <i>x ± SE</i>	Deney <i>x ± SE</i>
Serum LH Düzeyleri	5	0.479 ± 0.133	0.373 ± 0.138	0.634 ± 0.085	0.548 ± 0.098	0.533 ± 0.154	0.750 ± 0.251	0.447 ± 0.111	0.654 ± 0.121	0.464 ± 0.085
Serum FSH Düzeyleri	5	0.042 ± 0.300	0.140 ± 0.041	0.162 ± 0.053 ^a	1.561 ± 0.412	0.840 ± 0.310	0.668 ± 0.174	0.157 ± 0.060	0.587 ± 0.300	0.478 ± 0.159 ^a
Serum Progesteron Düzeyleri	5	2.181 ± 0.545	2.372 ± 0.402	1.091 ± 0.262 ^a	2.877 ± 1.216	4.012 ± 1.594	6.307 ± 1.882	1.436 ± 0.543 ^b	3.961 ± 0.996	0.817 ± 0.104 ^{b a}
Serum Östrojen Düzeyleri	5	626.712 ± 25.712 ^d	133.374 ± 19.383 ^c	28.285 ± 0.000 ^c	634.310 ± 26.350 ^d	247.592 ± 37.484	149.274 ± 19.368	231.880 ± 16.973	177.485 ± 19.082	125.076 ± 10.362 ^c

a 56 günlük deney grubundan farklı (p < 0,05)

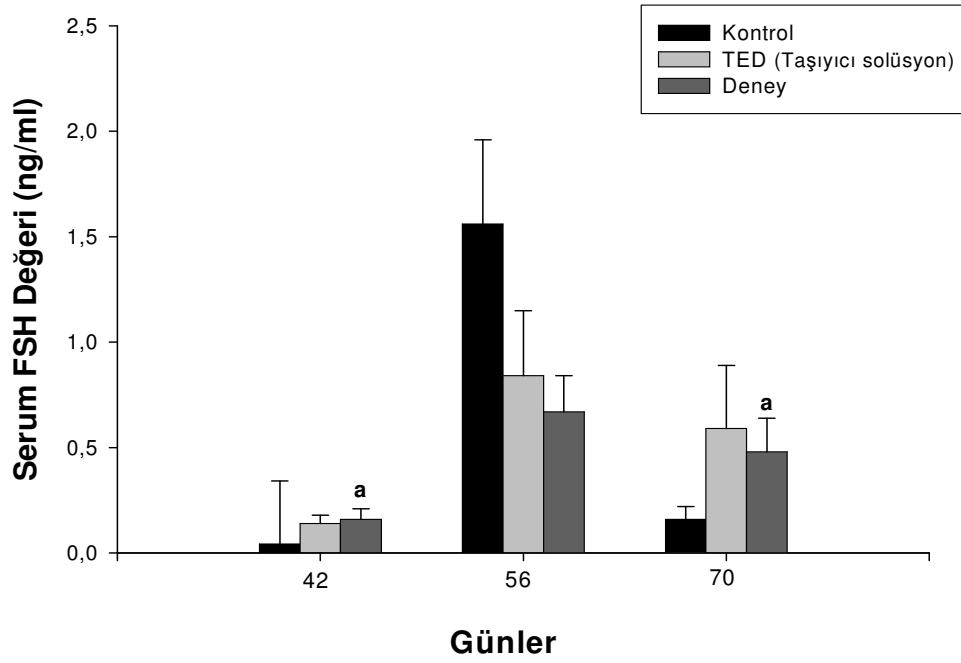
b TED'den farklı (p < 0,05)

c Kontrolden farklı (p < 0,05)

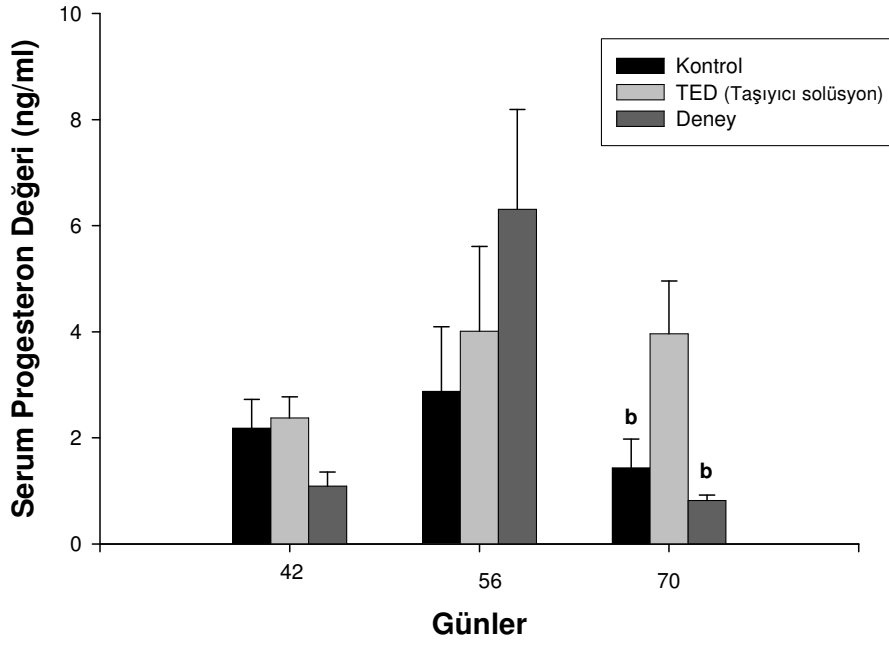
d 70 kontrolde farklı (p < 0,05)



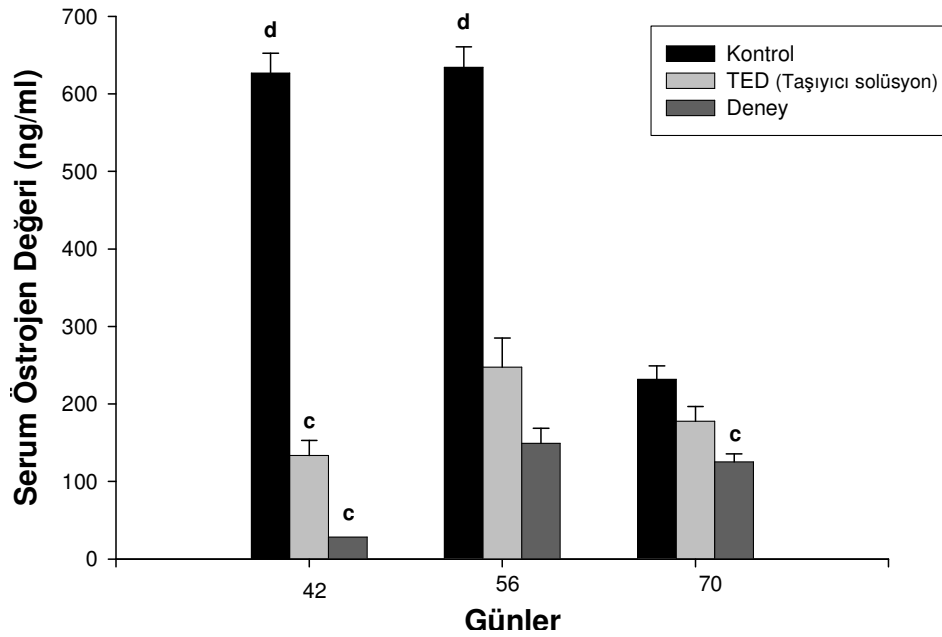
Şekil 26: Kontrol, TED ve deneş alt gruplarındaki ratların serum LH değerleri ortalamaları



Şekil 27: Kontrol, TED ve deneş alt gruplarındaki ratların serum FSH değerleri ortalamaları
a: 56 günlük deneş grubundan farklı ($p < 0,05$)



Şekil 28: Kontrol, TED ve deneş alt gruplarındaki ratların serum Progesteron değerleri ortalamaları
b: TED'den farklı ($p < 0,05$)



Şekil 29: Kontrol, TED ve deneş alt gruplarındaki ratların serum Östrojen değerleri Ortalamaları
c: Kontrolde farklı ($p < 0,05$)
d: 70 kontrolde farklı ($p < 0,05$)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda 42 ve 56 günlük gruplarda ratların ortalama canlı ağırlık kazancının deney ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarında kontrol grubuna göre azalmış olduğu gözlenmiştir. 70 günlük kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt gruplarındaki canlı ağırlık kazancı birbirine benzer iken deney grubundaki ratların canlı ağırlık kazancı 42 ve 56 günlük gruplarda olduğu gibi diğer alt gruba göre azalmış olarak tespit edilmiştir. Deney alt gruplarında her üç dönemde de canlı ağırlık kazancının azalmış ve deneme süresince benzer etkinin gözlenmiş olması, *capsaicin*'in canlı ağırlık kazancını olumsuz yönde etkilediğini tespit eden araştırmacıların bulguları ile benzerdir (12, 18, 153-159).

Çalışma sonucunda elde edilen ovaryum ağırlıkları grup içinde incelendiğinde, 42. günde deney, kontrol ve taşıyıcı solüsyon alt grupları ovaryum ağırlığı bakımından istatistiksel farklılık göstermemektedir. 56 ve 70. günlerde ise, ovaryum ağırlığının deney gruplarında artmış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu dönemlerde deney gruplarındaki ortalama canlı ağırlık kazançları ile ovaryum ağırlığı arasında pozitif yönde korrelasyon saptanmıştır. Diğer gruplarda canlı ağırlık kazancı ile ovaryum ağırlığı arasında bir korrelasyon tespit edilmemiştir. Erdost ve arkadaşları (160) da bizim bulgularımıza benzer olarak *capsaicin* uygulanmış farelerde ortalama canlı ağırlık kazançları ile testis ağırlıkları arasında doğru orantı tespit ederlerken, Özer ve arkadaşları (19) acı kırmızı biberle beslenen horozlarda ortalama canlı ağırlık kazancının azaldığını testis ağırlığının arttığını ve canlı ağırlık ile testis ağırlığı arasında ters orantı olduğunu saptamışlardır.

Çalışmamızda *capsaicin*'i vermek üzere kullandığımız taşıyıcı solüsyon uyguladığımız gruplarda da ovaryum ağırlığında kontrollere göre bir artış olduğu tespit edildi. Bu durumun kullanılan taşıyıcı solüsyonun da genel metabolizma üzerindeki etkilerinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak literatürde in vivo düzeyde ovaryum çalışması karşılaştırması yapmamız ve dolayısı ile konuya daha fazla açıklık getirmemiz mümkün olamamıştır. Aynı taşıyıcı solüsyonun kullanıldığı çalışmaların bir kısmında ayrı bir kontrol grubu oluşturulmamıştır (142, 161, 162).

Çalışmamızda 42 ve 56. günlerde deney alt gruplarında gelişmekte olan follikül yoğunluğunun diğer iki alt gruba göre daha fazla olduğu gözlendi. 70 günlük grupta ise üç alt grupta da follikül yoğunluğu bakımından herhangi bir farklılık gözlenmedi. Moran ve arkadaşları (141) bizim bulgularımızın aksine yeni doğmuş ratlara yüksek doz *capsaicin* uygulanmasının ovaryumlarda follikül sayılarında azalma ve atretik follikül sayılarında artışa

neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın *capsaicin*'in uygulama süresinden ve dozundan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda, ratlarda ovaryumda farklı hücrelerde VR1 ekspresyonunun varlığı tespit edilmiştir. Literatür taramalarında VR1'in mide, barsak, testis, Gl. Submandibularis, deri gibi pek çok dokuda sinir pleksüsleri ve epitel hücrelerinde lokalize olduğu gözlenirken (44, 45, 84, 160, 163-165), ovaryum dokusunda VR1'in lokalizasyonu ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *Capsaicin* ile yapılan çalışmaların çoğunun, in vitro ortamda CHO (Chinese Hamster Ovary) hücre hatlarıyla ile yapılmış olduğu ve bu çalışmaların sonucunda daha çok *capsaicin* ile bağlantılı olan nöropeptidlerden SP, CGRP'in ekspresyonunun gösterildiği tespit edilmiştir (9, 109).

İmmunohistokimyasal boyamalar sonucunda, 42, 56 ve 70 günlük rat ovaryumlarının granüloza hücrelerinde, intersitisyel hücrelerde, teka follikül hücrelerinde ve korpus luteumdaki luteal hücrelerde farklı şiddetlerde VR1 ekspresyonu gözlenmiştir. VR1'in immunreaksiyon şiddeti bakımından, gruplar arasında farklılıklar gözlenmesine rağmen, istatistiksel analizler sonucunda gruplar arasında önem gösteren bir farklılık belirlenmemiştir. Tüm gruplarda VR1 ekspresyonunu gözlemlememiz düşük doz uzun süre *capsaicin* uygulanmasının VR1 üretimine engel oluşturmadığını düşündürmektedir. Bu bulgumuz Zık ve arkadaşlarının duodenumda (164) düşük doz (0,5 mg/kg) ve düzenli aralıklarla uygulanan *capsaicin*'in VR1'i inaktive etmediğini bildiren çalışmaları ile uyumludur. Ancak tek ve yüksek doz *capsaicin* uygulamasının sensorik sinirlerde dejenerasyon oluşturduğu, nöroendokrin refleksi bozduğu ve fertilité üzerine olumsuz etki yaptığını bildiren çalışmaların (141, 142, 148) sonuçlarından farklıdır. Ayrıca *capsaicin*'e duyarlı sensorik sinir sonlarında SP, NKA ve CGRP gibi nöropeptidlerin varlığını immunohistokimyasal olarak gösteren çalışmalarda da tek ve yüksek dozda kullanılan *capsaicin*'in, nöropeptid ekspresyonunda azalmaya neden olduğunu bildiren çalışmalar vardır (134, 166). Bu farklılıkların *capsaicin*'in doz ve uygulanma şekli ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Walczeska ve arkadaşları (167) nöropeptidlerden SP'nin hipotalamo-hipofizer sistemde GnRh konsantrasyonunu önemli derecede arttırdığını ve gonadotropin salınımı üzerine rol oynadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Dees ve arkadaşları da (168) SP'yi folliküllerin teka eksternasına yakın yerleşen sinir sonlarında ve kan damarlarının çevresinde tespit etmiş, SP'nin ovaryum içine kan akışını sağlamada ve ovaryum fonksiyonunu gerçekleştirmede önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Erdost ve arkadaşları VR1 (20), Caterina ve arkadaşları (21) SP ile yaptıkları çalışmalarda *capsaicin*'in sinir sonlarındaki nöropeptidlerin salınımının uyarılabileceğini saptamışlardır. Holzer ve arkadaşları (169)

tarafından yapılan çalışmada SP ile birlikte CGRP'ninde vazodilatör etki ile ovaryum fonksiyonları üzerinde olumlu etkiler yaptığını bildirilmektedirler. Biz de çalışmamızda her dönemde deney gruplarında VR1 ekspresyonunun gözlenmesinin, düşük doz uzun süre *capsaicin* uygulamasının *capsaicin* reseptörü olan VR1'i inaktive etmediğini ve dolayısıyla sinir sonlarındaki nöropeptidlerin salınımının uyarılabileceğini ve bu yol ile ovaryumda postnatal gelişme üzerine olumlu yönde etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca düşük doz uzun süre *capsaicin* uygulamasının deney grubu ratlarda ortalama canlı ağırlık kazancını azaltması, ovaryum ağırlıkları ile gelişmekte olan follikül yoğunluklarını arttırması ve follikül atrezisinin düşük olması *capsaicin*'in hipofiz-gonad eksenini aracılığı ile gonad gelişimi üzerine olumlu yönde etki yaptığı yönündeki düşüncelerimizi güçlendirmektedir.

Çalışmamızda 56 günlük kontrol grubu hariç genel olarak tüm deney gruplarında serum LH ve FSH seviyelerinin yüksek olduğu gözlenmiştir fakat istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Bu bulgularımız, diğer araştırmacıların (20, 134, 141, 168, 170) da belirttiği gibi *capsaicin*'in hipofiz gonad sistemi fonksiyonu üzerine etkili olduğunu göstermektedir. İn vitro olarak yapılan çalışmalarda LH ve FSH'nın granüloza hücrelerinde anti apoptotik bir etki yaptığı ve follikül gelişimini uyardığı bildirilmektedir (171). Bu araştırmacıların bulguları ışığında çalışmamızda düşük doz uzun süre *capsaicin* uygulamasının serum LH ve FSH seviyelerini arttırdığını ve bunun da folliküler gelişim, dolayısı ile fertilité üzerine olumlu etkiler yapabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca deney grubunda atretik follikül yoğunluğunun daha az gözlenmesi de bu bulgularımızı desteklemektedir. Çalışmamızda genellikle tüm gelişme dönemlerinin deney gruplarında serum östrojen ve progesteron seviyeleri diğer gruplara göre düşük olarak gözlenmiştir. Ancak 56 günlük deney grubunda progesteron seviyesinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu da bize deney grubunun kontrol grubuna göre daha erken dönemde ovulasyona girdiğini ve dolayısı ile östrojen seviyelerinin daha düşük, progesteron seviyelerinin ise buna bağlı olarak artış gösterebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak sunulan bu çalışma ile VR1'in ovaryum dokularındaki lokalizasyon ve ekspresyonu in vivo olarak ilk defa gösterilmiş ve *capsaicin*-VR1 etkileşimi ilk olarak incelenmiştir. VR1 ekspresyonu tüm grupların ovaryumlarında granüloza hücrelerinde, intersitisyel hücrelerde, teka follikül hücrelerinde ve korpus luteumdaki luteal hücrelerde gösterilmiştir. VR1 ekspresyonunun tüm gruplarda gözlenmesi düşük doz uzun süre *capsaicin* uygulamasının VR1'i inaktive etmediğini, bununla birlikte *capsaicin* uygulanan deney grubunda serum LH ve FSH değerlerinin diğer gruplara göre yüksek, follikül

atrezisinin düşük olması *capsaicin*'in hipofiz-gonad sisteminin aktivitesi üzerine olumlu yönde etki yaptığını akla getirmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) ESHBAUGH WH. A Nomenclatural Note on The Genus *Capsicum*. *Taxonomy*, 17: 51-52, 1968.
- 2) JENSEN RS, MCLEAD MJ, ESHBAUGH WH, GUTTMAN SI. Numerical Taxonomic Analyses of Allozymic Variation in *Capsicum* (Solanaceae). *Taxonomy*, 28: 315-327, 1979.
- 3) LEMBECK F. Columbus, *Capsicum* and *Capsaicin*: Past, Present and Future. *Acta Physiology of Hungary*, 69: 265-273, 1987.
- 4) LOPEZ-HERNANDEZ J, ORUNA-CONCHA MJ, SIMAL-LOZANE J, GONZALES-CASTRO MJ, VARQUEZ-BLANCO ME. Determination of *Capsaicin* and *Dihydrocapsaicin* in Cayenne Pepper and Pardon Peppers by HPLC. *Deutsche Lebensmittel- Rundschau*, 92: 393- 395, 1996.
- 5) PYAN PG, LEVINE JD, GOETZL EJ. Modulation of immunity and Hypersensitivity by Sensory Neuropeptides. *Journal Of Immunology*, 132: 1601-1604, 1984.
- 6) KRESS M, GUTHMAN C, AVERBECK B, REEH PW. Calcitonin Gene Related Peptide and Prostaglandin E2 But Not Substance P Release Induced by Antidromic Nerve Stimulation From Rat Skin In Vitro. *Neuroscience*, 89: 303-310, 1999.
- 7) DURGA PM, NAU C. Desensitization of Capsaicin-Currents in the Vanilloid Receptor Trpv1 is Decreased By The Cyclic Amp-Dependent Kinase Pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 278: 50080-50090, 2003.
- 8) RASHID MH, INOUE M, KONDO S, KAWASHIMA T, BAKOSHI S, UEDA H. Novel Expression of Vanilloid Receptor 1 on *Capsaicin* – Intensive Fibers Accounts for the Analgesic Effect Of *Capsaicin* Cream In Neuropathic Pain. *Journal of Pharmacology*, 304(3): 940-948, 2003.
- 9) CATERINA MJ, SCHUMACHER MA, TOMINAGA M, ROSEN TA, LEVINE JD, JULIUS D. The *Capsaicin* Receptor: a Heat-Activated Ion Channel in the Pain Pathway. *Nature*, 389: 816-824, 1997.
- 10) STAINISZ AM, BEFUS D, BIENENSTOCK J. Differential Effects of Vasoactive Intestinal Peptide, Substance P, and Somatostatin on Immunoglobulin Synthesis and Proliferations By Lymph Nodes, and Spleen. *Journal of Immunology*, 136: 152-156, 1986.
- 11) KRISHA A, GHASH JJ. *Capsaicin* Pretreatment Protects Free Radical Induced Rat Lung Damage on Exposure to Gaseous Chemical Lung Irritants. *Phytotherapy Research*, 3: 159-161, 1989.
- 12) MONSEREENUSORN Y. Subchronic Toxicity Studies of *Capsaicin* and *Capsicum* in Rats. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 41: 95-110, 1983.
- 13) SAMBIAH K, SATYONARAYONA M.N. Hypocholesterolemic Effect of Red Pepper and *Capsaicin*. *Indian Journal of Experimental Biology*, 18: 898-899, 1980.
- 14) KAWADA T. Some Pungent Principles of Spices Cause the Adrenal Medulla to Secrete Catecholamine in Anesthetized Rats. *Proceedings Social Expanded Biology Medical*, 188(2): 229-233, 1988.
- 15) LIM K. Dietary Red Pepper Ingestion Increases Carbonhydrate Oxidation at Rest and During Exercise in Runners. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(3): 355-361, 1997.
- 16) OKTAY E, OLGUN H. Kırmızı Biberin New Hampshire Tavuklarında Yumurta Verimi, Yumurta Kalitesi ve Kuluçka Kalitesine Etkisi, IV. Bilim Kongresi, Ankara, 1-6, 1973.
- 17) FURUSE M, MAKAJIMA SI, MIYAGAWA S, NAKAGAWA J, OKUMARA JI. Feeding Behavior, Abdominal Fat and Laying Performance in Laying Hens Given Diets Containing Red Pepper. *Japanese Poultry Science*, 31(1): 45-52, 1994.
- 18) ÖZER A, ERDOST H, ZIK B. Histological Investigations on the Effects of Feeding a

- Diet Containing Red Hot Pepper on The Reproductive Organs of The Chicken, *Phytotherapy Research*, 19: 501-505, 2005.
- 19) ÖZER A, ZİK B, ERDOST H, ÖZFİLİZ N. Horozlarda Acı Kırmızı Biberli Rasyonla Beslemenin Reprodüktif Sistem Organları Üzerine Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30: 7-15, 2006.
 - 20) ERDOST H, ÇAVUŞOĞLU İ, YAKIŞIK M, ÖZFİLİZ N, ZİK B. Gonadotrophs in the Chicken, Fed With a Diet Containing Red Hot Pepper. *Indian Veterinary Journal*, 83: 419-423, 2006.
 - 21) CATERINA MJ, LEFFLER A, MALMBERG AB, MARTIN WJ, TRAFTON J, PETERSEN-ZEITZ KR, KOLTZENBURG M, BASBAUM AI, JULIUS D. Impaired Nociception and Pain Sensation in Mice Lacking The *Capsaicin* Receptor. *Science*, 288: 306-313, 2000.
 - 22) SZALLASI A. Vanilloid Receptor Ligands: Hopes and Realities for the Future. *Drugs and Aging*, 18: 561-573, 2001.
 - 23) SZALLASI A, BLUMBERG PM. Resiniferatoxin and its Analogs Provide Novel Insights into the Pharmacology of The Vanilloid (*Capsaicin*) Receptor. *Life Science*, 47: 1399-1408, 1990.
 - 24) GEPETTI P, TREVISONI M. Activation and Sensitisation of the Vanilloid Receptor: Role in Gastrointestinal Inflammation and Fuction. *British Journal of Pharmacology*, 141: 1313-1320, 2004.
 - 25) SZALLASI A. The Vanilloid Receptor: Receptor Types and Species Differences. *General Pharmacology*, 25(2): 223-43, 1994.
 - 26) LIU L, SIMON SA. Asidic Stimuli Activates Two Distinct Patways in Taste Receptor Cells from Rat Fungiform Papillae. *Brain Research*, 923: 58-70, 2001.
 - 27) LIN W, OGURA T, KINNAMAN SC. Asid-activated Cation Currents in Rat Vallate Taste Receptor Cells. *Journal of Neurophysiology*, 88: 133-141, 2002.
 - 28) YOUNG B, HEATH JW. Wheater's Functional Histology a Text and Colour Atlas. Copyright Licensing Agency Ltd., London, page 341-348, 2000.
 - 29) JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J, KELLEY RO. Basic Histology (Temel Histoloji). Çeviren: AYTEKİN Y. Barış Kitabevi, İstanbul, sayfalar 423-431, 1998.
 - 30) DELLMANN DH, EVRELL JA. Textbook of Veterinary Histology, Lippincott Williams&Wilkins, page 247- 255, 1998.
 - 31) CLEMENT PB. Histology of Ovary, Histology for Pathologist. Editor, Stephen S. Stenberg, 2th Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philedelphia, page 929-59, 1997.
 - 32) HIRSFIELD AN. Development of Follicles in the Mammalian Ovary, *International Review Of Cytology*, 124: 43-101, 1991.
 - 33) MOORE LK, PERSAUD TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, Çeviren. YILDIRIM M, OKAR I, DALÇIK H. Nobel Basımevi, İstanbul, sayfalar 18-31, 324-325, 2002.
 - 34) TANYOLAÇ A. Özel Histoloji, Yorum Basımevi, Ankara, sayfalar 144-152, 1999.
 - 35) CORMACK DH. Essential Histology, J.B.Lippincott Company, USA, sayfalar 357-365, 1993.
 - 36) EPPIG JJ. Oocyte Control of Ovarian Follicular Development and Function in Mammals. *Reproduction*, 122: 829-838, 2001.
 - 37) PEKER Ş. Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, sayfalar 223-233, 1990.
 - 38) GOUGEON A. Regulation of Ovarian Follicular Development in Primates: Fact and Hypotheses. *Endocrine Reviews*, 17: 121-155, 1996.
 - 39) YAVUZ Ö. Glycoproteins and Biomedical Importance. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 50: 9-17, 1996.
 - 40) ARTAN ME. Histoloji, İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul, sayfalar 377-386, 1988.
 - 41) BAKER TG. A Quantitative and Cytological Study of Germ Cells in the Human Ovaries.

- Proceedings of the Royal Society of London, 158: 417-433, 1963.
- 42) BRAW RH, BYSKOV AG, PETERS H, FABER M. Follicular Atresia in the Human Infant Ovary. *Journal of Reproduction and Fertility*, 46: 55-59, 1976.
 - 43) SZALLASI A, BLUMBERG PM. Vanilloid (*capsaicin*) Receptors and Mechanisms. *Pharmacological Reviews*, 51: 159-211, 1999.
 - 44) VERONESI B, HOAR C, ROY J, OORTGISEN M. Particulate Matter Inflammation and Receptor Sensitivity are Target Cell Specific. *Inhalation Toxicology*, 14: 159-183, 2002.
 - 45) HUDSON LJ, BEVAN S, WOTHERSPOON G, GENTRY C, FOX A, WINTER J. VR1 Protein Expression Increases in Undamaged DRG Neurons After Partial Nerve Injury. *European Journal of Neuroscience*, 13: 2105-2114, 2001
 - 46) TAE-WOONG OH and FUKIO OHTA. Dose-dependent Effect of *Capsaicin* on Edurance Capacity in Rats. *British Journal of Nutrition*, 90: 515-520, 2003.
 - 47) YOUNG-SOON S. More than spice: *Capsaicin* in Hot Chilli Peppers Makes Tumor Cells Commit Suicide. *Journal of the National Cancer Institute*, 94: 1263-1265, 2002.
 - 48) THERIAULT E, OTSUKA M, JESSEL T. *Capsaicin*-Evoked Release of Substance P From Primary Sensory Neurones. *Brain Research*, 170: 209-213, 1979.
 - 49) JANCOS´O-GA´BOR A, SZOLCSA´NYI J, JANCOS´N. Stimulation and Desensitization of the Hypothalamic Heat-Sensitive Structures by *Capsaicin* in Rats. *Journal Physiology*, 208: 449-459, 1970.
 - 50) JANCOS´O G, KIR´ALY E, JANCOS´O-G´ABOR A. Pharmacologically Induced Selective Degeneration of Chemosensitive Primary Sensory Neurones. *Nature*, 270: 741-743, 1977.
 - 51) DONNERER J, LEMBECK F. Heat Loss Reaction to *Capsaicin* Through a Peripheral Site of Action. *British Journal of Pharmacology*, 79: 719- 723, 1983
 - 52) FULLER RW, DIXON CM, BARNES PJ. Bronchoconstrictor Response to Inhaled *Capsaicin* in Humans. *Journal of Applied Physiology*, 58: 1080-1084, 1985.
 - 53) GAMSE R, HOLZER P, LEMBECK F. Decrease of Substance P in Primary Afferent Neurones and Impairment of Neurogenic Plasma Extravasation by *Capsaicin*. *British Journal of Pharmacology*, 68: 207-213, 1980.
 - 54) GREEN JF, SCHMIDT ND, SCHULTZ HD, ROBERTS AM, COLERIDGE HM, COLERIDGE JC. Pulmonary C-fibers Evoke Both Apnea and Tachypnea of Pulmonary Chemoreflex. *Journal of Applied Physiology*, 57: 562-567, 1984.
 - 55) JANCOS´G, SUCH G. Effects of *Capsaicin* Applied Perineurally to the Vagus Nerve on Cardiovascular and Respiratory Functions in the Cat. *The Journal of Physiology*, 341: 359-370, 1983.
 - 56) MAGGI CA, SANTICIOLI P, MELI A. The Effects of Topical *Capsaicin* on Rat Urinary Bladder Motility In vivo. *European Journal of Pharmacology*, 103: 41-50, 1984.
 - 57) TELLEZ GI, JAEGER L, DEAN CE, CORRIER DE, DELOACH JR, WILLIAMS JD, HARGIS BM. Effect of Prolonged Administration of Dietary *Capsaicin* on Salmonella Enteritidis Infection in Leghorn Chicks. *Avian Diseases*, 37: 143-148, 1993.
 - 58) ZHOU FW, LI YJ, DENG HW. Early and Delayed Protection by *Capsaicin* Against Reperfusion Injury in Rat Hearts. *Acta Pharmacologica Sinica*, 20: 912-916, 1999.
 - 59) TENG CH, KANG JY, WEE A, LEE KO. Protective Action of *capsaicin* and Chilli on Haemorrhagic Shock-induced Gastric Mucosal Injury in the Rat. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 13: 1007-1014, 1998.
 - 60) GEPETTI P, SANTICIOLI P, RUBINI I, SPILLANTINI MG, MAGGI CA, SICUTERI F. Thiorphan Increases *Capsaicin*-Evoked Release of Substance P from Slices of Dorsal Spinal Cord of Guinea Pig. *Neuroscience Letter*, 103: 69-73, 1989.
 - 61) POSPISILOVA E, PALECEK J. Post-Operative Pain Behavior in Rats is Reduced After Single High-Concentration *Capsaicin* Application. *Pain*, 125: 233-243, 2006.
 - 62) JANCOS´G, KIRA´LY E, JANCOS´-GA´BOR A. Direct Evidence For An Axonal Site

- of Action of *Capsaicin*. Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology, 313: 91-94, 1980.
- 63) JANCSON G, KIRALY E, SUCH G, JOO F, NAGY A. Neurotoxic Effect of *Capsaicin* In Mammals. Acta Physiologica Hungarica, 69: 295-313, 1987a.
 - 64) JANCSON G, SUCH G, RODEL C. A New Approach to Selective Regional Analgesia. Sicuteri, F. Trends Cluster Headache, page 59-67, 1987b.
 - 65) JANCSON G, LYNN B. Possible Use of *Capsaicin* in Pain. The Clinical Journal of Pain, 3: 123-126, 1987.
 - 66) CARPENTER SE, LYNN B. Vascular and Sensory Responses of Human Skin to Mild Injury After Topical Treatment with *Capsaicin*. British Journal of Pharmacology, 73: 755-758, 1981.
 - 67) McMAHON SB, LEWIN G, BLOOM SR. The Consequences of Longterm Topical *Capsaicin* Application in the Rat. Pain, 44: 301-310, 1991.
 - 68) BERNSTEIN JE, BICKERS DR, DAHL MV, ROSHAL JY. Treatment of Chronic Postherpetic Neuralgia with Topical *Capsaicin*. A preliminary Study. Journal of the American Academy of Dermatology, 17: 93-96, 1987.
 - 69) WESTERMAN RA, ROBERTS RG, KOTZMANN RR, WESTERMAN DA, DELANEY C, WIDDOP RE, CARTER BE. Effects of Topical *Capsaicin* on Normal Skin and Affected Dermatomes in Herpes Zoster. Clinical and Experimental Neurology, 25: 71-84, 1988.
 - 70) WIST E, RISBERG T. Topical *Capsaicin* in Treatment of Hyperalgesia, Allodynia and Dysesthetic Pain Caused by Malignant Tumour Infiltration of the Skin. Acta Oncologica, 32: 343, 1993.
 - 71) MATHIAS BJ, DILLINGHAM TR, ZEIGLER DN, CHANG AS, BELANDRES PV. Topical *Capsaicin* for Chronic Neck Pain. A pilot study. American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation, 74: 39-44, 1995.
 - 72) SICUTERI F, FUSCO BM, MARABINI S, CAMPAGNOLO V, MAGGI CA, GEPPETTI P, FANCIULLACCI M. Beneficial Effect of *Capsaicin* Application to the Nasal Mucosa in Cluster Headache. The Clinical Journal of Pain, 5: 49-53, 1989.
 - 73) FUSCO BM, MARABINI S, MAGGI CA, FIORE G, GEPPETTI P. Preventative Effect of Repeated Nasal Applications of *Capsaicin* in Cluster Headache. Pain, 59: 321-325, 1994.
 - 74) MARKS DR, RAPOPORT A, PADLA D, WEEKS R, ROSUM R, SHEFTELL F, ARROWSMITH F. A Double-blind Placebo-controlled Trial of Intranasal *Capsaicin* for Cluster Headache. Cephalgia, 13: 114-116, 1993.
 - 75) DUX M, SANNTHA P, JANCSON G. *Capsaicin*-sensitive Neurogenic Sensory Vasodilatation in the Dura Mater of the Rat. The Journal of physiology, 552: 859-867, 2003.
 - 76) KLUKOVITS A, GASPAR R, SANNTHA P, JANCSON G, FALKAY G. Role of *Capsaicin*-sensitive Nerve Ffibers in Uterine Contractility in the Rat. Biology of Reproduction, 70: 184-190, 2004.
 - 77) DUX M, SANN H, SCHEMANN M, JANCSON G. Changes in Fibre Populations of the Rat Hairy Skin Following Selective Chemodenervation by *Capsaicin*. Cell Tissue Research, 296: 471-477, 1999.
 - 78) ERDOST H, YAKIŞIK M, ÖZFİLİZ N, ZIK B, ÇAVUŞOĞLU İ, KAHVECİ Z, NOYAN S. Acı Kırmızı Biberli Rasyonla Beslenen Tavuk ve Horozlarda Hipofiz ve Epifiz Bezlerinin Yapısal Özellikleri U. Ü. Araştırma Fonu, Proje No:2000/12, BURSA
 - 79) DRAY A. Neuropharmacological mechanism of *Capsaicin* and Related Substances. Biochemical Pharmacology, 44: 611-615, 1992.

- 80) WINTER J, DRAY A, WOOD JN, YEATS JC, BEVAN S. Cellular Mechanism of Action of Resiniferatoxin: a Potent Sensory Neuron Excitotoxin. *Brain Research*, 520: 131-140, 1990.
- 81) COREY DP. New TRP Channels in Hearing and Mechanosensation. *Neuron*, 39: 585-588, 2003.
- 82) NAGY I, S'ANTHA P, JANC'S'O G, URB'AN L. The Role of the Vanilloid (*Capsaicin*) Receptor (TRPV1) in Physiology and Pathology. *European Journal of Pharmacology*, 500: 351-369, 2004.
- 83) McINTYRE P, McLATCHIE LM, CHAMBERS A, PHILLIPS E, CLARKE M, SAVIDGE J, TOMS C, PEACOCK M, SHAH K, WINTER J, WEERASAKERA N, WEBB M, RANG HP, BEVAN S & JAMNES IF, Pharmacological Differences Between the Human and Rat Vanilloid Receptor 1 (VR1), *British Journal of Pharmacology* 132: 1084±1094, 2001.
- 84) ZHANG Y, XIANG B, LI Y, WANG Y, WANG X, WANG Y-N, WU L, YU G. Expression and Characteristics of Vanilloid Receptor 1 in the Rabbit Submandibular Gland. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 345: 467-773, 2006.
- 85) ICHIKAWA H, GOUTY S, REGALIA J, HELKE CJ, SUGIMOTO T. Ca(2+)/calmodulin-dependent Protein Kinase II in the Rat Cranial Sensory Ganglia. *Brain Research*, 1005: 36-43, 2004.
- 86) AHLUWALIA J, URBA'N L, CAPOGNA M, BEVAN S, NAGY I. Cannabinoid 1 Receptors are Expressed in Nociceptive Primary Sensory Neurons. *Neuroscience*, 100: 685-688, 2000.
- 87) KILO S, HARDING-ROSEA C, HARGREAVESA KM, FLORES CM. Peripheral CGRP Release as a Marker for Neurogenic Inflammation: A Model System for The Study of Neuropeptide Secretion in Rat Paw Skin, *Pain* 73: 201-207, 1997.
- 88) VYKLUCKY L, LYFENKO A, KUFFLER DP, VLACHOVA V V. Vanilloid Receptor TRPV1 is not Activated by Vanilloids Applied Intracellularly. *Neuroreport*, 14: 1061-1065, 2003.
- 89) GUO A, VULCHANOVA L, WANG J, LI X, ELDE R. Immunocytochemical Localization of the Vanilloid Receptor 1 (VR1): Relationship to Neuropeptides, the P2X3 Purinoceptor and IB4 Binding Sites. *The European Journal of Neuroscience*, 11: 946-958, 1999.
- 90) MORENILLA-PALAO C, PLANELLS-CASES R, GARCIA-SANZ N, FERRER-MONTIEL A. Regulated Exocytosis Contributes to Protein Kinase C Potentiation of Vanilloid Receptor Activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 25665-25672, 2004.
- 91) KARAI L, RUSSELL JT, IADAROLA MJ, OLAH Z. Vanilloid Receptor 1 Regulates Multiple Calcium Compartments and Contributes to Ca²⁺-induced Ca²⁺-release in Sensory Neurons. *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 16377-16387, 2004.
- 92) MARSHALL IC, OWEN DE, CRIPPS TV, DAVIS JB, MCNULTY S, SMART D. Activation of Vanilloid Receptor 1 by Resiniferatoxin Mobilizes Calcium from Inositol 1, 4, 5-Trisphosphate-sensitive Stores. *British Journal of Pharmacology*, 138: 172-176, 2003.
- 93) GUNTHORPE MJ, HARRIES MH, PRINJHA RK, DAVIS JB, RANDALL A. Voltage- and Time-Dependent Properties of the Recombinant Rat Vanilloid Receptor (Rvr1). *Journal of Physiology*, 3: 747-759, 2000
- 94) CATERINA MJ, JULIUS D. Sense and Specificity: A Molecular Identity for Nociceptors. *Current Opinion in Neurobiology*, 9: 525-530, 1999.
- 95) NAGY I, RANG H. Noxious Heat Activates All *Capsaicin*-Sensitive and Also a Subpopulation of *Capsaicin*-insensitive Dorsal Root Ganglion Neurons. *Neuroscience*, 88: 995-997, 1999.

- 96) TOMINAGA M, CATERINA MJ, MALMBERG AB, ROSEN TA, GILBERT H, SKINNER K, RAUMANN BE, BASBAUM AI, JULIUS D. The Cloned *Capsaicin* Receptor Integrates Multiple Pain-producing Stimuli. *Neuron*, 21: 531-543, 1998.
- 97) DAVIS JB, GRAY J, GUNTHORPE MJ, HATCHER JP, DAVEY PT, OVEREND P, HARRIES MH, LATCHAM J, CLAPHAM C, ATKINSON K, HUGHES SA, RANCE K, GRAU E, HARPER AJ, PUGH PL, ROGERS DC, BINGHAM S, RANDALL A, SHEARDOWN SA. Vanilloid Receptor-1 is Essential for Inflammatory Thermal Hyperalgesia. *Nature*, 405: 183-187, 2000.
- 98) AVELINO A, DINIS P, CHARRUA A, NAGY I, YAQOOB M, CRUZ F. The Endogenous TRPV1 Ligand Anandamide Increases in the Rat Inflamed Urinary Bladder and may Contribute to Inflammatory Pain. *Social neuroscience*, 33: 603-8, 2003.
- 99) CODERRE TJ, GRIMES RW, MELZACK R. Autotomy Following Sciatic and Saphenous Nerve Sections: Sparing of the Medial Toes after Treatment of the Sciatic Nerve with *Capsaicin*. *Experimental Neurology*, 91: 355-365, 1986.
- 100) CHUANG HH, PRESCOTT ED, KONG H, SHIELDS S, JORDT SE, BASBAUM AI, CHAO MV, JULIUS D. Bradykinin and Nerve Growth Factor Release the *Capsaicin* Receptor from PtdIns(4,5)P₂-mediated Inhibition. *Nature*, 411: 957-962, 2001b.
- 101) LIANG YF, HAAKE B, REEH PW. Sustained Sensitization and Recruitment of Rat Cutaneous Nociceptors by Bradykinin and a Novel Theory of its Excitatory Action. *The Journal of physiology*, 523: 229-239, 2001.
- 102) PRESCOTT ED, JULIUS D. A Modular PIP₂ Binding Site As a Determinant of *Capsaicin* Receptor Sensitivity. *Science*, 300: 1284-1288, 2003.
- 103) SUGIURA T, TOMINAGA M, KATSUYA H, MIZUMURA K. Bradykinin Lowers the Threshold Temperature for Heat Activation of Vanilloid Receptor 1. *Journal of Neurophysiology*, 88: 544- 548, 2002.
- 104) TOMINAGA M, WADA M, MASU M. Potentiation of *Capsaicin* Receptor Activity by Metabotropic ATP Receptors as a Possible Mechanism for ATP-evoked Pain and Hyperalgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 6951-6956, 2001.
- 105) KWAK JY, JUNG JY, HWANG SW, LEE WT, OH U. A *Capsaicin* Receptor Antagonist, Capsazepine, Reduces Inflammation-Induced Hyperalgesic Responses in the Rat: Evidence for an Endogenous *Capsaicin*-like Substance. *Neuroscience*, 86: 619-626, 1998.
- 106) WALKER KM, URBA Ñ L, MEDHURST SJ, PATEL S, PANESAR M, FOX AJ, MCINTYRE P. The VR1 Antagonist Capsazepine Reverses Mechanical Hyperalgesia in Models of Inflammatory and Neuropathic Pain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 304: 56-62, 2003.
- 107) NATHAN JD, PENG RY, WANG Y, MCVEY DC, VIGNA SR, LDDLE RA. Primary Sensory Neurons: A Common Final Pathway for Inflammation in Experimental Pancreatitis in Rats. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283: 938-946, 2002.
- 108) KATO S, AIHARA E, NAKAMURA A, XIN H, MATSUI H, KOHAMA K, TAKEUCHI K. Expression of Vanilloid Receptors in Rat Gastric Epithelial Cells: Role in Cellular Protection. *Biochemical Pharmacology*, 66: 1115- 1121, 2003.
- 109) DVORAKOVA M, KUMMER W. Transient Expression of Vanilloid Receptor Subtype 1 in Rat Cardiomyocytes During Development. *Histochemistry and Cell Biology*, 116: 223-225, 2001.
- 110) OST D, ROSKAMS T, VAN DER AF, DE RIDDER D. Topography of the Vanilloid Receptor in the Human Bladder: More than Just The Nerve Fibers. *The Journal of Urology*, 168: 293-297, 2002.

- 111) VAN DER AF, ROSKAMS T, BLYWEERT W, DE RIDDER D. Interstitial Cells in the Human Prostate: A New Therapeutic Target? *Prostate*, 56: 250-255, 2003.
- 112) INOUE K, KOIZUMI S, FUZIWARA S, DENDA S, INOUE K, DENDA M. Functional Vanilloid Receptors in Cultured Normal Human Epidermal Keratinocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291: 124-129, 2002.
- 113) SOUTHALL MD, LI T, GHARIBOVA LS, PEI Y, NICOL GD, TRAVERS JB. Activation of Epidermal Vanilloid Receptor-1 Induces Release of Proinflammatory Mediators in Human Keratinocytes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 304: 217-222, 2003.
- 114) ANAVI-GOFFER S, COUTTS AA. Cellular Distribution of Vanilloid VR1 Receptor Immunoreactivity in the Guinea-pig Myenteric Plexus. *European Journal of Pharmacology*, 458: 61-71, 2003.
- 115) POONYACHOTI S, KULKARNI-NARLA A, BROWN DR. Chemical Coding of Neurons Expressing Delta- and Kappa-Opioid Receptor and Type I Vanilloid Receptor Immunoreactivities in the Porcine Ileum. *Cell and Tissue Research*, 307: 23-33, 2002.
- 116) WARD SM, BAYGUINOV J, WON KJ, GRUNDY D, BERTHOUD HR. Distribution of the Vanilloid Receptor (VR1) in the Gastrointestinal Tract. *The Journal of Comparative Neurology*, 465: 121-135, 2003.
- 117) SZOLCSA NYI J, MOZSIK G. Effects of *Capsaicin* on the Development of Gastric Mucosal Damage by Different Necrotizing Agents and of Gastric Cytoprotection by PGI₂ Atropine and Cimetidine on Rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 64: 287-291, 1984.
- 118) SAEKI T, OHNO T, KAMATA K, ARAI K, MIZUGUCHI S, KATORI M, SAIGENJI K, MAJIMA M. Mild Irritant Prevents Ethanol-Induced Gastric Mucosal Microcirculatory Disturbances Through Actions of Calcitonin Gene-Related Peptide and PGI₂ in Rats. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 286: 68-75, 2004.
- 119) HARADA N, OKAJIMA K, UCHIBA M, KATSURAGI T. Contribution of *Capsaicin*-Sensitive Sensory Neurons to Stress-Induced Increases in Gastric Tissue Levels of Prostaglandins in Rats. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 285: 1214-1224, 2003.
- 120) POTHOUKAKIS C, CASTAGLIUOLO I, LAMONT JT, JAFFER A, O'KEANE JC, SNIDER RM, LEEMAN SE. CP-96,345, A Substance P Antagonist, Inhibits Rat Intestinal Responses to Clostridium Difficile Toxin A But Not Cholera Toxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 947-951, 1994.
- 121) VALTSCHANOFF JG, RUSTIONI A, GUO A, HWANG SJ. Vanilloid Receptor VR1 is Both Presynaptic and Postsynaptic in the Superficial Laminae of the Rat Dorsal Horn. *The Journal of Comparative Neurology*, 436: 225-235, 2001.
- 122) MEZEY E, TOTH ZE, CORTRIGHT DN, ARZUBI MK, KRAUSE JE, ELDE R, GUO A, BLUMBERG PM, SZALLASI A. Distribution of mRNA for Vanilloid Receptor Subtype 1 (VR1), and VR1-like Immunoreactivity, in the Central Nervous System of the Rat and Human. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 3655-3660, 2000.
- 123) DE LAGO E, DE MIGUEL R, LASTRES-BECKER I, RAMOS JA, FERNANDEZ-RUIZ J. Involvement of Vanilloid-like Receptors in the Effects of Anandamide on Motor Behavior and Nigrostriatal Dopaminergic Activity: In vivo and In vitro Evidence. *Brain Research*, 1007: 152-159, 2004.
- 124) PARE M, ELDE R, MAZURKIEWICZ JE, SMITH AM, RICE FL. The Meissner Corpuscle Revised: A Multiafferented Mechanoreceptor with Nociceptor Immunochemical Properties. *The Journal of Neuroscience* 21: 7236-7246, 2001.

- 125) MAGGI CA, LIPPE IT, GIULIANI S, ABELLI L, SOMMA V, GEPPETTI P, JANCSO´ G, SANTICIOLI P, MELI A. Topical Versus Systemic *Capsaicin* Desensitization: Specific and Unspecific Effects as Indicated by Modification or Reflex Micturition in Rats. *Neuroscience* 31: 745-756, 1989.
- 126) QUARTARA L, MAGGI CA. The Tachykinin NK1 Receptor: Part II. Distribution and Pathophysiological roles. *Neuropeptides*, 32: 1-49, 1998.
- 127) BIRDER LA, KANAI AJ, DE GROAT WC, KISS S, NEALEN ML, BURKE NE, DINELEY KE, WATKINS S, REYNOLDS IJ, CATERINA MJ. Vanilloid Receptor Expression Suggests a Sensory Role for Urinary Bladder Epithelial Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 13396-13401, 2001.
- 128) FERGUSON DR, KENNEDY I, BURTON TJ. ATP is Released from Rabbit Urinary Bladder Epithelial Cells by Hydrostatic Pressure Changes—A Possible Sensory Mechanism? *The Journal of physiology*, 505 (Pt. 2): 503-511, 1997.
- 129) GULBENKIAN S, BARROSO CP, CUNHA E SA, EDVINSSON L. The Peptidergic Innervation of Human Coronary and Cerebral Vessels. *Italian Journal of Anatomy and Embryology*, 100 (Suppl 1): 317-327, 1995.
- 130) HUANG Y, WANG DH. Role of Renin–Angiotensin–Aldosterone System in Salt-Sensitive Hypertension Induced by Sensory Denervation. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 281: H2143-H2149, 2001.
- 131) WANG HD. The Vanilloid Receptor and Hypertension. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(3): 286-294, 2005.
- 132) BURDEN HW. Ovarian innervation. *The Vertebrate Ovary. Comparative Biology and Evolution* (Edited by: Jones RE). New York: Plenum Press, page 616-638, 1978.
- 133) PATAK EN, PENNEFATHER JN, STORY ME. Effects of Tachykinins on Uterine Smooth Muscle. *Clinical Experimental Pharmacology Reviews*, 27: 922-927, 2000.
- 134) TRAURIG HH, PAPKA RE, RUSH ME. Effects of *Capsaicin* on Reproductive Function in the Female Rat: Role of Peptid-Containing Primary Afferent Nerves Innervating the Uterine Cervix in the Neuroendocrine Copulatory Response. *Cell Tissue Research*, 253:273-281, 1988.
- 135) TRAURIG HH, SARIA A, LEMBECK F. Substance p in Primary Afferent Neurons of the Female Rat Reproductive System. *Naunyn Schmiedeberg's Archives Pharmacology*, 326: 343-346, 1984B
- 136) BARAD DH, RYAN KJ, ELKIND-HIRSCH K, MAKRIS A. Immunoreactive substance P in the human ovary. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 159(1): 242-6, 1988.
- 137) DEES WL, AHMED CE, OJEDA SR. Substance P and Vasoactive Intestinal Peptide Containing fibers Reach The Ovary By Independent Routes. *Endocrinology*, 119: 638-641, 1986.
- 138) OJEDA SR, COSTA ME, KATZ KH, HERSH LB. Evidence for the Existence of Substance P in The Pre-Pubertal Rat Ovary. *Biology of Reproduction*, 33: 286-295, 1985.
- 139) COTTON J, TRAURIG H, PAPKA RE. Substance P and Vasoactive Intestinal Polypeptide-Immunoreactive Nerves in the Female Reproductive System. *Anatomical Record*, 205: 38-39, 1983.
- 140) GU J, HUANG W, ISLAM K, MCGREGOR G, TERENGI G, MORRISON J, BLOOM S, POLAK J. Substance P-containing Nerves in the Mammalian Genitalia. In: Skrabanek P, Powell D (eds) *Substance P*. Bole Press Ltd, Dublin, page 263-264, 1983.

- 141) MORAN C, MORALES L, RAZO SR, APOLONIO J, QUIROZ U, CHAVIRA R, DOMINGUEZ R. Effect of Sensorial Denervation Induced by *Capsaicin* Injection at Birth or on Day Three of Life, on Puberty, Induced Ovulation And Pregnancy. *Life Science*, 73: 2113-2125, 2003.
- 142) NANCE DM, KING TR, NANCE PW. Neuroendocrine and Behavioral Effects of Intrathecal *Capsaicin* in Adult Female Rats. *Brain Research Bulletin*, 18: 109-114, 1987.
- 143) SMITH MS, FREEMAN ME, NEILL JD. The Control of Progesterone Secretion During the Cycle and Early Pseudopregnancy. *Endocrinology*, 96: 219-226, 1975.
- 144) OLIVEROS L, FORNERIS M, AGUADO L. Secretion from Neuropeptide-Treated Splenocytes Modifies Ovarian Steroidogenesis. *Medicina*, 61: 35-39, 2001.
- 145) OLSON L, JONES B CH, JABLONKA-SHARIFF A. Nitric Oxide Decreases Estradiol Synthesis of Rats Luteinized Ovarian Cells: Possible Role for Nitric Oxide in Functional Luteal Regression. *Endocrinology*, 137: 3531-3536, 1996.
- 146) SOSA ZY, CASAIS M, RASTRILLA AM, AGUADO LI. Adrenergic Influences on Coeliac Ganglion Affect the Release of Progesterone from Cycling Ovaries. Characterization of an In vitro system. *The Journal of Endocrinology*, 166: 307-318, 2000.
- 147) DOMINQUEZ R, RIBONI L. Failure of Ovulation in Autographed Ovary of the Hemispayed Rat, *Neuroendocrinology*, 7: 164-170, 1971.
- 148) TRUJILLO A, MORALES L, DOMINQUEZ R. Effects of *capsaicin* administration into the bursa ovarica in the regulation of ovarion functions. The Third five Annual Meeting of Society for the Study of Reproduction. Baltimore, USA, July 28-31, 2002. *Biology of Reproduction*, 66(272): 207, 2002.
- 149) TRAURIG HH, SARIA A, LEMBECK F. The Effects of Neonatal *Capsaicin* Treatment on Growth And Subsequent Reproductive Function In The Rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 327: 254-259, 1984(A).
- 150) CROSSMON C. A modification of Mallory's Connective Tissue Stain with a Discussion of the Principles Involved, *The Anatomical Record*, 69:33-38, 1937.
- 151) ADAMS EJ, GREN JA, CLARK AH, YOUNGSON JH. Comparison of Different Scoring Systems for Immunohistochemical Staining. *Journal of Clinical Pathology*, 52: 75-77, 1999
- 152) SÜMBÜLOĞLU K, SÜMBÜLOĞLU U. *Biyoistatistik*. Özdemir Yayıncılık Ankara 1994.
- 153) SRINIVASAN MR. SATYANARAYONA MN., Influence of *Capsaicin*, Curcumin and Ferulic Acid in Rats Fed High Fat Diets, *Journal of Bioscience*, 12(2): 143-152, 1987.
- 154) FALCHI M, FERRARA F, GHRIB C, BIB B. Intracerebroventricular Capsacin and Food Intake in the Rat. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, 27(2): 61-67, 2001.
- 155) AKAGI A, SANO N, UEHARA H, MINAMI T, OTSUKA H, IZUMI K. Non-Carcinogenicity of *Capsaicinoids* in B6C3F₁ Mice. *Food and Chemical Toxicology*, 36(12): 1065-1071, 1998.
- 156) KAWABATA F, INOUE N, YAZAWA S, KAWADA T, INOUE K, FUSHIKI T. Effects of CH-19 Sweet, a Non-Pungent Cultivar of Red Pepper, in Decreasing the Body Weight and Suppressing Body Fat Accumulation by Sympathetic Nerve Activation in Humans. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70: 2824-2835, 2006.
- 157) YOSHIOKA M, ST-PIERRE S, DRAPEAU V. Effects of Red Pepper on Appetite and Energy Intake. *The British Journal of Nutrition*, 82: 115-123, 1999.
- 158) LEJEUNE MP, KOVACS EM, WESTERTERP-PLANTENGA MS. Effect of *Capsaicin* on Substrate Oxidation and Weight Maintenance After Modest Body-Weight Loss in Human Subjects. *The British Journal of Nutrition*, 90(3): 651-59, 2003.

- 159) NOPANITAYA W. Long Term Effects of *Capsaicin* of Fat Absorption and the Growth of the Rat, *Growth*, 37: 269-279, 1973.
- 160) ERDOST H, ÖZFİLİZ N, ÖZGÜDEN C, GÜNEŞ N, ÖNEN Ş, İLHAN T, ÖZER A. Ekspresyon of a *Capsaicin* Receptor (VR1) in the Testis of Mice After an Application of *Capsaicin*, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51: 649-653, 2007.
- 161) CHOW J, NORGAN M, ZHANG J, CHAI J. TRPV6 Mediates *Capsaicin*-Induced Apoptosis in Gastric Cancer Cells-Mechanisms Behind a Possible New “hot” Cancer Treatment, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1773(4): 565-76, 2007.
- 162) GIORDANO A, MORRONI M, CARLE F, GESUITA R, MARCHESI GF, CINTI S. Sensory Nerves Affect the Recruitment and Differentiation of Rat Periovarian Brown Adipocytes during Cold Acclimation, *Journal of Cell Science*, 111: 2587-2594, 1998.
- 163) MARIA-SIMONETTA FP, TADDEI A, BIZZOCO E, LAZZERI M, VANNUCCHI MG, BECHI P. Distribution of the Vanilloid (*Capsaicin*) Receptor Type 1 in the Human Stomach, *Histochemistry and Cell Biology*, 124: 61-68, 2005.
- 164) ZIK B, ÖZGÜDEN C, TÜTÜNCÜ Ş, İLHAN T. Expression of Vanilloid Receptor-1 in the Duodenum of the *Capsaicin* Treated Rat, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51: 149-153, 2007.
- 165) LAZZERIA M, VANNUCCIC MG, ZARDOC C, SPINELLIP M, BENEFORTIA P, TURINIA D, FAUSSONE-PELLEGRINIC MS. Immunohistochemical Evidence of Vanilloid Receptor 1 in Normal Human Urinary Bladder, *European Urology*, 46: 792-798, 2004.
- 166) GHATEI MA, GU J, MULDERY PK, BLANK MA, ALLEN JM, MORRISON JFB, POLAK JM, BLOOM SR. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the Female Rat Urogenital Tract, *Peptides*, 6: 809-816, 1985.
- 167) WALCZEWSKA A, SZKUDLAREK U, JAKUBOWSKA-NAZIEMBLO B, DZIEDZIC B, WLADYSLAW Z. Traczyk Increase of Gonadotropin-Releasing Hormone Concentration in Pituitary Portal Blood after Substance P Administration in Male Rats. *Neuroendocrinology* 67: 219-227, 1998
- 168) DEES WL, KOZLOWSKI GP, DEY R, OJEDA SR. Evidence for the Existence of Substance P in the Prepubertal Rat Ovary. II. Immunocytochemical Localization. *Biology of reproduction*, 33: 471-476, 1985.
- 169) HOLZER P, GUTH PH. Neuropeptide Control of Rat Gastric Mucosal Blood Flow. Increase by Calcitonin Gene-Related Peptide and Vasoactive Intestinal Polypeptide, but not Substance P and Neurokinin A. *Circulation Research*, 68: 100-105, 1991.
- 170) PINTADO CO, PINTO FM, PENNEFATHER JN, HIDALGO A, BAAMONDE A, SANCHEZ T, CANDENAS ML. A Role for Tachykinins in Female Mouse and Rat Reproductive Function. *Biology of reproduction*, 69: 940-946, 2003.
- 171) YACOBI K, WOJTOWICZ A, TSAFRIRI A, GROSS A. Gonadotropin Enhance Caspase-3 and -7 Activity and Apoptosis in the theca-Interstitial Cells of Rat preovulatory Follicles in Culture. *Endocrinology*, 145(4): 1943-1951, 2004.

TEŞEKKÜR

Tez konumun planlanmasında ve gerçekleştirilmesinde değerli zamanlarını ayırarak bana yardımcı olan çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Nesrin ÖZFİLİZ'e sonsuz teőekkürlerimi sunuyorum. Tezimin hazırlanması sırasında bana her türlü yardımlarından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız ve Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Aytekin ÖZER'e, Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Ali BAHADIR'a, Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Hatice ERDOST'a ve Sayın Doç. Dr. Berrin ZİK'a çok teşekkür ediyorum. Ayrıca Araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Cansel G. ÖZGÜDEN AKKOÇ'a ve Doktora Öğrencisi Tuncay İLHAN'a ve Laborantımız Nesrin SALÇA'ya da teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren sevgili aileme ve doktora eęitimim süresince bana destek olan sevgili eřim Hakan TÖTÖNCÖ ve oęlum Ozan TÖTÖNCÖ'ye sonsuz teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Kütahya'nın Gediz ilçesinde doğdum. İlkokulu Uşak Kurtuluş ilkokulu'nda, ortaokulu Halit Ziya Uşaklıgil Ortaokulu'nda ve liseyi Uşak İzzettin Çalışlar Lisesinde tamaladım. 1996 yılında kazandığım Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2001 yılında mezun oldum. 2003 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında doktora eğitimime devam ediyorum. Evliyim ve bir erkek çocuk annesiyim.