



**OVARYUM İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA
KARŞI BOR BİLEŞİĞİ VE ARI ÜRÜNÜN KOMBİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Shukrı AHMED JAMA

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalı
Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU
2020
Her Hakkı Saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**OVARYUM İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA KARŞI BOR
BİLEŞİĞİ VE ARI ÜRÜNÜN KOMBİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Shukrı AHMED JAMA

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Genel Biyoloji Bilim Dalı**

**ERZURUM
2020**

Her hakkı saklıdır



TEZ ONAY FORMU

**OVARYUM İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA KARŞI BOR BİLEŞİĞİ VE
ARI ÜRÜNÜN KOMBİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU danışmanlığında, Shukri AHMED JAMA tarafından hazırlanan bu çalışma, 31/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

İmza :

Üye : Prof.Dr. Turgay ŞİŞMAN

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Elanur KARATAŞ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 07.02./2020 tarih ve 06.../...67... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OVARYUM İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA KARŞI BOR BİLEŞİĞİ VE ARI ÜRÜNÜN KOMBİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Shukrı AHMED JAMA

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

Yumurtalık iskemi-reperfüzyon hasarı yaygın bir jinekolojik sorundur ve aynı zamanda kadınlarda kısırlığın önemli nedenlerinden birisidir. Oksidatif stres, iskemi ve reperfüzyondan sonra yumurtalık hasarına büyük ölçüde katkıda bulunur. Antioksidanlar oksidatif stresi modüle ederek bu hasarları azaltabilirler. İskemi-reperfüzyon hasarlarına karşı antioksidan ajanların etkinliğini değerlendirmek için pekçok araştırma yapılmıştır. Bununla birlikte, yumurtalık iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde propolis ve borik asidin kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Mevcut araştırma, propolis ve borik asidin yumurtalık iskemi-reperfüzyon hasarlarına karşı etki potansiyellerini ortaya koymayı hedeflemiştir. Dişi sıçanlar rastgele gruplara ayrılmıştır; kontrol grubu, iskemi-reperfüzyon grubu (3 saat), iskemi-reperfüzyondan önce tek başına propolis (100 mg/kg) ve borik asit (7 mg/kg) alan grup ve bu işlemlerden bir saat önce propolis ve borik asidi birlikte alan grup. Deneysel prosedürlerden sonra sıçanların yumurtalıkları eksize edilmiş ve doku örnekleri biyokimyasal analiz, immünohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler için değerlendirilmiştir. Yumurtalık dokusunda propolis ve borik asit tedavisi ile MPO, IL-6, TNF- α , MDA seviyeleri ve ayrıca 8-OHdG oluşumları ile Caspase-3 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Diğer taraftan, iskemi-reperfüzyon grubunda bu tedaviden sonra SOD ve KAT enzimlerinin aktiviteleri ve ayrıca GSH seviyeleri önemli ölçüde artmıştır. Üstelik propolis ve borik asit birlikte anti-apoptotik, anti-enflamatuar ve anti-oksidan bir ajan olarak etki etmek suretiyle iskemi-reperfüzyonun neden olduğu yumurtalık hasarları üzerinde belirgin iyileştirici etkiler sunmuşlardır. Sonuç olarak, yumurtalık iskemi-reperfüzyon hasarlarına karşı propolis ve borik asit tek başlarına ve özellikle de kombinasyon halinde terapötik ajanlar olarak teklif edilebilirler.

2020, 101 sayfa

Anahtar Kelimeler: İskemi-reperfüzyon, Borik asit, Propolis, oksidatif stres-antioksidan, apoptoz, inflamasyon, patoloji.

ABSTRACT

MS. Thesis

THE EVALUATION OF THE COMBINE EFFECTS OF BORON COMPOUND AND BEE PRODUCT AGAINST OVARIAN ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

Shukrî AHMED JAMA

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
General Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

Ovarian ischemia-reperfusion injury is a common gynaecological problem and is also one of the important causes of infertility in women. Oxidative stress contributes greatly to ovary injury after ischemia and reperfusion. Antioxidants may alleviate these damages by modulating oxidative stress. Many search are performed for evaluating the efficiency of antioxidant agents against ischemia-reperfusion injury. However, there is no any study for use of propolis and boric acid on ovary ischemia-reperfusion injury until today. The present investigation aimed to reveal the impact potentials of the propolis and boric acid against ovary ischemia-reperfusion damages. The female rats were randomly divided into groups; control group, ischemia-reperfusion group (3 hour), group receiving propolis (100 mg/kg) and boric acid (7 mg/kg) alone before ischemia-reperfusion and group receiving propolis and boric acid together one hour before this procedures. The rats' ovaries were excised after experimental procedures, and the tissue samples were evaluated for biochemical analysis, immunohistochemical and histopathological examinations. It was observed that MPO, IL-6, TNF- α , MDA levels and also 8-OHdG formations with Caspase-3 expression significantly were decreased in ovary tissue by treatment of propolis and boric acid. Whereas, the activities of SOD and CAT enzymes and also GSH levels were significantly increased after by this therapy in ischemia-reperfusion group. Moreover, propolis and boric acid together presented pronounced ameliorative effects on ovarian damages caused by ischemia-reperfusion by acting as an antiapoptotic, anti-inflammatory and antioxidant agent. As conclusion, propolis and boric acid alone and particularly in combination could be suggest as therapeutic agents against ovary ischemia-reperfusion damages.

2020, 101 pages

Keywords: Ischemia-reperfusion, Boric acid, Propolis, oxidative stress-antioxidant, apoptosis, inflammation, pathology.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi ve Histolojisi Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmalarım boyunca ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım bilimsel katkılarıyla bana yardımcı olan tez danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU'na en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarımda gerekli tüm tavsiye ve yönlendirmeleri yapan Sayın Doç. Dr. Serkan YILDIRIM ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Kübra KOÇ'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Shukri Ahmed JAMA

Ocak, 2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ovaryum.....	1
1.1.1. Gonadların embriyonal gelişimi.....	2
1.1.2. Ovaryumun anatomisi	5
1.1.3. Ovaryumun histolojisi	6
1.1.4. Ovaryumun fizyolojisi.....	7
1.1.5. Ovaryumun folikülleri.....	9
1.1.6. Ovulasyon.....	13
1.2. İnfertilitenin Tanımı	16
1.2.1. Fertiliteyi etkileyen faktörler.....	17
1.2.2. Erkek infertilitesi.....	20
1.2.3. Kadın infertilitesi.....	20
1.3. Adneksiyal Torsiyon	21
1.3.1. Adneksiyal torsiyonun risk faktörleri.....	22
1.3.2. Ovaryum torsiyonu.....	22
1.4. İskemi ve Reperfüzyon.....	23
1.4.1. İskemi ve reperfüzyon'un mekanizmaları	25
1.4.1.a. Serbest radikaller/oksidatif stres oluşumu ve antioksidanlar	26
1.4.1.b. İnflamasyon	31
1.5. Bor	36
1.6. Propolis.....	39
2. KAYNAK ÖZETLERİ	46
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	50

3.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer.....	50
3.2. Denekler ve Çalışma Protokolü.....	50
3.3. Kullanılan Biyokimyasal Maddeler.....	50
3.4. Kullanılan Aletler ve Cihazlar.....	51
3.5. Kullanılan Boya ve Çözeltilerin Hazırlanması.....	51
3.6. Çalışmanın Deney Grupları.....	53
3.7. Cerrahi İşlemler.....	53
3.8. Histopatolojik Yöntemler.....	54
3.8.1. Mikroskopik işlemler.....	54
3.8.2. Doku takip işlemleri.....	54
3.8.3. H&E boyama metodu.....	55
3.9. Biyokimyasal Analizler.....	56
3.10. İmmünohistokimyasal Analiz.....	57
3.10.1. Kaspaz 3, Tnf- α ve 8-OHdG immünohistokimyasal boyama metodları.....	58
3.11. İstatistiksel Analiz.....	59
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	60
4.1. Biyokimyasal Parametreler.....	60
4.2. Patolojik Bulgular.....	62
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	67
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	77
KAYNAKLAR.....	84
EKLER.....	101
EK 1.....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	102

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde konsantrasyon
°C	Santigrat derece
μM	Mikromolar
μmol	Mikromol
cc	Santimetreküp (= mililitre)
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
lt	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
pH	Potansiyel hidrojen
rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
sn	Saniye
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
p<	Anlamlılık düzeyi veya kritik <i>p</i> -değeri

Kısaltmalar

8-OHdG	8-hidroksil-2'-deoksiguanosin
AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
B ₂ O ₃	Borik Asit
CH ₂ O	Formalin
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DNA	Deoksiribonükleik asit
GSH	Glutatyon
H&E	Hematoksilen&Eozin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
IL	İnterlökin
İ/R	İskemi/Reperfüzyon
KAT	Katalaz
LPO	Lipid peroksit
MDA	Malondialdehit
MPO	Miyeloperoksidaz
Tnf- α	Tümör nekrozis faktör- α
PBS	Fosfat tampon solüsyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Ovaryumun genel görünümü	1
Şekil 1.2. Ovaryumun embriyonal gelişim şeması	3
Şekil 1.3. Testisin embriyonal gelişim şeması.....	4
Şekil 1.4. Ovaryumun anatomik yapısı.....	6
Şekil 1.5. Ovaryumdan östrojen ve progesteron hormonlarının salınımında feed back mekanizması	8
Şekil 1.6. Ovaryumdaki foliküllerin gelişme basamakları.....	10
Şekil 1.7. Ovaryumdan ovulasyonla yumurtanın bırakılması.....	14
Şekil 1.8. Korpus luteum oluşumu.....	15
Şekil 1.9. Alkol sigara ve uyuşturucu madde kullanımı	18
Şekil 1.10. Polikistik over sendromu	21
Şekil 1.11. Yumurtalık torsiyonu.....	23
Şekil 1.12. Dokularda iskemi oluşumu.....	24
Şekil 1.13. Oksidatif stres oluşumu.....	27
Şekil 1.14. Antioksidanlar ve serbest radikallerin atom yapısı	29
Şekil 1.15. Bor elementinin atom sayısı	36
Şekil 1.16. Türkiye’deki Etibank’ın Bandırma tesisleri.....	38
Şekil 1.17. Borik asit.....	38
Şekil 1.18. Propolisin genel görünümü	40
Şekil 1.19. Propolis sabunu	42
Şekil 1.20. Propolisin ilaç sanayinde kullanım.....	43
Şekil 4.1. Kontrol grubu, ovaryum normal histolojik yapısı	64
Şekil 4.2. Ovaryum iskemi/reperfüzyon grubu,	64
Şekil 4.3. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit grubu,	65
Şekil 4.4. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + propolis grubu,	65
Şekil 4.5. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu,	66
Şekil 4.6. Ovaryum kontrol grubu, TNF- α	68
Şekil 4.7. Ovaryumiskemi/reperfüzyon grubu, TNF- α	68
Şekil 4.8. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, TNF- α	69

Şekil 4.9. Ovaryumiskemi/reperfüzyon + propolis grubu, TNF- α	69
Şekil 4.10. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, TNF- α	70
Şekil 4.11. Ovaryum kontrol grubu, Kaspaz 3.	71
Şekil 4.12. Ovaryum iskemi/reperfüzyon grubu, Kaspaz 3.	71
Şekil 4.13. Ovaryumiskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, Kaspaz 3.	72
Şekil 4.14. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + propolis grubu, Kaspaz 3.	72
Şekil 4.15. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, Kaspaz 3.	73
Şekil 4.16. Ovaryum kontrol grubu, 8-OHdG.	74
Şekil 4.17. Ovaryumiskemi/reperfüzyon grubu, 8-OHdG.	74
Şekil 4.18. Ovaryumiskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, 8-OHdG.	75
Şekil 4.19. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + propolis grubu, 8-OHdG.	75
Şekil 4.20. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, 8-OHdG.	76

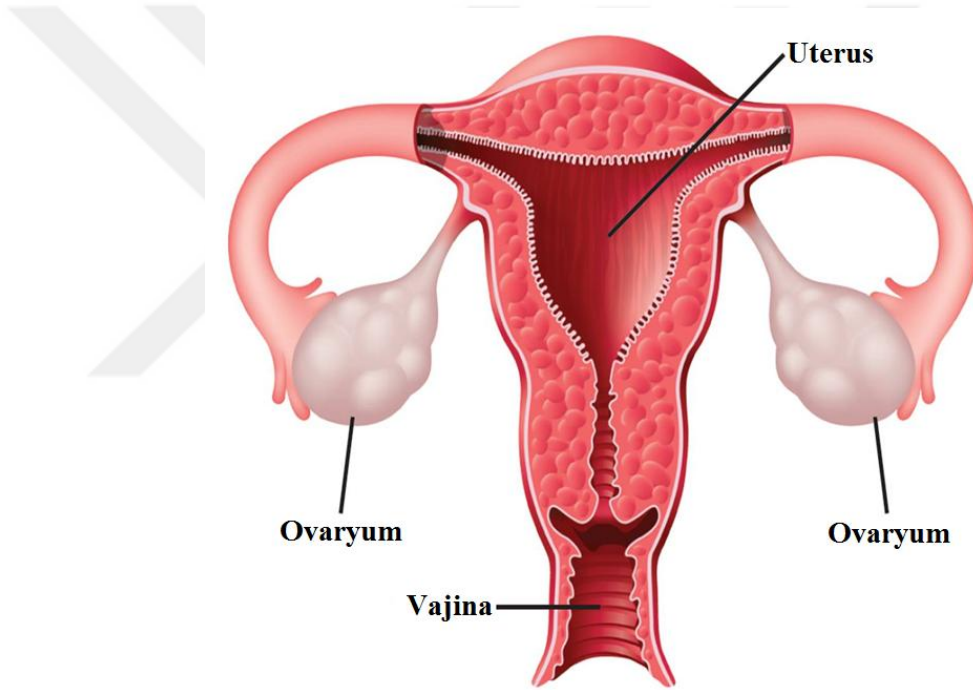
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar	51
Çizelge 4.1. Ovaryum iskemi/reperfüzyonunda borik asit ve propolisin SOD, KAT ve GSH aktivitelerine etkisi	61
Çizelge 4.2. Ovaryum iskemi/reperfüzyonunda borik asit ve propolisin MPO, LPO, IL-6 seviyelerine etkisi	62
Çizelge 4.3. Ovaryumda patoloji yoğunluğu	66
Çizelge 4.4. Ovaryumda TNF- α yoğunluğu.	70
Çizelge 4.5. Ovaryumda Kaspaz 3 yoğunluğu.....	73
Çizelge 4.6. Ovaryumda 8-OHdG yoğunluğu.	76

1. GİRİŞ

1.1. Ovaryum

Dişi üreme sisteminin bir parçası olan ovaryum, pelvis boşluğunun yan duvarlarında sağ ve solda olmak üzere iki adettir. Büyüklüğü ve biçimiyle bir bademe benzer (Roach and Andreotti 2017) (Şekil 1.1).



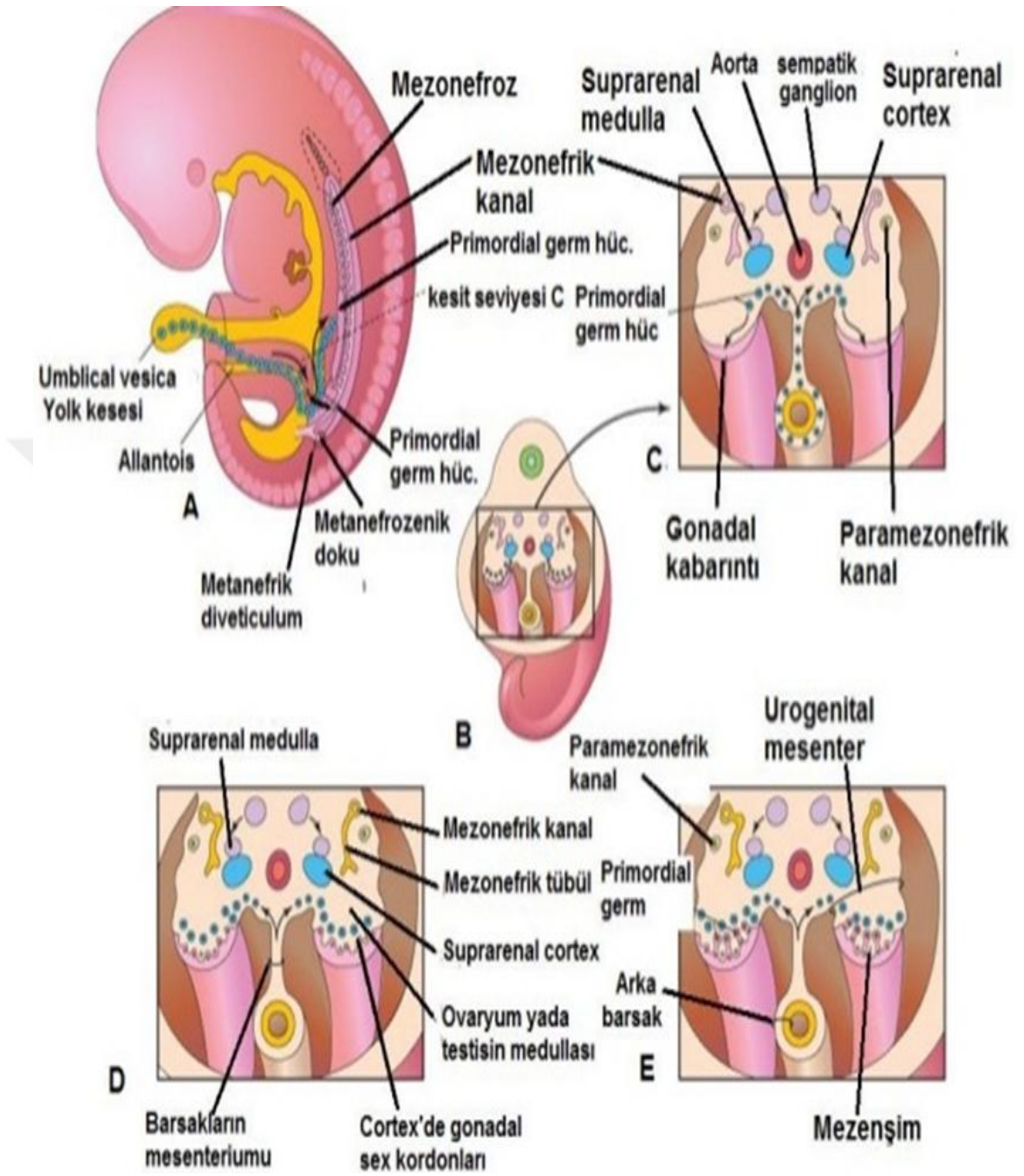
Şekil 1.1. Ovaryumun genel görünümü (Anonim 2017)

Birbirleriyle ilişkili olarak çalışan ovaryumların iki önemli fonksiyonları vardır; Dişi üreme hücrelerini (oogenesis) ve steroid hormonları bu eşem organları üretir ve salgılar (steroidogenesis). Ovaryumlardan salgılanan steroidler, sekonder eşey organları ve meme bezlerinin gelişme ve büyümesini aynı zamanda da eşey hücrelerinin gelişip olgunlaşmasını kontrol eder. Ovaryum hormonlarından östrojen ve progesteron genital döngünün düzenlenmesinde ve kadın genital sisteminin gelişmesi üzerinde etkili olan önemli hormonlardır (Hamilton *et al.* 2016).

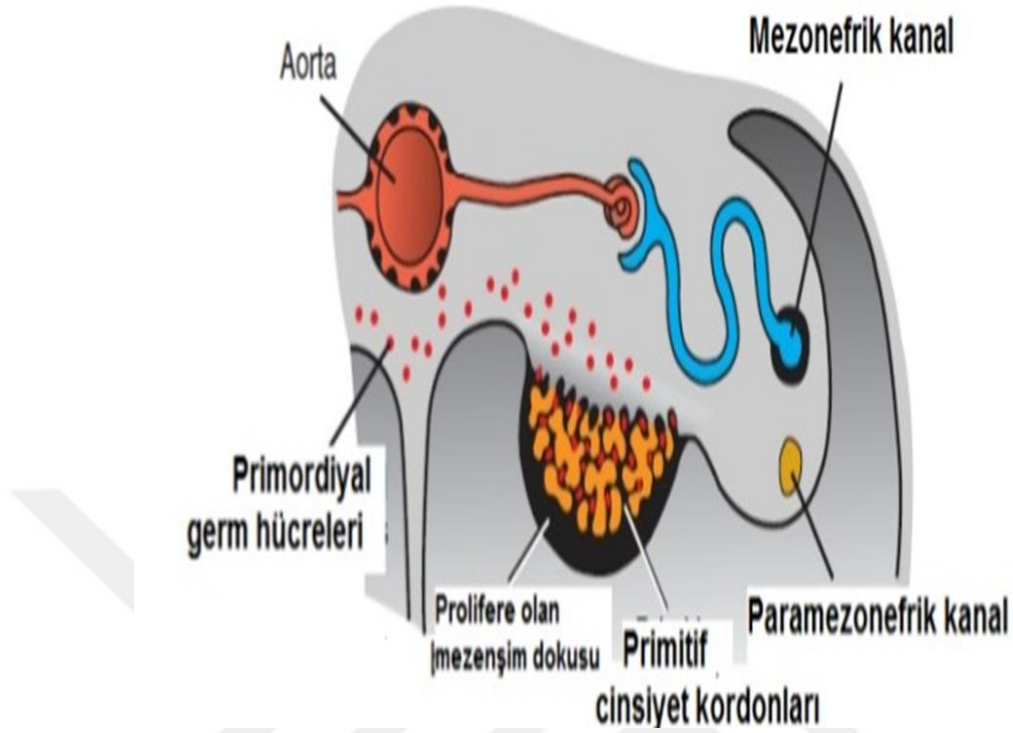
1.1.1. Gonadların embriyonal gelişimi

Genetik açıdan embriyonun cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen embriyonal gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkeğe ve dişiye ait morfolojik özelliklere sahip değildirler. Gonadların gelişimine bakıldığında başlangıçta bir çift uzunlamasına genital veya gonadal kabartı şeklinde ortaya çıktıkları görülür. Bu organlar epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşurlar. Embriyonal gelişimin 6. haftasına kadar genital kabartılar içinde germ hücreleri bulunmaz. Gelişimin 4. haftasında ise ilk eşey hücreleri allantoise yakın duvarında vitellus kesesi endoderm hücreleri arasında görülmeye başlarlar. Bu hücreler ameboid hareketlerle ilkel bağırsak mezenterinin dorsali boyunca ilerler ve 5. haftanın başında ilkel gonadlara ulaşarak genital kabartıları 6. haftada işgal ettikleri gözlenir (Sandle 2005; Poljicanin *et al.* 2015). Bu hücrelerin göçünü, yeni oluşan gonaddan sekrete edilen kemotaktik faktörlerin etkileyebilecekleri düşünülür. Yaklaşık bin ve iki bin kadar hücre genital kabartıya ulaşarak hücrelerin göç davranışları son bulur (Schmidt *et al.* 2005; Carlsons 2009).

Genital kabartıya söz konusu hücreler ulaşamazsa gonadlar gelişimini tam olarak tamamlayamaz. Ovaryum ve testise farklılaşan gonadların primordiyal germ hücreleri üzerinde indükleyici etkileri vardır. Primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında genital kabartı epiteli proliferer olur ve primordiyal germ hücreleri epitel hücreleri altlarındaki mezenşimin içine ilerler. Bu hücreler burada belirgin bir düzeni olmayan primitif cinsiyet kordonları denilen kordonları oluştururlar. Bu kordonlar hem dişi hem de erkek embriyolarda yüzey epiteline bağlanır. Bu aşama erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesinin mümkün olmadığı bir evredir. Bu evredeki gonadlar farklılaşmamış gonadlar olarak tarif edilir (Biaison-Lauber 2017) (Şekil 1.2 ve Şekil 1.3).



Şekil 1.2. Ovaryumun embriyonal gelişim şeması (Anonim 2019a)



Şekil 1.3. Testisin embriyonal gelişim şeması (Anonim 2019b)

Ovaryum folikülünün folikül epitel hücreleri tarafından oluşturulması aşamasında üç bölgenin aktif olduğu düşünülmektedir (Berkovitz *et al.* 1991):

1. Sekonder cinsiyet kordonları (Sölom epitelinden)
2. Primitif cinsiyet kordonları
3. Yukarıdaki iki bölgeden

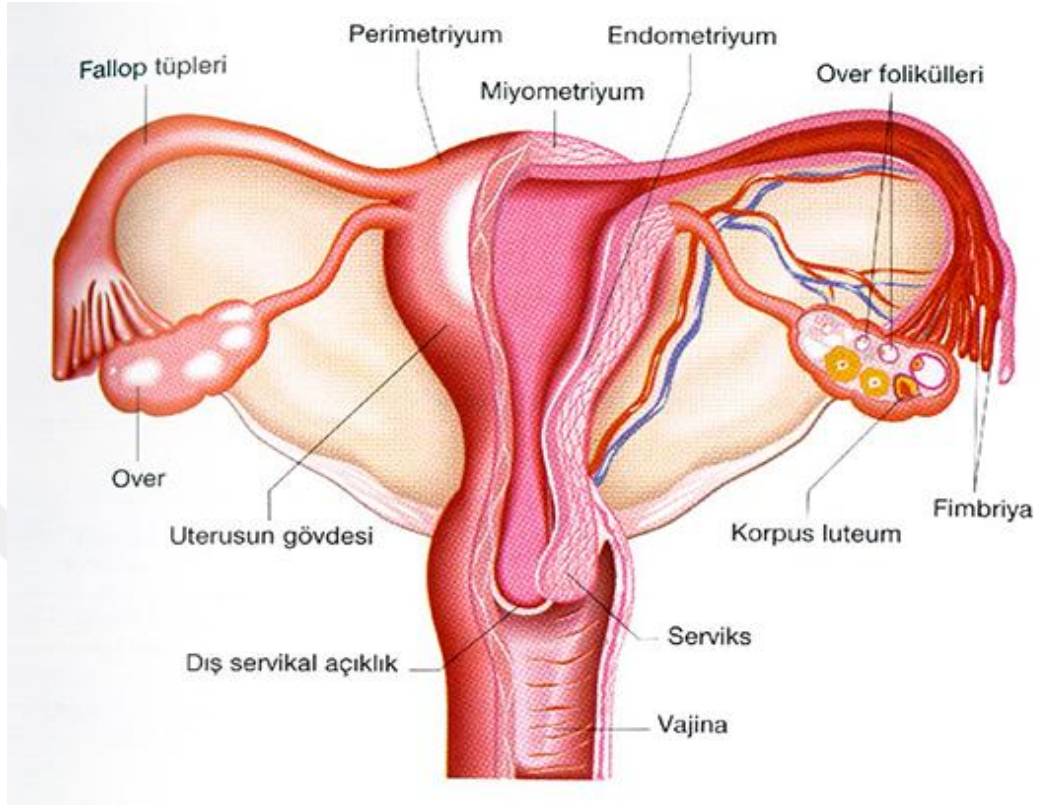
Ancak foliküler epitel içindeki iki belirgin hücre tipinin varlığı (açık ve koyu) son olasılığın daha kabul edilebilir olduğu düşüncesini uyandırmaktadır. Ovaryumlar histolojik incelemelerde 10. haftaya kadar ayırt edilemezler. Bu evrede primer germ hücreleri oogonia olarak adlandırılır ve 4. ayın başına gelene kadar mitozla çoğalmaya devam ederler. Primer cinsiyet kordonları erkeklerde belirginken dişi embriyolarda çok belirgin değildir. Bu kordonlar gonadların medullasına kadar uzanarak rete ovarii denilen rudimenter durum oluştururlar. Ancak daha sonra rete ovarii ve primer cinsiyet kordonları dejenerasyon geçirerek kaybolurlar (Khan *et al.* 1999; Acikalin and Tokar

2005). Mayoz geçiren oogoniumlar ovosit olarak adlandırılırlar ve foliküler hücreleriyle ilişkilerini devam ettirerek primordiyal folikül oluşumlarını sağlarlar. Ovaryum korteksindeki oogoniumlar ise mitoz bölünmelerle çoğalırlar. Her iki hücre tipi de aralarında sitoplazmik köprülerle bağlantı kurarlar. Ovaryumda 22. haftaya kadar foliküler gelişim tamamlanır. Ovositler bölünmelerini Mayoz I'nin profaz aşamasında diploten safhasına devam ettirirler. Ergenlik dönemine kadar Mayoz bölünme devam etmez ve ovositler bu safhada kalırlar (Feng *et al.* 2014). Tunika albuginea ise yüzey epitelini korteksteeki foliküllerden ayıran ince bir fibröz kapsül tabakasıdır. Mezonefrozdaki ayrılan ovaryumlar mezenterlerle mezovarium ile bağlantı kurarlar (Roth 1971; Moore and Persaud 2002).

1.1.2. Ovaryumun anatomisi

Ergenlik döneminde oval biçimli ovaryumlar 0,5-1,5 cm kalınlığında, 2-3 cm çapında ve 3-5 cm uzunluğunda yanlardan basık olan organlardır. Ağırlığı 4-6 gr kadardır. Ovaryumların pelviste bulunduğu çukurluklara fossa ovarika denilmektedir. Bu çukurluk pelvisin yan duvarlarında arteria iliaca kommunisin dallarından ikisi (arteria iliaca eksterna ve arteria iliaca interna arasında yer alır. Ovaryum dıştan bağ dokudan oluşmuş sert bir zarla (tunika albuginea) çevrelenir. İlerleyen yaşa bağlı olarak bu zarın sertleşip kalınlaştığı gözlenir. Stroma ise ovaryumun temel dokusu olup yapı ve durum bakımından iki tabakadan oluşmuştur (dışta; substantia kortikalis ve ortada; substantia medullaris (Soares *et al.* 2015).

Hilus ovaryumlara sinir ve damarların girip çıktığı yerdir. Ovaryumlar uterusun yan kenarlarında hilusda yer alan mezovaryum olarak bilinen ve damarları bu organlara ileten peritonun katlantısından oluşan bir askı (ligamentum latum) ile asılı dururlar (Şekil 1.4). Ovulasyondan önce yüzeyleri düzgün olan ovaryumların, ovulasyondan sonra bu düzgünlüklerini kaybettikleri gözlenir (Gartner 2001; Xu *et al.* 2018).



Şekil 1.4. Ovaryumun anatomik yapısı (Anonim 2019c)

1.1.3. Ovaryumun histolojisi

Tek katlı kübik epitel ovaryum yüzeyini örter. Germinal epitel olarak adlandırılan bu hücre tabakasının mezovaryumu örten mezotelyumla devam ettiği görülür. Hilusta mezovaryum, ovaryum yüzeyinde genel olarak tek katlı kübik bazı yerlerde de tek katlı yassı epitelden oluşan germinal epitel ile devamlılık gösterir. Bu epitelin yaşla ilişkili olarak gençlerde kübik, yaşlılarda ise yassı görünümlü olduğu ve belirgin bir bazal membranlarının bulunduğu gözlenir. Zengin kollagen ipliklerden oluşan Tunika albuginea ise germinal epitelin altındadır, yaklaşık 100 mikron kalınlığında sıkı bağ dokundan oluşan tabakadır (Roach and Andreotti 2007; Ross 2015).

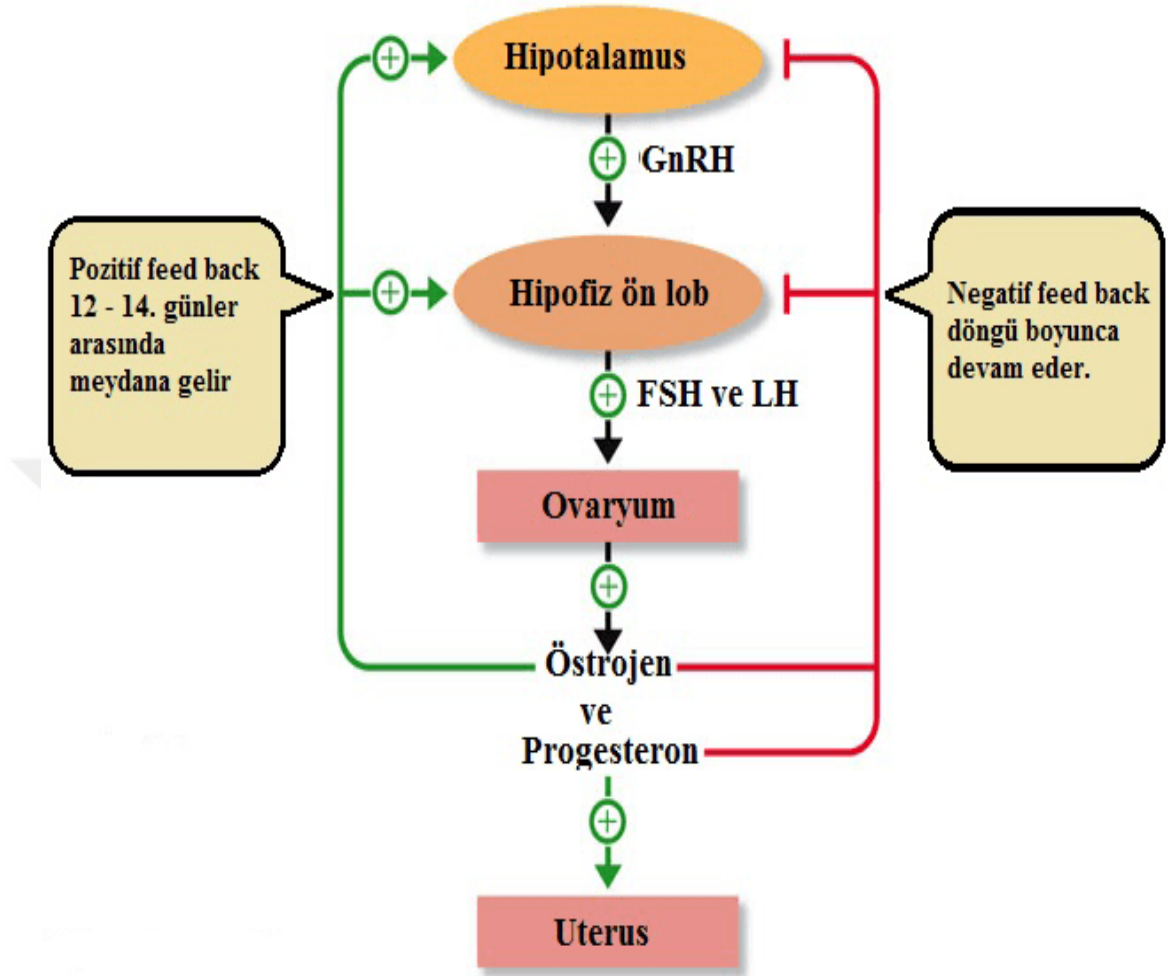
Ovaryumda görülen granüloza hücreleri bir diğer parankimatik hücre tipi olup özel bağlantı bölgelerine sahiptirler. Gap-junction olarak adlandırılan bu bölgeler folikül hücreleriyle sinyal iletiminin karşılıklı olmasına yardımcı olurlar (Winterhager and

Kidder 2015). Bu bağlantılar sayesinde granüloza hücreleri folikül hücrelerini besleyebilir. Bazal membrana temas eden granüloza hücreleri folikül hücrelerinden histolojik olarak kolayca ayırt edilebilirler (Guan *et al.* 2017).

Doğumla birlikte sağlıklı bir dişinin ovaryumlarında yaklaşık altı yüz bin, sekiz yüz bin arasında primer oosit sayılır, ancak bu oositlerden hemen hemen dört yüz bin tanesi ovulasyona ulaşabilir (Dickey *et al.* 2002; Ross 2014). Geriye kalan hücreler atreziye olarak dejenerasyon gösterirler. Medulla tabakası korteksin hemen altında ve organın merkezinde yer alır. Medulla kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirlerin içinde bulunduğu gevşek bağ dokusuna sahiptir. Bu kısımda yer yer düz kas liflerine rastlanır. Ancak medulla ve korteks tabakaları birbirlerinden kolaylıkla ayırt edilemez. Bu tabakaya aynı zamanda zona vaskuloza adı da verilmektedir. Bu adlandırma onun kan damarlarınca zengin olması nedeniyledir (Pascolo *et al.* 2019).

1.1.4. Ovaryumun fizyolojisi

Ovaryumun fonksiyonu oosit hücrelerinin üretilmesi ve hormonların sentezlenmesiyle devam eder. Hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezlenirken; folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormonu (LH) ise hipofizin ön lobundan salgılanır (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Ovaryumdan östrojen ve progesteron hormonlarının salınımında feed back mekanizması (Anonim 2019d)

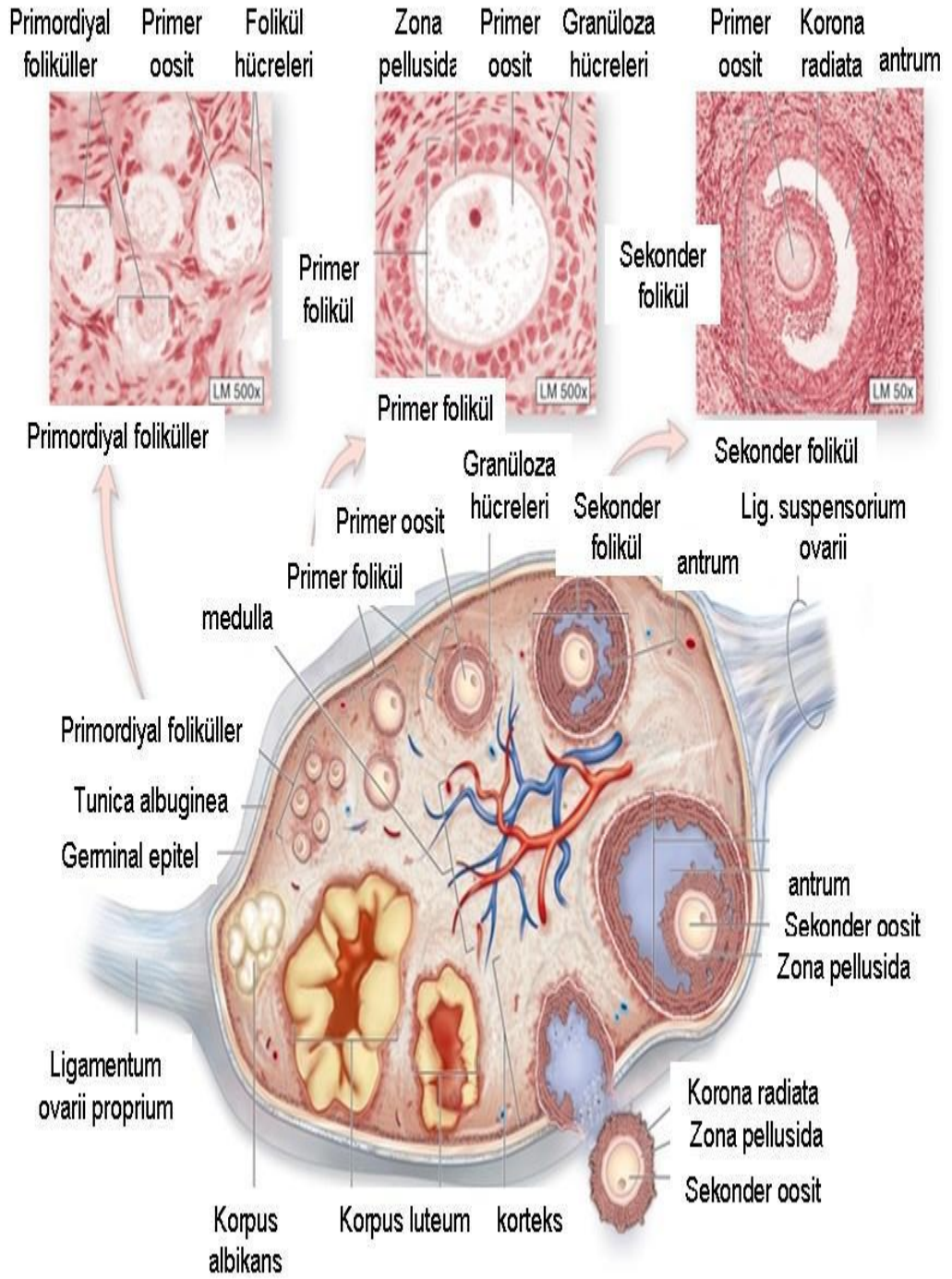
Ovaryum bu iki hormona cevap vermek için östrojen ve progesteron salgılar (Monte *et al.* 2019). Bu iki hormondan östrojen dişilerde genital organların büyümesini ve aynı zamanda puberte döneminde sekonder eşey karakterlerinin gelişmesini sağlar (Cunha *et al.* 2017). Progesteron hormonu ise meme bezlerinden süt salgılanmasını ve aynı zamanda uterusun döllenecek yumurtaya implantasyonununu sağlamaya hazır hale getirir (Romero *et al.* 2018).

1.1.5. Ovaryumun folikülleri

Primordial folikül

Ovaryumdaki foliküller korteksteki stroma içinde yerleşir. Oosit etrafındaki tek veya çok katlı folikül hücreleriyle (granüloza hücreleri) birlikte çok sayıda folikül oluşur (Brazert *et al.* 2019). Doğumla birlikte bir insan dışısının ovaryumlarında tahminen dört yüz bin kadar folikül bulunur. Bunlardan yaklaşık olarak 400-450 tanesi olgunlaşmasını tamamlayarak ovum (olgun yumurta hücresi) şeklinde üreme organlarına ait yollarda serbest bırakılır. Ancak bu foliküllerden büyük bir kısmı atreziye olur, menopozla birlikte hemen hemen hiç bir gelişmiş foliküle de rastlanmaz (Wang *et al.* 2018). Foliküllerin büyüklüğü ve onu saran epitel kılıfın kalınlığı gelişimin ilerleyen dönemlerine bağlı olarak değişiklikler gösterir. Foliküller büyümeleri sırasında; primordial, primer, sekonder (antral) ve olgunlaşmış (graff) foliküller olarak tanımlanırlar (Filatov *et al.* 2017) (Şekil 1.6).

Fetusun üçüncü ayında primordial foliküllere ilk defa rastlanır ve erken dönemdeki gelişmeleri gonadotropin hormonun etkisinden bağımsız olarak gerçekleşir (Silber 2015). Bu foliküllere daha çok ovaryumun germinal epitelinin hemen altında rastlanır (Virant-Klun 2015). Primordial foliküllerin ortasında primer oosit bulunur (Huntriss *et al.* 2002). Küre şeklindeki oositin çapının yaklaşık olarak 25 µm olduğu gözlenir. Bu hücre büyük bir nükleusa ve büyük bir nükleolusa sahiptir. Çekirdekteki kromozomlarının dağınık halde olduğu ve açık renkte boyandığı görülür. Hücrenin sitoplazmasındaki organeller ise nükleusa yakın bir şekilde küme oluşturma özelliği gösterir. Bu organeller az sayıdaki golgi kompleksi, endoplazmik retikulum ve çok sayıdaki mitokondriden oluşur (Koh *et al.* 2009). Primordial folikülde yer alan primer oositlerin ergenliğe kadar mayozun 1. safhasının profaz evresinde bekledikleri görülür (Zhang *et al.* 2014).



Şekil 1.6. Ovaryumdaki foliküllerin gelişme basamakları (Anonim 2019e)

Primer folikül

Bu foliküller ovaryumun yüzeyine yakın bir yerde yerleşirler. Ergenleşme döneminde salgılanan FSH'nin etkisiyle oositin ve etrafındaki folikül epitel hücrelerinin gelişmeye başladığı görülür (Kim *et al.* 2007; Mito *et al.* 2013). Gelişmelerinin başlangıcında tek tabakalı ve kübik olan folikül epitel hücrelerinin daha sonra tek tabakalı prizmatik folikül epitel hücrelerine değiştikleri gözlenir. Primer foliküllerdeki primer oositlerin ise I. mayoz bölünmenin profaz aşamasında bekledikleri tespit edilir (Byskov *et al.* 2002).

Sekonder folikül

Söz konusu foliküllerin ovaryumun korteksinden daha aşağı kısımlarda yerleştikleri görülür. Primer oositler büyüdükçe etraflarının çoğalan folikül epitel hücreleri ile sarıldığı gözlenir. Bu folikül epitel hücreleri granüloza hücreleri olarak adlandırılırlar. Mikroskopik olarak bu hücrelerin büyük taneli yapı gösteren çekirdeklere ve az miktarda sitoplazmaya sahip oldukları görülür. Aynı zamanda folikül epitel hücreleri ve oositler arasında homojen bir şekilde belirgin bir kalınlaşma tespit edilir. Bu jel tabiatındaki örtü zona pellusida veya membrana pellusida adını alır (Shi and Shao 2019). Elektron mikroskobu ile incelendiğinde ise oositin ve ona en yakın olan folikül epitel hücrelerinin çok sayıda mikrovillus oluşturduğu aynı zamanda aralarında glikoprotein tabiatında bir ara maddenin yer aldığı görülür. Bu yapı sayesinde gelişen oosit folikül epitel hücrelerinden difüzyonla ve daha geniş bir yüzeyle madde alışverişi yapabilir.

Folikül epitel hücrelerini saran bazal membranın dışında ise kollajen ve retiküler lifli bağ doku ve bu dokuya ait hücreler (fibroblastlar) bulunur. Oluşturulan bu özel kılıfa teka folikülü adı verilir (Richards *et al.* 2018). Bu kılıf gelişerek teka interna ve eksterna olarak iki ayrı tabaka oluşturur. İç taraftaki teka interna hücreleri farklılaştıktan sonra steroid sentezi yapan hücrelere benzer yapısal özellikler gösterirler. Söz konusu hücrelerin araştırmacılara göre testosteron hormonunu salgıladıkları ve bu hormonun da granüloza hücreleri tarafından östrojene dönüştürüldüğü kabul edilir (Minguini *et al.*

2019). Teka interna hücrelerinin sitoplazmalarının büyük bir kısmını tüpsü kristaya sahip çok sayıda mitokondriyon, agranüler endoplazmik retikulum ve lipid damlacığı doldurur. Kan ve lenfe ait kapillerle ise hücreler arasında belirgin bir ağ oluşturur. Teka interna hücrelerinin bu özelliği granüloza hücrelerinde söz konusu değildir (Shimizu *et al.* 2007). Diğer taraftan teka eksterna örtüsünde kılcal damarlar bağ doku hücreleri ile beraber yer alırlar ve aynı zamanda salgı hücreleri arasında ağ oluştururlar (Sharara and Nieman 1994).

Tersiyer folikül

Giderek büyüyen folikülün etrafındaki epitel hücreleri (granüloza hücreleri) arasındaki düzensiz interselüler aralıklar hücre sayısı arttıkça yer yer boşluklar şeklinde görülmeye başlar. Başlangıçta çok sayıda ve küçük olan bu boşluklar (antrum folikülü) birbiriyle birleşir ve daha büyük boşlukları oluşturur. Bu boşluklar sıvı ile dolu gözüktür. Folikül epitelinden salgılanan bu sıvının steroid hormon bakımından zengin (östrojen, progesteron ve androjen), proteolitik enzimleri ve aynı zamanda hiyaluronik asidi içerdiği gözlenir. Östrojen hormonunun aynı zamanda intersitisyel hücreler ve teka folikülünden de salgılandığı tespit edilmiştir (Dewailly *et al.* 2016).

Graaf folikülü

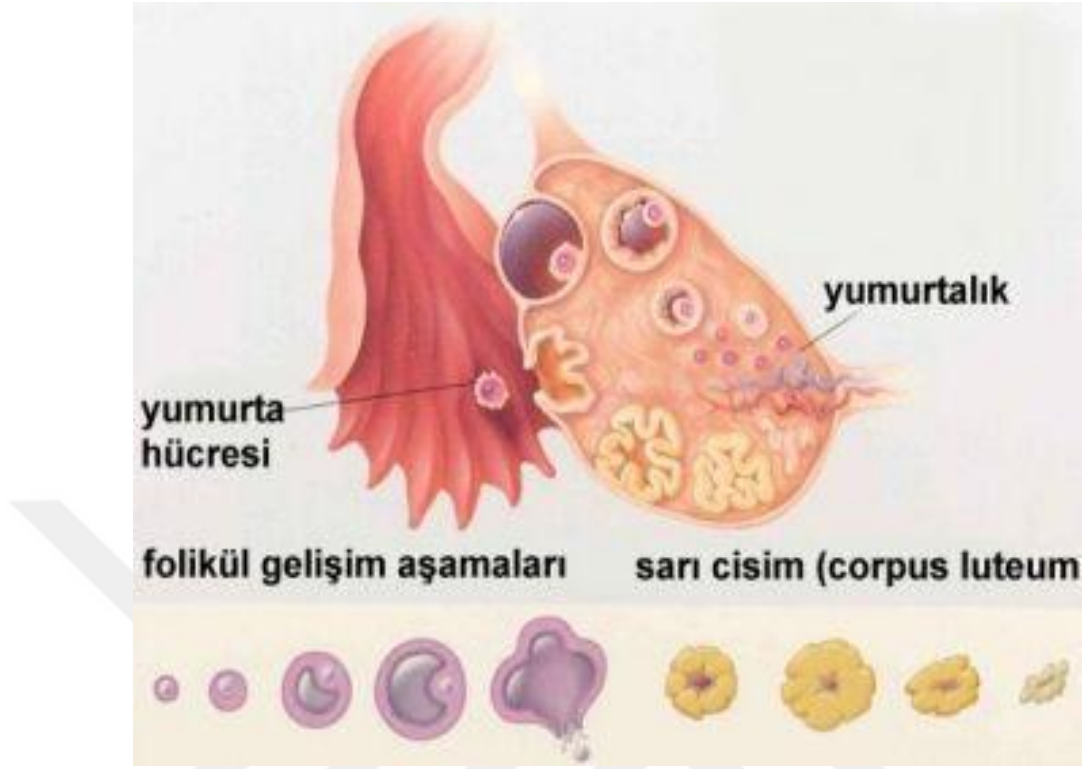
Foliküller ovaryum yüzeyine doğru gelişerek büyürler. Bu aşamada antrumun içindeki sıvı artar ve tek bir boşluk halini alır aynı zamanda folikülün de çok büyüdüğü gözlenir. Büyümüş olan tersiyer folikülün ovaryum yüzeyine dayandığı ve germinatif epitel ve onun hemen altındaki aşırı derecede incelmış olan tunika albuginea'yı dışa doğru kubbelendirdiği tespit edilir. Bu foliküller çok gelişmiş ve ovaryumun yüzeyinden atılmaya hazır hale gelmiş foliküllerdir (Oudshoorn *et al.* 2017). Graaf foliküllerinde oosit I'lerin mayoz bölünmenin ikinci aşamasını geçirerek oosit II'leri oluşturdukları gözlenir (Jaffe and Egbert 2017). Oositi saran prizmatik folikül epitel hücreleri oositin etrafında taç gibi bir görüntü oluşturur. Bu şekilde yerleşmiş epitelden oluşmuş tabakaya korona radiyata denir. Ayrıca, zona pellusida (membrana pellusida) olarak

adlandırılan korona radyata ve oosit arasında yeni bir tabaka daha oluşur. Bu katmanda elektron mikroskopik incelemelerle korona radyata hücreleri ile oosit arasında sitoplazmik uzantıların (mikrovillusların) olduğu gözlenir ve bu uzantılar ‘gap junction’ şeklindeki bağlantıları oluşturur. Ayrıca korona radyatanın etrafında da düzensiz dizilişte birkaç sıra halinde folikül epitel hücrelerine rastlanır. Bu hücre tabakaları folikül duvarının bir tarafında yarımada şeklinde antrum boşluğuna doğru uzanır. Söz konusu uzantı kumulus ooforus olarak adlandırılır. Folikül duvarındaki çok katlı epitel hücrelerinin dış kısma bakan tarafları bazal membran ile örtülüyken, içteki hücrelerin antrum ile sınırlandıkları görülür. Bazal membran ile antrum arasındaki folikül epitel hücreleri ve antrumu saran hücre katmanına katmanına stratum granulozum adı verilir (Tarumi *et al.* 2014). Diğer taraftan teka folikülünün sekonder foliküllere kıyasla tersiyer foliküllerde çok daha belirgin olduğu görülür. Üstelik teka internadaki hücrelerin farklılaştıklarında steroid salgılayan hücrelere benzer bir görüntü oluşturdukları gözlenir. Bu hücreler androstenedion olarak adlandırılan ve granüloza tabakasına taşınan steroid hormon üretirler. Androstenedion’un östrojene dönüştürülmesi ise folikül uyarıcı hormonun etkisiyle granüloza tabakasındaki hücrelerin aromataz enzimini salgılamasıyla gerçekleşir. Sentezlenen östrojen hormonu ise önce stromaya ve oradan da kan damarları aracılığıyla dolaşıma katılarak tüm vücuda yayılarak hedef dokularda etkili olur (Hamilton *et al.* 2017).

1.1.6. Ovulasyon

Dişilerde her bir siklusta yirmiden fazla primordial folikülün aktive olarak olgunlaştığı ancak bunlardan sadece bir tanesinin tam bir şekilde olgunluğa ulaşarak ovulasyona uğradığı diğerlerinin ise inaktif hale geldiği gözlenir (Robker *et al.* 2018) (Şekil 1.7).

Oositin ovaryumdan bırakılması olarak adlandırılan ovulasyon basamağı LH’nin salgılanmasıyla indüklenir (Grossman *et al.* 2015). Ovulasyonun hormonlar, metabolik sinyaller, immun cevaplar, granuloza ve teka hücrelerinden salgılanan parakrin faktörler ve ayrıca oosit tarafında oluşturulan birçok faktör tarafından kontrol edildiği tespit edilmiştir (Richani and Gilchrist 2018).

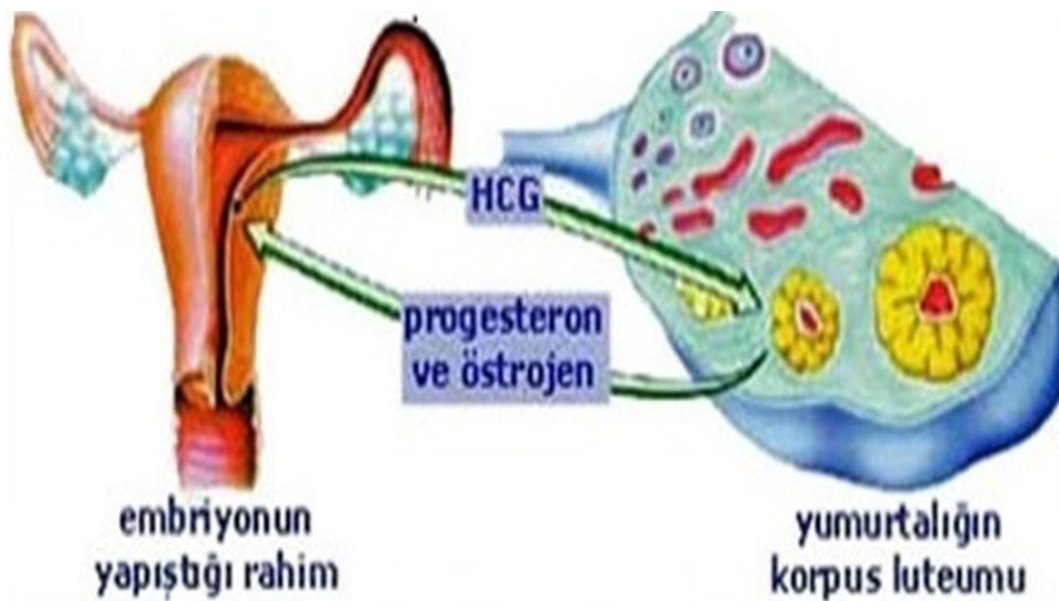


Şekil 1.7. Ovaryumdan ovulasyonla yumurtanın bırakılması (Anonim 2019f)

LH folikül duvarının proteoliz ve apoptoz uğramasını sağlayarak parçalanmasını tetikler. Söz konusu hormon matriksteki metalloproteinazlardan metalloproteinaz-2'nin aktive olarak kollajenolitik aktivite göstermesine neden olur. Proinflamator sitokinlerden birisi olan tümör nekrozis alfa ($TNF-\alpha$) ve prostaglandinler de ovulasyon basamağında etkili olan düzenleyici mediatörlerdendir (Galvão *et al.* 2018). LH teka internadaki hücrelerde ve ovulasyon öncesindeki folikülde apoptozisi ve kaspaz- 3 ve 7 aktivitesini artırır (Dilaver *et al.* 2019). LH'una cevap olarak olgunlaşmış folikül yırtılır ve folikülden döllenebilme özelliğine sahip oosit bırakılır (Robker *et al.* 2018). Bu aşamada folikül hücrelerinden teka ve granuloza hücrelerinde ve aynı zamanda stromal hücrelerden endotel ve fibroblast hücrelerinde değişiklikler gözlenir. Diğer taraftan ovaryumun yüzeyindeki epitel hücrelerinde de fonksiyonel anlamda değişiklikler oluşur. Ayrıca ovulasyon aşamasında makrofaj ve nötrofiller ovaryumdaki hücreler üzerinde invazyon oluşturur ve böylece de sitokinlerin etkileri gözlenebilir (Field *et al.* 2014).

Korpus luteum

Korpus luteum, blastosist implantasyonundan sonra gebeliğin normal bir şekilde devam edebilmesi için geçici bir endokrin organ olarak gelişerek progesteron hormonunu salgılar. Progesteron hormonu hipotalamusa negatif feedback ile baskı yapar ve böylece bir sonraki folikülün gelişmesini önler. Granulosa ve teka hücrelerinin ovulasyondan sonra korpus luteumu oluşturdıkları gözlenir (Ginther 2019) (Şekil 1.8). Korpus luteum incelendiğinde granulosa-lutein ve teka-lutein hücrelerinden oluştuğu görülür (Baerwald *et al.* 2012). LH ile ovulasyondan sonra geriye kalan folikülün korpus luteumu oluşturduğu tespit edilmiştir (Bender *et al.* 2018; Owens *et al.* 2018; Ginther 2019). Yeni oluşmuş korpus luteuma fibroblastlar, endotel hücreleri ve teka hücrelerinin katıldığı gözlenir (Richards *et al.* 2017). Teka hücrelerinde değişen mikroçevreye bağlı olarak yeni damarlar görülür (Young and McNeilly 2010). Aynı zamanda LH'nin artışıyla birlikte granuloza hücrelerinde genleri aktivasyonu gözlenerek luteinizasyon başlar. Bu aşamada aromataz enzimi inhibe olurken steroidojenik aktivite için genler hızlı bir şekilde indüklenirler (Jeppesen *et al.* 2012). Düşük ve yüksek yoğunluklu lipoproteinlerdeki kolesterolden pregnenolon oluşumu söz konusu olur. Serbest kalan kolesterolün mitokondriye taşındığı görülür. Kolesterolün taşınması steroid yapıdaki



Şekil 1.8. Korpus luteum oluşumu (Anonim 2019g)

proteinler ve Sitokrom p450 ile sağlanır. Daha sonra pregnolondan progesteron oluşur (Martel *et al.* 1994). Korpus luteumların sınıflandırılması içindeki hücrelerin özelliklerine, boşluk içermelerine, bağ doku içerikleri ve fibröz doku bulundurmalarına göre yapılır (Marshall *et al.* 2017). Sıçanlarda korpus luteumun yeni, olgunlaşmış ve gerilemiş olmak üzere üç tipi ayırt edilir. Korpus luteum ovulasyondan sonra östrus siklusunda görülmeye başlar ve birkaç östrus siklusu döngüsü süresince kalır. Daha sonra fonksiyon kaybına bağlı olarak tamamen yok olur (Sasano and Suzuki 1997). Luteal yapının tekrar eski haline dönmesi durumuna luteoliz denilir. Böylece, korpus luteumun gerilediğini gösteren işaretler; apoptotik hücre sayısının artması, progesteron hormon sentezinin azalması ve lüteal yapının bozulmasıdır (Gawriluk and Rucker 2015; Mohammed *et al.* 2017; Chou and Chen 2018). Bu işaretlerin gözlemlendiği aşamada kan damarlarının hacmi de küçülür. Lüteolizisi etkileyen en önemli faktörün prostaglandinlerden prostaglandin F2 alfa olduğu rapor edilmiştir (Bennegård-Edén *et al.* 1995).

1.2. İnfertilitenin Tanımı

İnfertilite bir yıldan daha fazla bir süre geçtiği halde evli çiftlerin çocuk istemelerine rağmen gebeliğin oluşmaması durumudur. Bu süre biraz daha uzatılarak iki yıla kadar beklenilebilir. İnfertilite iki şekilde söz konusu olur; Primer infertilite daha önce gebeliğin hiçbir şekilde oluşmadığı, sekonder infertilite ise öncesinde canlı doğumla sonuçlanmış en az bir gebeliğin oluştuğu durum olarak tanımlanır (Ling *et al.* 2018; Lorès *et al.* 2019). Bir menstrual peryotta gebe kalabilme olasılığına fekundabilite denilir. Cinsel açıdan herhangi bir problemi olmayan çiftlerde gebe kalabilme olasılığı %20–25 olduğundan bu çiftlerin %90'ından fazlasının 12 ayda gebe kalabilme olasılığı oldukça yüksektir (Diedrich *et al.* 2017; Baird *et al.* 2018; Pham *et al.* 2018). Diğer taraftan, sağlıklı çiftlerde gebeliğin yaşanmadığı siklus sayısı arttıkça fekundabilite oranı da o ölçüde azalmaktadır. Otuz yaşından sonra ise gebe kalabilme oranı giderek azalmaktadır (Handyside 2018).

Önceki yıllara göre infertilitenin arttığı tespit edilmiş ve bu duruma ertelenen evlilikler, zararlı alışkanlıklar, çalışan kadın rolünün artması, beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, evlilik dışı ilişkilerle bulaşan hastalıkların artması, infertilite tedavisi yapan servislerin açılarak hizmetlerini artırmaya çalışmaları, kısırlığın bir problem olarak görülmemesi ve tedavi masraflarını karşılayacak sağlık sigortalarının hizmet olarak sunulması gibi faktörlerin neden olduğu belirtilmektedir (Gnoth *et al.* 2005).

1.2.1. Fertiliteyi etkileyen faktörler

Fertiliteyi etkileyen birçok faktör bilinmektedir; Bunlar artan vücut ağırlığı, ilerleyen yaş, alkol, sigara, kafein ve uyuşturucu ilaç kullanımları, cinsel ilişki, psikolojik rahatsızlıklar ve aynı zamanda çevreden gelen zararlı etkiler olarak sayılabilir (McQueen 2017; Akbarzadeh *et al.* 2019).

Vücut ağırlığı

Overlerin normal bir şekilde fonksiyon yapabilmeleri normal vücut ağırlığıyla sağlanabilir. Aşırı kilo ve zayıflık hormonal dengeyi bozduğundan overlerin fonksiyonları değişerek infertilite gözlenebilir (Broughton and Moley 2017).

Yaş

Fertiliteyi etkileyen en önemli faktörlerden birisi de erkeğin ve kadının yaşlarıdır. Her iki eşey için de en yüksek fertilite 20–25 yaşları arasında söz konusudur. Ancak ilerleyen yaşla birlikte fertilitenin belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmektedir. Fertilite oranı 30 yaşını geçmiş kadınlarda ve 40 yaşını geçmiş erkeklerde belirgin bir şekilde azalır. Bununla birlikte erkekte üreme yeteneğinin ileri yaşlara kadar devam edebileceği bilinmektedir. 20-25 yaşları arasındaki bir kadının gebelik oranı %86, 26-30 yaş arasındaki bir kadının gebelik oranı %78'e yakın, 31-35 yaş arasında gebe kalabilme oranı %63 ve 35'inden sonra ise gebe kalabilme olasılığı %52 kadardır (Menken *et al.* 1986; van Seeters *et al.* 2017).

Cinsel ilişki

Eşlerin yaşı ve evlilik süresiyle yakından ilişkili olup genellikle ovulasyon beklenen haftada gebe kalınma oranını artıran önemli bir faktördür (Lensen *et al.* 2016; Wekker *et al.* 2018).

Alkol, sigara ve uyuşturucu madde kullanımı

Sigara her iki cinsteki bireylerin çoğalabilme yeteneklerini sınırlar. Aynı zamanda sigaranın zararlı etkilerini artıran ve infertiliteye sebep olan genetik ve çevresel koşullarda dikkate alınması gereken önemli faktörler arasındadır. Alkol ve uyuşturucu maddelerin de fertilitiyi olumsuz yönde etkiledikleri bilinmektedir (Lindsay and Vitrikas 2015) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. Alkol sigara ve uyuşturucu madde kullanımı (Anonim 2019h)

Çevresel maruziyet

Kimyasal maddelerin çeşidi ve bu maddelere maruz kalınan süre ile maruziyet şekli üreme sağlığını yakından ilgilendiren faktörler arasındadır. Aynı zamanda kimyasal maddenin konsantrasyonu da süre ve maruziyetle birlikte kadın ve erkeğin üreme sistemini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Kimyasallara maruziyet sonrasında gözlenen olumsuz etkiler arasında; cinsel ilişki sıklığının azalması, menstrual peryotta bozulmalar, infertilitenin gözlenmesi, implantasyon problemlerinde artış, ovulasyon düzeninin bozulması, sperm hücre sayısının ve hareketliliğinin azalması, olgunlaşmamış sperm oluşumu ve bunların dölleme yeteneğinin azalması ile testislerdeki anormal değişiklikler ve hücre kromozom sayısı ve aynı zamanda yapısında bozulmalar belirtilebilir. Diğer taraftan, gelişen teknoloji ve düşüncesizce doğal zenginliklerin tüketilmesi ile ortaya çıkan küresel ısınmanın infertiliteye sebep olacağı uyarısı yapılmaktadır. Küresel ısınmanın bir sonucunun sıcaklık artışından dolayı erkek bireylerde normal ve hareketli sperm sayısını azaltacağı ve erkek infertilitesinin en önemli nedenlerinden birisi olacağı vurgulanmaktadır (Araki *et al.* 2018; Madeen and Williams 2018).

Psikolojik sorunlar

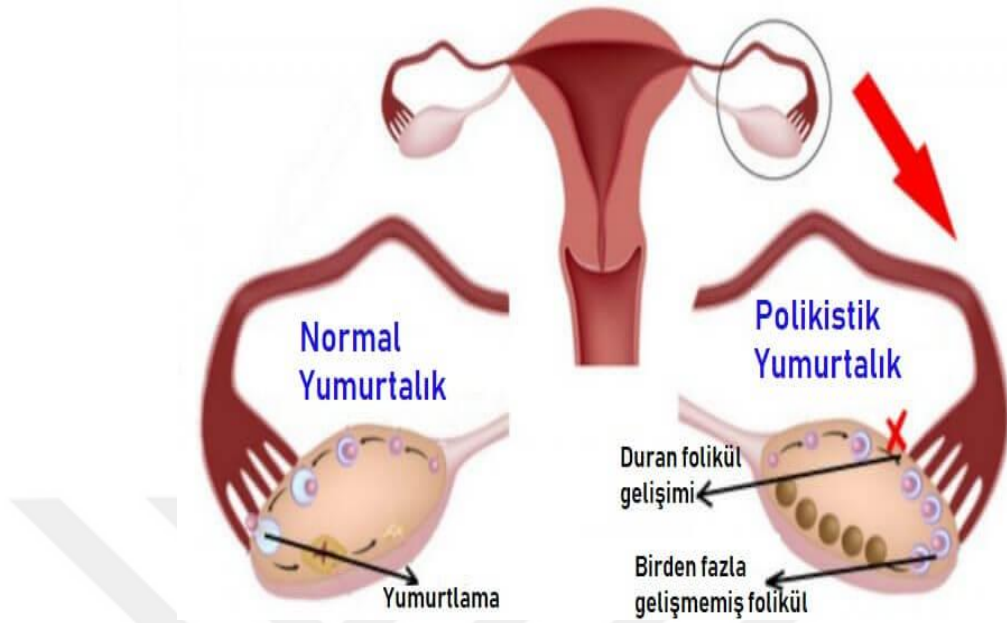
Stresin birçok hastalığın nedeni olduğu ve aynı zamanda doğurganlığı olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Özellikle üremeyi kontrol eden hormonların kaynağını oluşturan hipofiz bezinin strese ve duygusal bozukluklara son derece hassasiyet gösterdiği belirtilmektedir. Stresten dolayı aksayan menstrual peryot ve cinsel isteksizlik infertilite sebebi olarak gözükmektedir. Ancak stres infertilite nedeni olarak kabul edilise de infertilite de stres sebeplerinden birisi olarak düşünülmektedir (Begum and Hasan 2014).

1.2.2. Erkek infertilitesi

Erkek infertilitesinde endokrin bezlerde bozukluklar, varikosel, cinsel işlevde bozukluk, cinsel münasebetle bulaşan hastalıklar, bağışıklık maddeleri, konjenital malformasyonlar gibi nedenler önemli gözükmemektedir. Ancak, infertil erkeklerin yaklaşık olarak %50 kadarında nedeni kesin olarak tespit edilemeyen faktörler bağlı olarak sadece azospermi, oligospermi, teratozoospermi ve diğer sperm anormallikleri gözlenmektedir (Daumler *et al.* 2016). Genellikle 3 günün sonunda toplanmış semen analizleri alınarak incelenmekte ve doğru tanı konulmaya çalışılmaktadır (Folkvord *et al.* 2005). Aynı zamanda erkek infertilitesinin stres, çevresel etkenler, yüksek sıcaklık, obezite, alkol, sigara kullanımı ve elektronik cihaz kullanımlarına bağlı olarak aratabileceği de kaydedilmiştir (Baert *et al.* 2017).

1.2.3. Kadın infertilitesi

Düzenli adet gören kadınlarda menapozun başlangıcından bir kaç yıl öncesinde infertilite belirtileri görülmeye başlar. Genellikle 35 yaşından sonra yumurtalıklar, uterus ve cinsiyet organlarında anatomik ve fonksiyonel bozuklukların gözlenmesi ile üreme sisteminin çalışması aksar. Yumurtalıkların endokrin organlarla iletişimlerini devam ettirmelerinden dolayı endokrin bezlerdeki bozulmalar fertilitiyi önemli derecelerde etkileyebilmektedir (Sen *et al.* 2014). Yumurtanın atılmasındaki gecikmeler henüz bilinmeyen sebeplerle amenore/oligo (adette düzensizlik) ve uterusda kanamalara sebep olur (Xu *et al.* 2017). Ancak kadınlarda uterus anatomi ve fonksiyonuna bağlı anormallikler nadiren infertilite nedenleri arasında sayılmaktadır. Uterus yapısının değerlendirilmesi ve anormalliklerinin tanısı için Histeroskopi en önemli izleme yöntemlerinden birisidir. Aynı zamanda, kadınlarda polikistik over sendromu, tubalar hasar, belirgin endometriozis, genetik bakımdan preimplantasyon teşhisinin konulması ve erkeklerde infertilite gibi pekçok patolojik durumda Histeroskopi önemli avantajlar sağlamaktadır (Jokinen *et al.* 2017) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Polikistik over sendromu (Anonim 2019ı)

Ayrıca kadınların %10-15 kadarında infertiliteye neden olabilecek herhangi bir soruna rastalanmadığı halde tubalarda spazm, serviksin aşırı sekresyonu, ruhsal bozukluklar (korku, şizofreni, disparanoya ve mutsuzluk), ailede geçimsizlik ve mesleki çatışmalar ovulasyonda bozulmalara sebep olarak açıklanamayan infertilite sebepleri arasında sayılabilmektedir. Aynı zamanda bedensel ve ruhsal bakımdan yeterince gelişmemiş ve kendisini anneliğe hazırlayamayacak durumda olmak, gebelikten kaçış veya aşırı derecede çocuk sahibi olma isteği de olumsuz infertilite nedenleri arasında düşünülmektedir (van Seeters *et al.* 2017).

1.3. Adneksiyal Torsiyon

Adneksiyal torsiyon; Tek başlarına overin veya fallop tüplerinin veya her ikisinin (adneks) tubo-ovaryan ve infundibulopelvik ligamanın eksenini etrafında çok fazla dönüş yapması olarak tanımlanır (Ginath *et al.* 2012; Al-Turki *et al.* 2015). Söz konusu yapılar torsiyonla birlikte ovaryum ve infundibulopelvik ligamanları kısmen sıkıştırarak bu bölgelere kan akımını engellerler (Warwar and Schmidt 2019). Adneksiyal torsiyona sık rastlanmamakla birlikte ani ve şiddetli abdominal ağrının (vakaların %2.7'sinde)

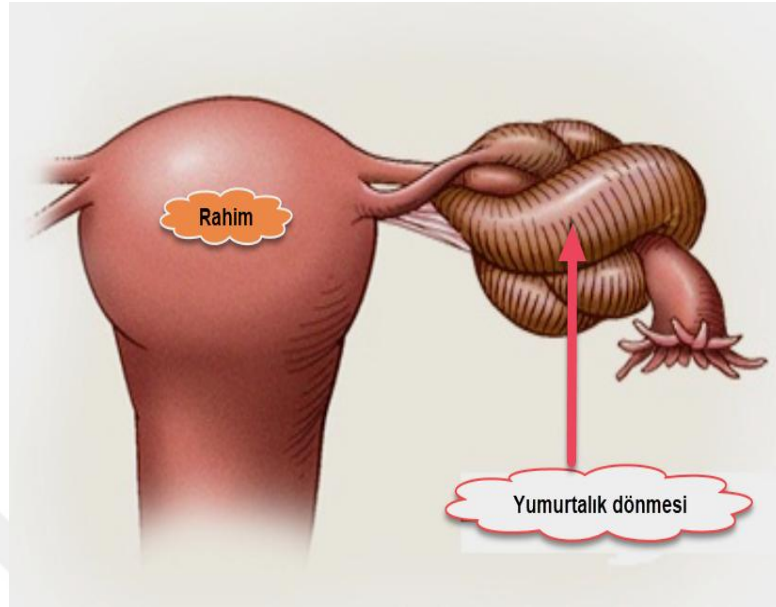
önemli bir nedeni olarak kabul edilir ve tedavi edilmezse ağır morbiditeye sebep olabilir. Kadınlarda jinekolojik vakalar arasında beşinci sırada yer alan adneks torsiyonu herhangi bir yaşta görülebilmekle beraber en çok ergenlik başlamadan önce ve ergenliğin başlarında oluşabilmektedir. Hatta postmenapozal dönemde de karşımıza çıkabilmektedir. Adneksiyel torsiyonun belirtileri spesifik olmayan ancak sıklıkla abdomenin alt kısmında ani ve devamlı bir ağrı ile başlamaktadır. Tanının gecikmesi veya tanısının konulamaması sıkça gözlenen bir durum olup böyle bir durumda yumurtalıklar, fallop tüpleri veya her ikisinde de geriye dönüşümsüz dejenerasyonlar söz konusu olabilmektedir (Raban *et al.* 2018).

1.3.1. Adneksiyel torsiyonun risk faktörleri

Adneksiyel torsiyon vakaları genellikle sağ tarafta gözlenmektedir (Ssi-Yan-Kai *et al.* 2018). Bunun en önemli nedeninin sağ uteroovaryan ligamanın sol tarafta yer almış sigmoid kolonun bulunduğu bölgeyi doldurmasından dolayı olduğu ve bu durumun da torsiyon riskini artırdığı belirtilmiştir.

1.3.2. Ovaryum torsiyonu

Adneksiyel torsiyon fallop tüpüyle over dokusunun birlikte torsiyon olması durumudur (Melcer *et al.* 2018). Ovaryum torsiyonu ise sadece yumurtalığın arteriyel ve venöz damarlarının yer aldığı pedünkülünün kendi eksenini etrafında dönmesi ile kan akımının engellenmesi hali olarak tanımlanır (Huang *et al.* 2017) (Şekil 1.11).



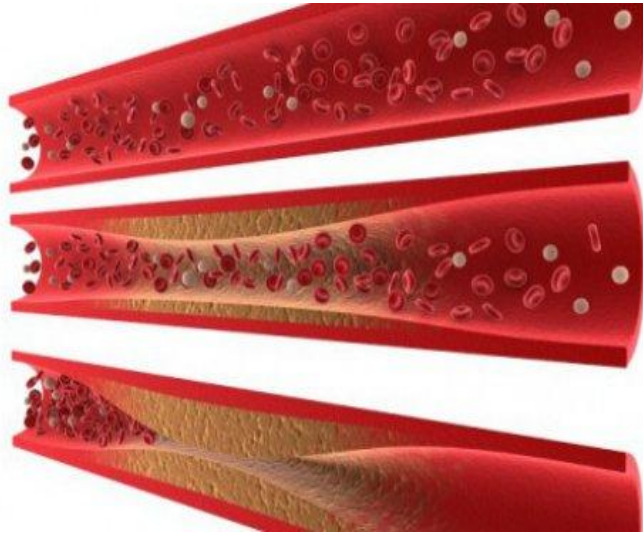
Şekil 1.11. Yumurtalık torsiyonu (Anonim 2019i)

Torsiyonunun ana nedenlerinden birisi olarak da ovaryum kistlerinin ve özellikle de dermoid kistin varlığı olarak bildirilmiştir (Durous *et al.* 2019). Normal şartlarda ovaryum torsiyonu seyrek rastlanan bir vaka olarak sayılmıştır. Diğer taraftan gebelik de torsiyon oluşumu için bir diğer risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Silja and Gowri 2008). Torsiyona bağlı olarak kan damarlarında (venöz ve arterlerde blokaj) ve lenf akışında düzensizlik oluşur. Ovaryumda iskemiye bağlı olarak ayrıca kangrenleşme ve hatta nekroza kadar gidebilen çok ciddi doku bozuklukları gözlenebilmektedir (Duan *et al.* 2019). Sonuçta torsiyon infertilitenin önemli bir sebebi olarak görülmektedir. Üstelik, torsiyon pelviste kan birikimine veya ciddi periton iltahapları gibi ölümcül sonuçlara da yol açabilmektedir (Fujishita *et al.* 2015).

1.4. İskemi ve Reperfüzyon

Doku hasarlarının en önemli nedenlerinden birisi olarak düşünülen iskemi; Organ veya dokuyu besleyen kan akımının (arteryal ve venal kan) kesilmesiyle oluşan ve süreye bağlı olarak gelişen geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz olabilen ciddi bir durum olarak tanımlanır (Lakzaei *et al.* 2019) (Şekil.1.12). Oluşacak hasarın değerlendirilmesi uzayan iskemik hasar zamanı, olduğu doku veya organın tipi ve bilhassa da organın metabolik

gereksinimlerine göre belirgin değişiklikler gösterir. Dokuya yeterince oksijenin gitmemesi hipoksik durum olarak belirtilir (Miller and Cheung 2016). Hipoksi en çok iskemik organda söz konusu edilmektedir. Oysa hücrelerin normal metabolik fonksiyonları için oksijene mutlaka ihtiyaç vardır. Oysa iskemi vakalarında dokulara yeterince oksijen sağlanamaz. Bundan dolayı da hipoksinin bir sonucu olarak hücre ve doku fonksiyonları bozularak nekroza yol açabilecek istenmeyen bir seri reaksiyon dizisi oluşur. Aksine ilaçlar veya cerrahi müdahaleler sonucunda iskemik doku veya organa tekrar kan akışının başlatılmasına ise reperfüzyon denilmektedir (El Amki *et al.* 2017; Schiffner *et al.* 2017). Bununla birlikte, iskemik durumdaki dokuya reperfüzyon ile oluşturulacak hasar tek başına iskemi ile karşılaştırıldığında çok daha fazla olabilmektedir. Böylece iskemiye takip eden reperfüzyon iskemi reperfüzyon (iskemi/reperfüzyon) hasarı olarak adlandırılmakta ve çok ciddi doku hasarlarına yol açabilmektedir (Wu *et al.* 2018). Önceki araştırmalara göre reperfüzyonun başlangıcında fazla miktarda oksijen radikali oluşturulduğu aksine nitrik oksit üretiminin dokuda azaltıldığı belirtilmiştir. Diğer taraftan iskemi/reperfüzyon hasarının cerrahi işlemler (organ nakilleri, peruktan koroner girişimler ve kardiyopulmoner bypass) sırasında da oluşabileceği rapor edilmiştir (Jiang *et al.* 2004).



Şekil 1.12. Dokularda iskemi oluşumu (Anonim 2019j)

Aktif bir hücrenin canlılığını sürdürebilmesi için oksijen gereklidir. Hücre fonksiyonlarının bozulmasının en önemli nedenlerinden birisi de oksijen azlığıdır. Hipoksik durumun devam etmesi halinde istenmeyen kimyasal olaylar oluşacak ve hücre ölümü kaçınılmaz olacaktır. Laktik asit birikimine yol açan anaerobik ortam, hücre içinde aktivite gösteren enzim kinetiklerinde dengeyi bozarak hücrenin enejisiz kalmasına yol açabilecektir (Guo *et al.* 2014).

ATP gibi önemli bir enerji kaynağının azalması hücre zarında yerleşmiş ve ozmotik dengeyi sağlayacak olan sodyum/potasyum pompasının görevini yapamamasına yol açarak izoozmotik durumun bozulmasına sebep olacaktır. Böylece hücre ortamında atılamayan su birikecek ve akut şişmelere neden olacaktır (Lan *et al.* 2017).

İskemik dokuya reperfüzyon ile yeniden kan akımı sağlanabilmektedir. Böylece, reperfüzyonla birlikte hücreler yeterli enerji kaynağına sahip olmaktadır (Wu *et al.* 2017). Reperfüzyon sonrasında kan akımının normale döndürülmesi ve tekrar yeterli enerjinin sağlanabilmesi olumlu bir tablo gibi gözükse de sonrasında oluşan hasarlar iskemiye bağlı olarak meydana gelen hasarlardan çok daha büyük olabilmektedir (Lu *et al.* 2019).

1.4.1. İskemi ve reperfüzyon'un mekanizmaları

Dokularda ortaya çıkan hasarların oluşmasında temel mekanizmalarından en önemlisi serbest haldeki oksijen radikallerinin oluşturulmasına bağlı oksidatif strestir. Diğerleri ise hücre membranlarında yer alan yağ asitlerinin Ca^{+2} iyonunun varlığında fosfolipaz A₂ enzimi ile parçalanarak zar yapısının bozulmasına yol açılmasıdır. Böylece, sitotoksik olayların en önemli nedenlerinin reperfüzyonla birlikte başladığı vurgulanmaktadır. İskemi ve reperfüzyonun sonucu olarak hipoksantinler birikmekte ve ardından fazla miktardaki oksijen dokulara girmektedir. Araştırmacılar hipoksantinlerin oksidaz enzimi varlığında serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açtıklarını tespit etmişlerdir. Artan serbest oksijen radikallerinin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksite (H_2O_2) parçalandığı ve H_2O_2 'de katalaz enziminin etkisiyle su ve

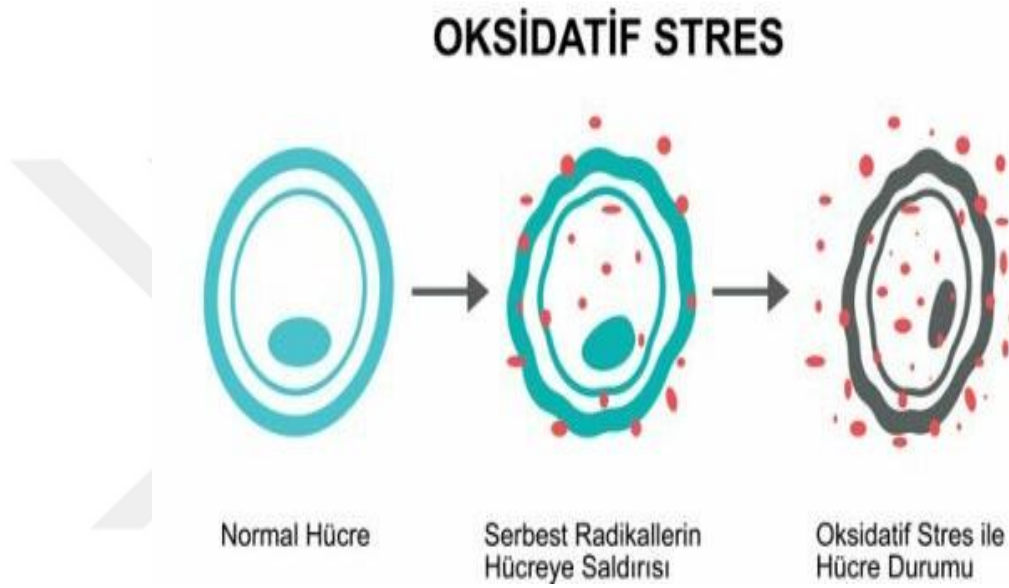
oksijene dönüştürülerek zararsız hale getirildiği belirtilmiştir. Diğer taraftan yetersiz enzim aktivitesi, dokulardaki nekrozun ana nedenlerinden birisi olarak düşünülmüş ve serbest oksijen radikallerinin lipid preoksidasyonu ve protein hasarı yoluyla hücre fonksiyonlarını bozabileceği kanaatine varılmıştır (Tang *et al.* 2006). Yine, reperfüzyon hasarından sorumlu bir diğer önemli mekanizmanın ise dokularda artan inflamasyona bağlı olarak gerçekleşeceği rapor edilmiştir (Neri *et al.* 2017).

1.4.1.a. Serbest radikaller/oksidatif stres oluşumu ve antioksidanlar

Bileşikteki elektronların aralarındaki düzenli ilişki o bileşiğin kararlı yapı kazanmasını sağlar. Serbest radikal terimi dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip element veya bileşikler için kullanılır. Oksidanların oluşumu ve antioksidan mekanizma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulması ise oksidatif stres olarak tanımlanır. Bu dengenin bozulmasının bir sonucu olarak üretilen serbest radikaller (oksidan moleküller ve reaktif oksijen türleri) hücrelerin yapı ve fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyerek farklı oksijen bileşiklerinin oluşturulmasına neden olurlar. Buna karşı koyacak özellikte bir antioksidan savunma sisteminin olmayışı ise dokularda serbest radikallerin artmasına yol açarak oksidatif strese rehberlik edebilir (Lin *et al.* 2019; Turk and Genisel 2019). Serbest radikaller pozitif, negatif ya da nötr yüklü olabilirler (Perovic *et al.* 2014). Söz konusu radikaller; süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH), peroksil radikali (ROO), nitrik oksit (NO) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi çeşitliliğe sahiptirler (Murphy 2009). Bir serbest radikalın oluşumu üç şekilde gerçekleşebilir;

1. Kovalent bağa sahip normal bir molekülün homolitik yıkımı ile oluşurlar,
2. Normal durumdaki bir molekülden sadece bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak parçalanması sonucu oluşurlar,
3. Normal durumdaki bir moleküle sadece bir elektronun ilavesiyle oluşurlar (Turrens 2003).

Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen kaynaklı serbest radikallerden oluşurlar (Hrycay and Bandiera 2015). Oksidan etkili moleküller hücre membranlarındaki fosfolipitlerin değişikliğe uğratılması, membran geçirgenliklerinin artarak bozulması, değişen enzim aktiviteleri ve DNA yapısının hasara uğratılması yoluyla hücre ölümüne yol açarak önemli sitotoksik etkilere neden olabilmektedirler (Prosser *et al.* 2016) (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. Oksidatif stres oluşumu (Anonim 2019k)

Diğer taraftan canlı organizmasında ROS'un önemli fizyolojik rolleri de tartışılmaktadır. Dişi bireylerin üreme sistemi bunun için iyi bir örnek oluşturmaktadır. Dişi üreme sisteminde ROS'un steroid hormon sentezi, oositlerin gelişmesi, yumurtlama, korpus luteum oluşumu veya bozulması ile birlikte embriyonun gelişmesi ve gebeliğe kadar ki üreme ile ilgili fizyolojik basamaklarda etkili olduğu rapor edilmiştir (Aitken 2017; Kurusu and Kuchitsu 2017; Darbandi *et al.* 2018; Peña *et al.* 2019).

Lipit Peroksidasyonu ve malondialdehit (MDA)

Antioksidan savunmasını yetersiz kaldığı durumlarda reaktif oksijen türlerinin artması ile lipit peroksidasyonları başlar ve hücreye önemli zararlar verir. Lipit

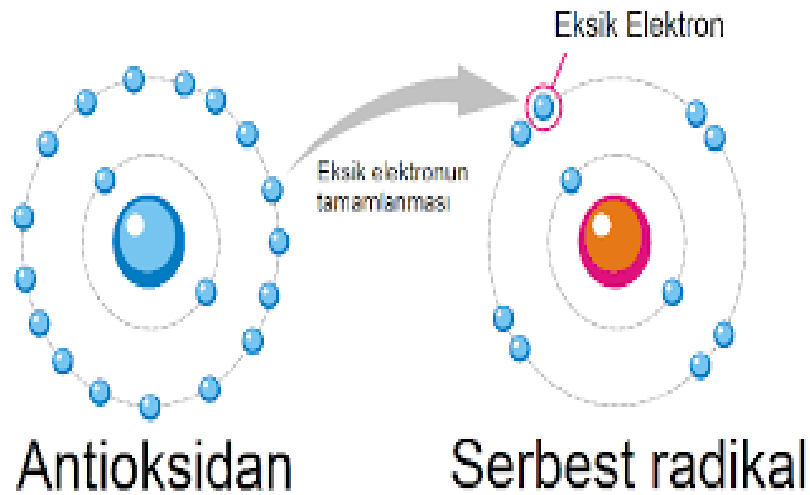
peroksidasyonuna bağlı en zararlı ürünlerden birisi artan MDA üretimidir. MDA'lerden açığa çıkan son ürün ise aldehitlerdir. Oluşan MDA'lar hücre membranındaki komponentlerin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olarak belirgin bir toksik etki oluşturlar (Qi *et al.* 2019). MDA kan dokusunda oksidatif stresin tayini için önemli bir parametre olarak kullanılır. Aynı zamanda plazmadaki çözünürlüğünün yüksek olmasından dolayı da idrarda görülebilir (Qian *et al.* 2017). MDA elektrofilik maddelerin aktif tiplerinden bir aldehit olarak hücre içindeki artan oksidatif stresin bir sonucu olarak glikasyon son ürünlerinin ortaya çıkmasına sebep olur. Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu (LDL) esnasında ise MDA'nın büyük bir kısmı dokosaheksaenoik, araşidonik ve linoleik asitlerden oluşabilir. Normal fizyolojik şartlardaki pH'da, MDA serbest haldeyken anyonik özellik göstererek proteinlerin ve amino asitlerin $-NH_2$ grupları ile reaksiyon verebilir (Naydenova *et al.* 2019).

Lipit peroksidasyonu reaksiyonları doymamış yağ asidi zincirlerinin α -metilen gruplarından sadece bir hidrojenin uzaklaştırması ile başlar (Ramana *et al.* 2016). Oluşan yağ asidi zincirleri serbest radikal özelliği kazanır. Ancak oluşmuş lipit radikali bir bileşik olarak dayanıksız olup kolayca bir dizi değişiklik gösterebilir. İlk aşamada molekül içindeki çift bağların yerlerindeki değişikliklere bağlı başka konjugatlar oluşur. İkinci aşamada ise moleküler oksijen ile lipit radikalleri reaksiyona girer ve ileri derecede toksik etkiye sahip peroksit radikalleri ($LOO^\cdot$) meydana gelir. Bu oluşan lipit peroksit radikalleri zarın yapısındaki bir diğer doymamış yağ asidini etkileyerek daha çok yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlar. Diğer taraftan da oluşan hidrojen atomlarını alarak yeni lipit hidroperoksitlerinin dönüşümlerinin kolaylaştırılmasına neden olur. Bu şekilde reaksiyonların otokatalitik olarak yürümesine yol açar. Lipit peroksidasyonunun sonlandırılması ise lipit hidroperoksitlerin MDA ve başka diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle gerçekleşebilir (Matozzo *et al.* 2016).

Antioksidanlar

Vücudumuzun önemli savunma sistemlerinden birisi de serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif stresi yenmek üzere geliştirilen antioksidan savunmalardır (Ahmad

et al. 2017) (Şekil 1.14). Antioksidan ajanlar serbest radikallerle başa çıkabilen ve oluşacak hücre hasarlarını engelleyebilen enzimatik ve aynı zamanda enzimatik olmayan maddelerdir (He *et al.* 2017). Canlı hücrelerde tespit edilmiş antioksidanlar ya hücreler tarafından doğal bir şekilde üretilirler ya da dış kaynaklardan takviye olarak alınırlar. Hem eksojen hem de endojen kaynaklı antioksidan maddeler serbest radikal savaşı olarak aktivite gösterirler. Bunun sonucu olarak savunma sistemi güçlenerek hastalık riski azaltılır (McCormack and McFadden 2013). Antioksidanlar, hücrelerde metabolizmanın toksik ara veya son ürünlerinden açığa çıkan serbest radikalleri etkisizleştirerek koruyucu özellikler sergilerler (Oikonomidis *et al.* 2017). Sergiledikleri reaksiyonlarla, peroksidasyon ve otooksidasyonun hızlı bir şekilde önlenmesini sağlayabilirler (Oakes *et al.* 2019).

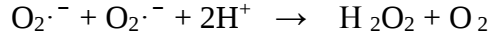


Şekil 1.14. Antioksidanlar ve serbest radikallerin atom yapısı (Anonim 2019)

Süperoksit dismutaz (SOD)

Hücrelerde serbest oksijen radikallerine karşı öncelikli savunma hattını süperoksit dismutaz (SOD) enzimi oluşturur (Nishiyama *et al.* 2017). Söz konusu enzim, süperoksit radikallerini ($O_2^{\cdot -}$), daha az toksik etkiye sahip olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyerek önemli bir şekilde etki göstermektedir.

Oluşan hidrojen peroksitler ise katalaz (KAT) ya da glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri ile etkisiz hale getirilir (Glorieux and Calderon 2017).



Ayrıca, dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikallerinin anyon ve kation formlarının aynı miktarda bulunduğu asidik pH ortamında da (pH; 4,8) kendiliğinden gerçekleşebilir. Ancak, normal fizyolojik koşullarda da (pH; 7,35-7,45) söz konusu reaksiyon daha yavaş bir şekilde gerçekleşebilir (Domergue *et al.* 2019). SOD enzimi genel olarak tüm canlılarda bulunur, memelilerde ise üç ayrı tipi tespit edilmiştir. Bunlardan Cu-ZnSOD sitozolde bulunur ve dimerik bakır ve çinko iyonlarını bağlar. ECSOD olarak adlandırılan tipi ise ekstraselüler ortamda etki gösterir. Mitokondrilerde bulunan tipi ise Mn-SOD izomerleri olarak tetramerik formda mangan iyonu ihtiva eder. Diğer taraftan SOD enziminin demir iyonu bulunduran izomeri Fe-SOD olarak adlandırılır ve sadece bazı bitkilerle mikroorganizmalarda bulunur. SOD enziminin bütün tipleri süperoksit radikallerinin dismutasyon reaksiyonlarını katalizlemede görev yapabilirler (Zelko *et al.* 2002).

Katalaz (KAT)

Katalaz enzimi hücrelerde ürat oksidaz ve glikolat oksidaz gibi pekçok enzime sahip olan peroksizom organellerinin içinde bulunur. Katalaz enzimi hidrojen peroksitleri suya indirgeyerek etkisiz hale getirir (Scibior and Czczot 2006).



Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) karaciğerde DNA'daki genetik ifadeye gerek göstermeden glisin, sistein ve glutamat gibi üç amino asitten sentezlenen önemli bir antioksidan tripeptittir. Bu enzimatik olmayan antioksidan madde serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oluşan oksidatif stres hasarından korur. Ayrıca GSH hemoglobinin oksitlenmesi sonucunda oluşacak methemoglobin şekillenmesine engel olur. Bunun yanı sıra proteinlerin sülfidril gruplarının redükte edilerek bu grupların oksidasyona karşı korunmasında görev alır. Böylece hücrelerdeki enzimlerin ve fonksiyonel proteinlerin inaktivasyonunu önler (Forman *et al.* 2008). Üstelik GSH hücrelere yabancı olan maddelerin detoksifikasyonu sağlayarak korur. Hücre zarlarından amino asitlerin geçişlerine yardımcı olur. GSH göz lensini, lökositleri ve aynı zamanda eritrositleri oksidatif strese karşı korur. Bu antioksidan maddenin aktivasyonundaki azalma, hidrojen peroksit miktarında artışa sebep olur ve bu durumda ciddi hücre hasarı anlamına gelir (Calabrese *et al.* 2017).

1.4.1.b. İnflamasyon

Reperfüzyon sonrasında oluşan inflamasyon reaksiyonları, kompleman ve polimorf çekirdekli lökositler ile bunların endotel hücreleri arasındaki ilişkileriyle gerçekleşmektedir. Eğer bu reaksiyon reperfüzyonun olduğu dokuyu veya organları lökositler tarafından salgılanan sitokin, kemokin ve proinflamatuvar metabolitler yoluyla etkilemeye devam ederse oluşan inflamasyon kan yoluyla tüm vücuda yayılabilir (Ampofo *et al.* 2017). İnflamasyon yanıtı sırasıyla aşağıdaki gibi gerçekleşmektedir;

Nötrofillerin damar endoteli ile etkileşimi,
Komplemanların aktivasyonu,
Sitokinler ve diğer faktörler.

Nötrofillerin damar endoteli ile etkileşimi

Reperfüzyonla oluşan hasaralarda nötrofillerin inflamatuvar yanıtı önemli bir rol oynamaktadır (Raup-Konsavage *et al.* 2018). Böylece dikkat çekicidir ki lökositler arasında nötrofiller iskemi reperfüzyon sonrasında ilk aktivite gösteren hücreler arasındadır (Yuan *et al.* 2017). Dolaşım kanındaki nötrofillerin inflamasyon bölgesine aşağıdaki basamakları geçerek ulaşabildikleri tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu olayla ilişkili olarak selektinler, β integrinler ve immünglobulin ailesine ait adhezyon moleküllerinin fonksiyonel olduğu anlaşılmıştır.

Endotele nötrofillerin zayıf bir şekilde bağlanması

Polimorf çekirdekli lökositlerden nötrofillerin P-selektin glikoprotein ligand-1 molekülü endoteldeki selektinler (E ve P) ile etkileşme girer ve böylece lökosit endotele tutunabilir (Wang *et al.* 2019).

Endotele nötrofillerin sıkıca bağlanması

Nötrofiller zarlarındaki β integrin proteinleri ile endoteldeki intrasellüler adezyonda görev alan ICAM-1 reseptörlerine bağlanarak sıkıca bir araya gelirler. Araştırmacılar, nötrofillerdeki β integrin ekspresyonunun trombosit uyarıcı faktör, serbest oksijen radikalleri ve leukotrien B4 gibi moleküllerle artırıldığını tespit etmişlerdir. Endoteldeki ICAM-1 ekspresyonun ise tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinler ile artırıldığı rapor edilmiştir (Lyck and Enzmann 2015).

Nötrofillerin göçü

Adezyon moleküllerinden olan trombosit endotel adezyon molekülü-1 ve ICAM-1 (immünoglobülin süper familyasından) nötrofillerin doku arasına doğru transferini sağlayarak ileriye doğru gitmelerine rehberlik ederler. Bu maddelerin yardımıyla

inflamasyon alanına nötrofillerin göç etmelerine ‘transmigasyon (göç)’ denilir. Hipoksik durumdaki dokularda ise interstisiyumda gözlenen aktif durumdaki nötrofiller belirgin hasarlara yol açabilirler. Gözlenen hasarların en önemli nedenlerinin nötrofillerin içindeki granüllerden, aşırı miktardaki reaktif oksijen türlerinden ve doku arasına bırakılan arasıdonik asit metabolitlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, nötrofiller içerdikleri granüllerinden salgılanan miyeloperoksidaz, kollajenaz, elastaz, proteaz, lipooksigenaz, fosfolipaz enzimleriyle ekstrasellüler matriksde yer alan protein tabiatındaki maddeleri sindirerek bozulmalarına yol açabilmektedirler (Gorudko *et al.* 2018).

Komplemanların aktive edilmesi

Kompleman sistemini oluşturan proteinlerin karaciğerde sentezlenerek kana verildikleri bilinmektedir. Yaklaşık olarak otuz kadar proteinden oluşan bu sistem doğal bağışıklığın kazanılmasında önemli bir rol oynamaktadır. İnflamasyon sonrasında normalde plazmada inaktif durumda olan enzimler aktifleşerek kompleman sisteme ait proteinleri aktif hale getirmektedir. Bu proteinler inflamasyon sahalarında kan damarlarının genişlemesine (vazodilatasyon), damar geçirgenliğinin artmasına (vasküler permeabiliteye) ve fagositik hücrelerin damar endoteline adezyonuna neden olurlar (Wang *et al.* 2019). Kompleman sistemin aktivasyonu ile birlikte anafilatoksinlerden (C3a ve C5a) ve kompleman reseptörlerinden (C3bi ile C5b-9) gibi proinflamasyona neden olabilecek komponentler oluşur ve bu komponentler yoluyla lökositlerin aktivasyonu gerçekleşerek kemotaksik göçün başlaması vuku bulur. Aynı zamanda kompleman sistemin aktifleşmesi endotel hücrelerindeki Nükleer faktör-kappa B’yi aktive ederek hem endotel hücreleri hem de nötrofillerin yüzeyindeki ICAM-1, L-selektin, P-selektin ve damar hücrelerinde yer alan adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi proteinlerin transkripsiyonlarını artırır. Kompleman sisteme ait C3bi’nin endotel yüzeyine nötrofillerin adhezyonunun kolaylaştırdığı tespit edilmiştir. C5b-9’un ise endotel üzerindeki monositleri dokuya yönlendirecek IL-8 ve protein-1’in sentezini sağlamak suretiyle lökositlerin aktivasyonunu ve kemotaksisini uyardığı bilinmektedir. Diğer taraftan, C5b-9’un vazodilatasyonu inhibe ederek endotel hücrelerinden siklik

guanozin monofosfat (cGMP) gibi bir ikinci habercinin salgılanmasını azalttığı ve bu nedenle de damar duvarındaki düz kas tonusun bozulmasına yol açtığı rapor edilmektedir (Akk *et al.* 2019).

Sitokinler ve diğer faktörler

Canlıların çeşitli hücreleri tarafından üretilip salgılanan sitokinler organizmada inflamasyonun başlaması, hücre bölünmesi, doku onarımı ve ayrıca enfeksiyon olaylarında sistemik yanıtın başlatılıp inflamasyonun düzenlenmesi bakımında en önemli role sahip polipeptid özelliğindeki proteinlerdendir. Bu haberciler çoğunlukla endotel hücreleri, fibroblast, makrofaj, lenfositler tarafından üretilmekle birlikte birçok farklı hücre tarafından da salgınlabilmektedirler. Ayrıca sitokinlerin doku ve damar duvarlarının kontraksiyonlarında da önemli bir role sahip oldukları bilinmektedir. Hücrelerden salgılanarak kan yolu ile hedef hücrelere giden sitokinler otokrin, parankrin ve endokrin etkilere sahiptirler (Marinucci *et al.* 2003; Capozzi *et al.* 2019; Rashad *et al.* 2019). IL-1 β , TNF- α ve IL-6 gibi sitokinler doğal bağışıklıkta en önemli rol oynayan haberciler arasındadırlar. İskemi/reperfüzyon hasarı sırasında aktif makrofaj hücrelerinden TNF- α 'nın salgılandığı ve inflamatuvar yanıtın başlamasını sağladığı rapor edilmektedir. TNF- α 'nın hücre yüzeylerinde reseptörlere bağlanarak etkinlik gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu habercilerin özellikle enfeksiyon durumunda damar duvarındaki endotel hücrelerinin yüzeylerinde yeni reseptörlerin oluşturulmasına aracılık ettikleri, adezyon moleküllerinden olan endotel lökosit adezyon molekülü (ELAM-I), nöral hücre adezyon molekülü (NCAM-I) ve ICAM-I ile de hücrelerin daha da yapışkan hale getirilmesini sağladıkları rapor edilmektedir. Bunlardan başka nötrofillerin endotele daha sıkı bağlanmalarına aracılık ettikleri de bilinmektedir. Kısacası TNF- α 'nın dokular arasına polimorf nükleer lökosit geçişi ve bunlara bağlı hasarlara neden olduğu anlaşılmıştır (Yu *et al.* 2016). Üstelik, TNF- α sitokininin monositler, lenfositler ve damar endotel hücreleri üzerinde de etkili olarak IL-6 ve IL-1 β gibi diğer sitokinlerin dolaşım kanına bırakılmalarını uyardıkları tespit edilmiş bulgular arasındadır (Mancini *et al.* 2018). Araştırmacılar aşırı düzeydeki TNF- α

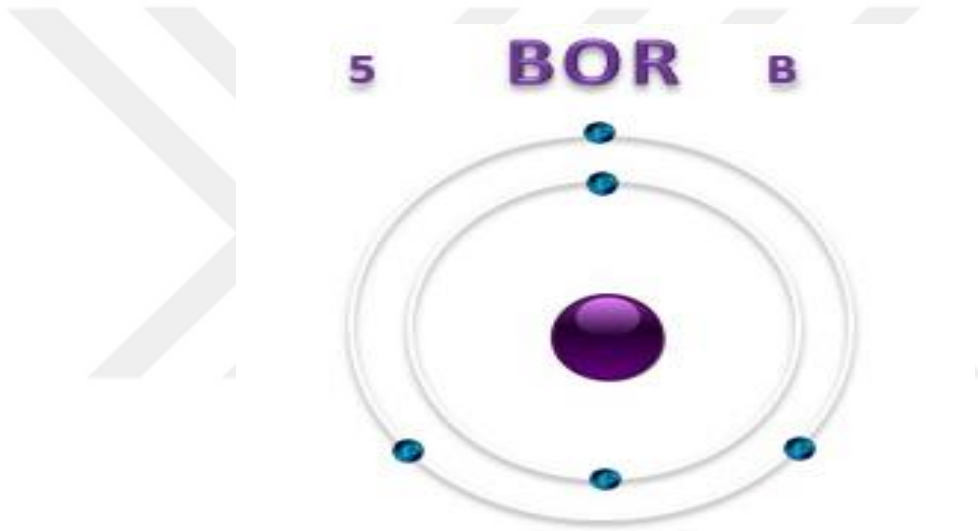
salınımının damar duvarındaki düz kasları gevşeterek kan basıncını azalttığı ve böylece de kanın doku arasına süzülmesini zorlaştırdığını taspit etmişlerdir.

TNF- α 'nın etkileri düz kas hücreleri üzerinde ya doğrudan ya da damar endotel hücrelerinden salgılanan nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi damar gevşetici moleküller yoluyla dolaylı olarak gerçekleşir. Bu sitokin salgılanan bu haberci moleküller vasıtasıyla önemli derecede sitotoksik etkilere neden olabilir. Aynı zamanda aktif haldeki mononükleer fagositler IL-1 β gibi inflamatuvar mediyatör oluşumu için de aracılık ederler. TNF- α 'ya benzer biyolojik etkinliğe sahip olan IL-1 β 'in aktivitesi dolaşım kanındaki sitokin miktarına bağlı olarak gerçekleşir. Söz konusu mediyatör düşük konsantrasyonda bile lokal inflamatuvar yanıtlara aracılık edebilir. Mononükleer fagositik hücreler ve damar endoteline etkisiyle IL-1 β habercisi kendi ifadesinin daha da fazla artırılmasını ve ayrıca IL-6'nın oluşumunu da başlatma özelliği sergiler. Aynı zamanda IL-1 β , lökositlerin bir araya toplanabilmesi için endotel hücreleri üzerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu da artırabilir. Ancak IL-1 β doğrudan doğruya doku hasarına katılmazken TNF- α ile başlatılmış hasarların büyümesine neden olur. T lenfositler tarafından salgılanan IL-6 yaklaşık olarak 26 kD ağırlığında bir proteindir. Hem TNF- α hem de IL-6 iskemi/reperfüzyon hasarının gösterilmesinde önemli haberci moleküllerdir (Güvenç *et al.* 2019).

NO, endotel hücreleri tarafından üretilen ve oluşmuş süperoksit radikallerini nötralize eden önemli bir haberci moleküldür. NO molekülü endotel hücrelerinde kalsiyum-kalmodulin bağımlı nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile oluşturularak damar gevşetici ve aynı zamanda trombosit agregasyonunu inhibe edici etki yapmaktadır (Eltzschig and Eckle 2011; Strand-Amundsen *et al.* 2018). Nitrik oksit sentaz enzimi ise en fazla sinir sisteminde olmak üzere damar endotellerinde, trombositler ve diğer birçok dokuda mevcuttur.

1.5. Bor

Periyodik tabloda yer alan bor elementi B simgesi ile gösterilir. Bu element yarı iletken özelliklere sahip metaloit özelliktedir. Bor elementinin atom numarası 5 ve atom ağırlığı 10.81 olduğundan periyodik tabloda IIIA grubunun ilk ve en hafif üyesidir (Şekil 1.15). Doğada tek başına bulunmadıklarından başka elementlerle bileşik şeklinde bulunurlar. Yaklaşık 230 çeşit bor elementi bulunmaktadır. Bunlar arasında bor oksit (B_2O_3) ve borik asit (H_3BO_3 , BA) en basit yapılı olanlarıdır.



Şekil 1.15. Bor elementinin atom sayısı (Anonim 2019m)

Bor bileşiklerinden en önemlileri kalsiyumla birlikte bileşik oluşturan kolemanit, kalsiyum-sodyum birlikteliğine sahip üleksit ve sodyumla bağlı olan borakstır (Uluisik *et al.* 2018). Bor elementi, en fazla borik asit ve boraks olarak topraklarda, volkanik kayalarda, içme sularında, denizlerde ve atmosferde rastlanmaktadır. Bor, nükleer sanayinde, ilaç sanayinde, gübre sanayinde ve otomobil sanayisi başta olmak üzere dört yüzden fazla alanda kullanılmaktadır ve her geçen gün bor kullanımının attığı görülmektedir. Borun temel kullanım alanları: seramik sanayi, cam, bilgisayar üretimi ve elektronik, otomobil sanayi, metalürji, enerji, inşaat sektörü, kağıt ve kimya sanayi ve en önemli ise de tıp alanıdır. Bor mikrop öldürücü özelliğinden dolayı ilaç sektöründe, dezenfektanlarda, göz yıkama solüsyonlarında, diş macunlarında, ağız

gargaralarında ve antiseptiklerde tercih edilir. Bor madeninin kullanım alanlarını göz önüne aldığımızda çok büyük stratejik önem taşıdığı gözlenmektedir (Hazman *et al.* 2018). Türkiye, Rusya ve ABD'de çok sayıda bor yatağının olduğu görülmektedir. Dünya bor rezervleri B₂O₃ kaynağı bazında toplam 885 milyon tondur. Bu rezervlerde Türkiye'nin payı %64 iken, Amerika'nın payı ise %9 dur. En büyük rezervlere sahip olup bor dünya piyasasının fiyatlarını belirleyebilecek olan ülke Türkiye olmasına rağmen ABD bor üretimi açısından 2011 yılından beri B₂O₃ bazında 650.000 ton ile en büyük üretici olmuştur. Hemen peşinde ise 517.000 ton ile Türkiyedir (Karimvand *et al.* 2019).

Borik Asit ve boraks

Pekçok sanayi alanında kullanılan borik asit, dünyanın çeşitli yerlerinde olduğu gibi Türkiye'de de üretilmektedir. Borik asit; bor alaşımları, antiseptikler, yangı geciktirici, nükleer, naylon, gübre, tekstil, katalist, cam, cam elyafı, emaye ve sır sanayilerinde kullanılmaktadır. Borik asit Türkiye ve Avrupa ülkelerinde kolemanitten üretilmektedir. Batı Avrupa'daki tesisler yaklaşık 100.000 ton borik asit üretime sahip olup genellikle Türk kolemanitlerini kullanmaktadır. Borik asit, Türkiye'deki Etibank'ın Bandırma'daki tesisinde üretilmektedir. Türkiye'de tıkal yatakları bulunmadan önce Bandırma borik asit ve boraks fabrikaları kurulmuştur. 1967 yılında ise kolemanitten boraks ve borik asit üretimi başlamıştır (Aydın *et al.* 2003) (Şekil 1.16 ve 17).



Şekil 1.16. Türkiye’deki Etibank’ın Bandırma tesisleri (Anonim 2019n)



Şekil 1.17. Borik asit (Anonim 2019o)

Kolemanitten borik asit oluşturmak için cevher kırılarak, kalsine edilmekte ve ince toz şekline getirilmektedir. Sonrasında seyreltilmiş ana çözelti ve sülfürik asit karıştırılıp hızlı bir şekilde reaksiyona girmesi sağlanmaktadır. Yan ürünler ise filtrasyon ve kalsiyum sülfat ile çökeltme yapılarak ile ayrılmaktadır. Borik asit filtratın soğutulması ile kristal haline getirilir. Türkiye’de borik asit üretimi tüketiminden daha fazladır. Borik

asit'in tüketimi yurt içinde 2000 ton kadardır. Aynı zamanda yılda yaklaşık olarak 15.000 ton borik asit ihracı yapılmaktadır. Borik asit çok özel amaçlar için çok az miktarda ithal edilir ama bunların dışında ithal edilmemektedir. Üretim kapasitesinin ve ihracatın artması için bu bileşik üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Diğer taraftan, B_2O_3 ticaret için önem arz etmektedir. Borik asitten uygun sıcaklıkta su kaybettirilerek B_2O_3 elde edilmekte ve saydam cam görüntüsü oluşturulmaktadır. Oda sıcaklığında ise higroskopik hale gelebilmektedir. Bundan dolayı da bor oksit %1 su içerdiğinde ticari olarak kullanılabilir (Taylan *et al.* 2007).

1.6. Propolis

Propolis, bal arılarının bitki tomurcukları ve dokularından toplayarak oluşturdukları balmumunu tükürükle birleştirdikten sonra kovan tamiri ve dezendektan malzemesi olarak kullandıkları reçineli ve yumuşak bir maddedir (Şekil 1.18). Propolis aynı zamanda "arı tutkalı" olarak adlandırılmaktadır. Yunanca "pro" ve "polis" kelimelerinden oluşan "propolis" şehir ya da topluluğun savunulması anlamına da gelmektedir. Bununla birlikte propolis kovanın iç sıcaklığını ($35^{\circ}C$) korumak amacıyla kullanılmaktadır. Propolisi genellikle yumuşak ve yapışkan hale getirmek için ısıtmak gerekir. Ancak propolisin ham madde olarak kullanılması zararlıdır. Nitekim yeterince malzeme bulamayan bal arıları propolis oluşumunda asfalt ve boya gibi insan sağlığına zararlı içerikleri de kullanabildiklerinden dolayı ham propolisin kullanılması tehlikelidir (Kuropatnicki *et al.* 2013).



Şekil 1.18. Propolisin genel görünümü (Anonim 2019ö)

Propolisin kimyasal ve fiziksel özellikleri

Propolisin sıcaklığa bağlı olarak (10°C nin altında) sertliğinden dolayı kırılgan bir yapıda olduğu, derin dondurucu içerisinde ise katılaşarak toz haline gelebildiği bilinmektedir. Diğer taraftan, yüksek sıcaklıklarda (80°C 'de) kısmi bir şekilde eridiği, orta sıcaklık seviyelerinde ise ($30-40^{\circ}\text{C}$ arasında) ise yumuşaklığını koruyarak yapışkan bir kıvam aldığı bu yüzden de yazın çalışan arıların işlerini zorlaştırabileceği kaydedilmiştir. Propolisin koku, renk ve biyolojik özelliklerinin mevsime, bölgedeki bitkilere ve koloniye göre değiştiği de rapor edilmektedir. Aynı zamanda söz konusu doğal arı ürününün kimyasal bileşimi coğrafik şartlara ve toplandığı bitkilerin kökenlerine göre de önemli değişiklikler sergileyebilmektedir. Ham haldeki propolisin bileşiminin yarıya yakınına reçine daha az bir kısmını ise balmumu oluşturmaktadır. Ayrıca içeriğinde uçucu yağlar, polen ve diğer organik bileşikler bulunmaktadır. Organik bileşikler arasında flavonoidler, fenolik bileşikler, terpenler, beta-steroidler, esterler, alkoller ve aromatik yapıdaki aldehidler oluşturmaktadır. Propolisteki flavonoidler çeşitli olup bunlar arasında krizin, asasetin, pinosembrin, routine, kaemferol, luteolin, myrisetin, naringenin, apigenin, kuersetin, katekin ve galangin sayılabilmektedir. Aynı zamanda sinnamik ve kafeik asit gibi fenolik asitler ile elektroforezle ayrıştırılabilen

resveratrol adlı bir stilben türevi bulunmuştur. Propolisin bileşiminde önemli B grubu vitaminler (Tiamin, Riboflavin, Piridoksin), C ve aynı zamanda E vitaminleri ile sodyum, potasyum kalsiyum, magnezyum, demir, bakır, çinko ve manganez gibi yararlı mineraller bulunmaktadır. Hücre içinde önem arz eden enzimlerden olan adenosin trifosfataz, glikoz-6-fosfataz, asit fosfataz ve suksinik dehidrojenaz gibi birkaç enzim de propolisin içeriğinde tespit edilmiştir. Asya, Amerika ve Avrupa propolislerinin önemli bir bileşiği kafeik asitin fenil esteridir.. Brezilyanın yeşil propolisi ise kafeik asit türevlerinin yanı sıra karakteristik bir şekilde sinamatik asit, artepilin C ve 3,5-diprenil-4-hidroksisinnamik asite sahiptir. Ayrıca söz konusu propolislerin bileşimlerinde aldehitler, ketonlar, hidrokarbonlar ve organik asitler ve minerallere de rastlanmaktadır (Elnakady *et al.* 2017; Devequi-Nunes *et al.* 2018; Zancanela *et al.* 2019).

Propolisin Kozmetik Sanayinde Kullanımı

Tıptan kozmetik sanayine kadar farklı alanlarda ve farklı formlarda kullanılan propolis, ülkemizde de yaygın bir şekilde kullanılmaya başlamıştır (Groot 2013). Propolisin hücre onarma ve yenileme özelliği bunun kozmetik ve dermatolojik bir ürün olarak kullanılmasını sağlamıştır. Bu durum propolisin mantar öldürücü ve bakterisit özellikleriyle ilişkili olarak geliştirilmiştir (Garcia-Mazcorro *et al.* 2019). Ayrıca propolis özütleri E vitamini ve arı sütü ile birlikte kullanılarak kozmetikte cilt temizleyici ve besleyici solüsyonlar hazırlanmıştır. Günümüzde de sabunlar, şampuanlar, yüz maskeleri, kremler, burun spreyleri ve diş macunlarının içine propolis katılarak kozmetikteki ticari ürün sayısının artırılması hedeflenmektedir (Doğan ve Hayoğlu 2012) (Şekil 1.19).



Şekil 1.19. Propolis sabunu (Anonim 2019p)

Propolisin İlaç Sanayinde Kullanımı

Propolis; kanser, sindirim rahatsızlıklarına bağlı hastalıklar, egzema gibi deri hastalıkları, anemi, solunum yolu hastalıkları, yanık ve mikozis gibi yaraların tedavisi ile müköz zarların enfeksiyonlarında ve ayrıca bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi amacıyla ilaç olarak da geliştirilmeye çalışılmaktadır (Ceyhan ve Yiğit 2016). Ancak halk arasında yaygın olarak kullanılmasına rağmen içeriğinin toplandığı bölgeye göre değişmesi, sentetik yollarla elde edilememesi, standardizasyon problemlerine sahip olması nedenleriyle modern tıpta ilaç olarak teklif edilme aşaması için sınırlı uygulamalara sahip durumdadır. Bununla birlikte, son yıllarda sentetik ilaçların advers etkiler sergilemesi ve hastalıklara karşı yeterince tedavi edici özelliklerinin olmayışı sonucu insanların doğal ilaçlara yeniden eğilimi söz konusu olmaktadır. Bundan dolayı da arı ürünleri tıpta alternatif değil destekçi olarak önem kazanmaya başlamıştır (Keskin ve Kolaylı 2019) (Şekil 1.20).



Şekil 1.20. Propolisin ilaç sanayinde kullanım (Anonim 2019r)

Yukarıdaki bilgiler ışığında iskemi süreci, etkilenen dokulara kan desteğinin kesilmesiyle ortaya çıkan ve sıklıkla geri dönüşümsüz iskemik hasara yol açan ciddi bir durumdur. İskemik sürecin uzunluğuna bağlı olarak gelişen reperfüzyon, hücrel hasara ve reperfüzyon hasarı olarak bilinen organ fonksiyon bozukluğuna neden olan geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz komplikasyonlar zinciridir (Pang *et al.* 2018).

Propolis, arılar (*Apis mellifera*) tarafından üretilen anti-nörotoksik, anti-viral, anti-bakteriyel, anti-kanser ve anti-oksidan etkilere sahip doğal bir biyoaktif reçinedir. Bu önemli özellikleri nedeniyle bu doğal bileşik kalp hastalığı, diyabet ve kanser hastalıklarının tedavisi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Mounieb *et al.* 2017; Wassel and Khattab 2017; Goes *et al.* 2018). Propolis'in tıp ve eczacılıkta farmakolojik açıdan umut verici roller sergilediği düşünülmektedir (Peng *et al.* 2016). Ancak araştırmacılar bu doğal bileşiğin insan sağlığını geliştirmek veya hastalıkları önlemede aracılık ettiği mekanizmaların hala belirsizliğini koruduğunu rapor etmişlerdir (Huang *et al.* 2018). Bu noktada klinik çalışmalar, beklenen sonuçlar ışığında kritik teklifler sunmaya yardımcı olacaktır. Bor, hayvanlar ve insanlar için önemli ve çok işlevli bir mikro elementtir (Farfán-García *et al.* 2016). Bor elementi inflamatuvar süreçte merkezi sinir sistemi, endokrin sistem ve mineral metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (Ku and Chapin 1994). Farklı çalışmalar, borun bitkilerde normal üreme fonksiyonu için önemli olduğunu da göstermiştir (Gallardo-Williams *et al.* 2003). Aynı zamanda,

borun toksik dozları insanlarda ve hayvanlarda üreme organlarının gelişmesini önemli ölçüde engelleyebilmektedir (El-Dakdoky *et al.* 2013; Duydu *et al.* 2016). Bor bileşikleri antiparaziter, anti-bakteriyel, anti-fungal ve anti-oksidan aktiviteler de dahil olmak üzere ilginç ve pek çok faydalı biyolojik özellikler göstermektedir (Hunt 2012; Bello *et al.* 2018). Bor içeren bileşikler, son on yıl boyunca ilaç endüstrisi ve akademik açıdan büyük ilgi görmüştür. Bununla birlikte, borun üreme sistemleri üzerindeki ayrıntılı etkisi belirsizdir. Bu nedenle, sağlığı korumak için vücuda uygun dozlarda bor girişi gereklidir.

Özellikle ergenlerde ve genç erişkinlerde, yumurtalık iskemi ve reperfüzyon hasarı bu organın fonksiyonlarının kaybı için önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmiştir. Zamanında tanı ve müdahale, etkilenen yumurtalığın kurtarılması ve daha sonra yaşanacak olan olası kısırlığın önlenmesinin anahtarı olarak kabul edilmiştir (Srivastava and Mehta 2009). Literatürde birçok çalışma olmasına rağmen iskemi/reperfüzyon hasarı klinik olarak ciddi bir problem olmaya devam etmektedir (Sayyah-Melli *et al.* 2012; Sasaki and Miller 2014). İskemi ve sonrasında reperfüzyon hasarı başladıktan birkaç saat sonra serbest radikal üretiminin artmasına ve inflamatuvar yanıtın gelişmesine neden olmaktadır (Schubert and Thome 2008). İskemi/reperfüzyon hasarlarının gelişmesinde oksidatif stres merkezi rol oynarken, anti-oksidan tedavilerin etkinliği tartışmalıdır (Sak *et al.* 2013).

Literatürdeki bulgulara dayanıldığında propolisin hücrelerdeki hedeflerinin tespit edilmesi ve bu doğal bileşikten yeni ilaçlar elde etme imkânlarının araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu kanaatine varılmıştır. Diğer taraftan, pre-iskemik tedavide bor bileşiklerinin koruyucu etkilerinin henüz araştırılmadığı literatür taraması sonucunda elde edilen bilgilerden anlaşılmaktadır. Böylece, mevcut çalışma ile öncelikle popolis ve borik asidin tek başlarına yumurtalık iskemi ve reperfüzyon hasarının tedavisi için etkili terapötikler olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği amaçlanmıştır. Ayrıca, bu çalışmanın ikinci amacını propolis ve borik asit kombinasyonunun sıçanlarda yumurtalık iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin ilk defa farklı mekanizmalar ışığında ortaya konulması oluşturmaktadır. Arı

ürünleri ile anti-oksidanların birlikte kullanılmasının ciddi iskemi ve reperfüzyon hasarlarının azaltılması ve sağlık üzerindeki faydalarının artırılarak potansiyel gücü daha fazla olan yeni ilaçların keşfinin sağlanabileceği amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Camacho-Cristóbal *et al* (2008), bor elementinin yüksek bitkilerin normal büyümesi için önemli bir mikrobesein olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı zamanda bor mevcudiyetinin tarımsal üretim artırmak için önemli bir belirleyici olduğunu ortaya koymuşlardır. Şimdiye kadarki çalışmalarda, bor elementinin önemli fonksiyonlarından birisinin hücre plazma membran fonksiyonlarının korunması ile ilgili olduğunu ifade etmişlerdir. Günümüzde, hücrelerde çeşitli metabolik yollar üzerinde de borun olası rolleri ile ilgili artan kanıtların olduğunu beyan etmişlerdir. Böylece, yapılmış çalışmalarla son yıllarda bitkilerde bor eksikliğinin ve toksisite tepkilerinin moleküler temeli hakkındaki bilginin önemli bir şekilde arttığını rapor etmişlerdir.

Demirtaş *et al* (2011), iskemi-reperfüzyon modellerinde doku ve sistemik kan dolaşımındaki oksidatif ve antioksidatif durum üzerine pentoksifilinin (Ptx) etkili olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, biyokimyasal parametrelerde, kan ve böbrek doku MDA ve toplam peroksit (t-Prx) düzeyleri üzerinde Ptx (pentoksifilinin) verilen grupta diğer tüm gruplarla kıyaslandığında belirgin bir şekilde azalma olduğunu belirtirken kan toplam antioksidan kapasitesi (TAK düzeyi) üzerinde Ptx uyguladıklarında kontrol ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar tespit etmişlerdir. Sonuç olarak iskemi- reperfüzyon sonrası oluşan oksidatif stres ve doku hasarlarının iskemide oluşan hasardan daha büyük olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak, bu hasarın pentoksifilinin verilmesi ile özellikle doku oksidan düzeyinin olumlu yönde etkilenmesi ile ciddi hasarların önlenebildiğini beyan etmişlerdir.

Yigiter *et al.* (2011) ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde büyüme hormonun (GH) bir anti-oksidan ve doku koruyucu ajan olarak etkilerini değerlendirmek için iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturmuşlar ve sıçan yumurtalıklarındaki biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri analiz etmişlerdir. Biyokimyasal parametrelerde büyüme hormonun SOD ve KAT seviyelerini düşürürken, ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarı nedeniyle lipid peroksidasyon seviyelerini aşırı derecede yükselttiğini saptamışlardır

Karamese *et al.* (2015), beta-karotenin sıçan ovaryum iskemi-reperfüzyon modeli üzerindeki etkilerini oksidatif strese bağlı olarak araştırmışlardır. Hem iskemi hem de iskemi-reperfüzyon gruplarında yoğun hemorajik alanlar gözlenirken bu antioksidanın etkisiyle tedavi gruplarında en az hemoraji olduğunu tespit etmişlerdir. İmmünohistokimyasal olarak NF- κ B incelendiğinde ovaryum iskemi ve iskemi-reperfüzyon gruplarında aşırı derecede immünreaktivite görülürken, beta-karoten uygulanmasından sonra NF- κ B immünoreaktivitesinin belirgin bir şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. Diğer taraftan IL-1 β , IL-6 ve iNOS ekspresyonunun belirgin bir şekilde arttığını, MDA düzeylerinin anlamlı bir şekilde yükseldiğini aksine SOD ve GSH düzeylerinin azaldığını gözlemişlerdir. Sonuç olarak ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarında güçlü bir antioksidan olan beta karotenin koruyucu etkisini ortaya koymuşlardır.

Atik ve Gümüş (2017), yapmış oldukları çalışmalarında propolisin anti-bakteriyel, antioksidan, antifungal ve antikanserojen özelliklere sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Günümüzdeki sağlıklı beslenmeye yönelik doğal gıdaların tüketicinin talebini artırdığını ve propolisin az bilinen arı ürünlerinden birisi olduğunu ve bazı hastalıkları tedavi etmek için kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu durumun propolisin çeşitli endüstri dallarında kullanımına yönelik çalışmalara da desteklendiğini öne sürmüşlerdir.

Ortadeveci *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmalarında sepsis, şok, hidronefroz, açık böbrek ameliyatları, parsiyel nefrektomi, renal transplantasyon, kronik böbrek yetmezliği veya renal tümörler için nefron koruyucu cerrahi girişimler gibi bir çok durumun böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına sebep olabileceğini rapor etmişlerdir.

Bojić *et al.* (2018), propolisin insan sağlığı üzerinde anti-bakteriyel, anti-viral, anti-kanser, hepatoprotektif, immünomodülatör ve diğer biyolojik aktivitelerini göstermişlerdir. Bu olumlu etkilerin öncelikle flavonoidlerin ve fenolik asitlerin içeriğiyle ilişki olduğunu saptamışlardır. Aynı zamanda, trombosit agregasyonu, inme, kalp krizi ve kardiyovasküler hastalıklara karşı da faydalı etkilerinin olabileceğini belirtmişlerdir. Avrupa ülkelerindeki propolis çeşitlerini kapsamlı bir şekilde

incelemişler ve propolis etanolik ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca bu ekstraktın anti-fungal etkilerinin olduğunu da rapor etmişlerdir. Bu ekstraktlardaki toplam polifenollerin ortalama içeriğinin 136.14 mg/g ve 59.23 ila 277.39 mg/g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Diğer tarafta toplam flavonoid içeriğinin ise ortalama 19.28 mg/g değeri ile 6.83 ve 55.44 mg/g arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmalarının sonucunda, propolisin kan örnekleri üzerinde trombosit agregasyonunu engelleyen anti-agregant aktiviteye sahip etkilerinin bulunduğu teklifini yapmışlardır.

Nayki *et al.* (2018), çalışmalarında ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturarak flavonoid glikosid etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, biyokimyasal ve histokimyasal incelemeleri sonucunda iskemi-reperfüzyon grubu sıçanlarda doku antioksidan seviyelerinde düşme, malondialdehit (MDA), tümör nekroz faktörü α (TNF- α) ve interlökin-1 β ifadelerinde yükselme olduğunu kaydetmişlerdir. Glutasyon (GSH), Siklooksijenaz-1 (COX-1) ve Siklooksijenaz-2 (COX-2) seviyelerinin ise aşırı derecede yükseldiğini belirtmişlerdir. Sıçanlarda iskemi-reperfüzyon üzerinde flavonoid glikosidin antioksidatif ve antienflamatuar etkileriyle yumurtalıkları iyileştirdiğini saptamışlardır.

Şentürk *et al.* (2018), iskemi- reperfüzyonun neden olduğu uzak doku pankreas hasarına karşı doza bağımlı borik asidin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. İskemi-reperfüzyon hasarının etkilerini belirleyebilmek amacıyla kan üre azotu ve kreatin değerlerini değerlendirmişler ve uzak doku hasarını belirlemek için de insülin, glukoz ve amilaz seviyelerini ölçmüşlerdir. Pankreas dokusu üzerinde iskemi-reperfüzyona bağlı oksidatif stres hasarının oluştuğunu ve borik asidin doku antioksidan seviyeleri üzerinde düzenleyici etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak, borik asidin KAT ve SOD enzimlerinin aktivitelerini artırdığını, GSH ve MDA üzerinde düzenleyici rolünün bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Geyikoğlu *et al.* (2019), böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde propolis ve borik asitin terapötik rollerini ve olası mekanizmalarını belirlemek için çalışma yapmışlar ve araştırmalarının sonucunda propolis ile birlikte borik asit kullanımının anti-oksidan, anti-enflamatuar ve anti-apoptotik etkilerine bağlı olarak iskemi-reperfüzyonun neden olduğu böbrek hasarlarını iyileştirdiğini tespit etmişlerdir.



3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu araştırma, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Hayvan Fizyolojisi ve Histoloji laboratuvarında yapıldı.

3.2. Denekler ve Çalışma Protokolü

Deneysel çalışmalarda Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezinde yetiştirilmiş Sprague-Dawley cinsi sıçanlar (250-270 g) kullanıldı. Söz konusu merkezden Etik Kurul İzni (08.08.2016 no:129) alınarak hayvanların bakımı ve kullanımında Etik Kurul şartlarının sağlanmasına özen gösterildi. Çalışma boyunca 12 saat aydınlık ve karanlık siklusunda tutulan hayvanlara standart fabrikasyon pelet yem verildi ve musluk suyu içirildi.

3.3. Kullanılan Biyokimyasal Maddeler

Glasiyel asetik asit (CH_3COOH)	SİGMA
Sevofluran	SİGMA
8-OHdG	SANTA CRUZ
Süper oksit dismutaz (SOD)	SunLong Biotech
Katalaz (KAT)	SunLong Biotech
Malondialdehit (MDA)	SunLong Biotech
Glutasyon (GSH)	SunLong Biotech
Lipid peroksit (LPO)	SunLong Biotech
Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α)	SunLong Biotech
Hematoksilen & eosin (H&E)	MERCK
Etanol	MERCK

Entellan	MERCK
PBS (Fosfat tampon solüsyonu)	MERCK
DAP (3,3'- diaminobenzidine)	MERCK
Sitrat tamponu	MERCK
Formalin (CH ₂ O)	MERCK

3.4. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar Çizelge 3.1’de gösterildi.

Çizelge 3.1. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar

Alet ve Cihazlar	Temin Edildiği Firma
Mikrotom	Leica RM 2255, Germany
Doku bloklama	Leica EG 1160, Germany
Işık mikroskobu	Olympus BH 40, Japan
Etüv	Heraeus FB 420, Germany
Hassas terazi	Sartorius AG, Germany
Otomotik pipet	Finpipette Labsystems, Finland
Santrifüj	Heraeus 4600, Germany
Spektrofotometre	Beckman DU 500, USA

3.5. Kullanılan Boya ve Çözeltilerin Hazırlanması

Histopatolojik işlemlerde kullanılmak üzere çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlandı.

Nötral tamponlu formalin (NTF) hazırlanışı

- Disodyum hidrojen fosfat, Na₂HPO₄ (6,5 g)
- Sodyum fosfat monobazik dihidrat NaH₂PO₄·2H₂O (4 g)
- Distile su (900mL)

- %40'lık formalin (100 mL)

Asit alkol solüsyonunun hazırlanışı

- HCl (10 cc)
- Etil alkol (300 cc)
- Distile su (700 cc)

Antikorun sulandırılması

- 1/50 → 49ml (antijen) + 1ml antikor
- 1/100 → 99 ml(antijen) + 1ml antikor
- 1/200 → 995ml (antijen) + 1ml antikor

DAP hazırlanması

- 2 ml DAP substrat
- 1 damla DAP kromajen

PBS solüsyon hazırlama

- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ → 3.710 ml
 - NaH_2PO_4 → 0.98 ml
 - NaCl → 14.4 ml
- } 2 lt

Antijen Retrivol hazırlaması

- 30 cc → sitrat tamponu
- 270 cc → distile su

3.6. Çalışmanın Deney Grupları

Araştırmada Sprague Dawley (40 adet) dişi sıçan kullanıldı ve her bir grupta yedi hayvan olacak şekilde deney grupları oluşturuldu.

Oluşturulan gruplar sırasıyla aşağıdaki gibi adlandırıldı.

1. **Grup:** Kontrol grubu
2. **Grup:** İskemi /reperfüzyon (İ/R) grubu
3. **Grup:** İskemi/reperfüzyon + borik asit (7 mg/kg) grubu
4. **Grup:** İskemi/reperfüzyon + propolis (100 mg/kg) grubu
5. **Grup:** Borik asit (7 mg/kg) + propolis (100 mg/kg) grubu

3.7. Cerrahi İşlemler

Sıçanlar 25 mg/kg dozda tiopentalsodyumla anestezi altına alındı. Karın bölgesinden lateral 2-3 cm kesi açılarak bu bölgedeki periton ve karın kasları geçilip overlere erişildi.

Grup 1. Kontrol grubu olarak kabul edildi. Bu grupta bulunan deneklerin sadece karın bölgesi açılarak, hiç bir uygulama yapılmadan kapatıldı. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek öldürülen hayvanların over dokuları alındı.

Grup 2. Anestezi ile bayıltılan sıçanların daha sonra her iki ovaryumuna klemp takılıp kan akışı durduruldu ve 3 saat iskemi oluşturuldu. Klempler açılarak 3 saat reperfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra yüksek doz sevofluran verilerek öldürülen hayvanların over dokuları alındı.

Grup 3. Sıçanlara oral yoldan gavajla 1 cc borik asit 7mg/kg verildi. Bu işlemin ardında 1 saat sonra hayvanlar anesteziye alınıp karın bölgeleri açılarak her iki ovaryuma klempler takıldı ve 3 saat iskemi oluşturuldu. Daha sonra klempler açılarak 3 saatlik reperfüzyon gerçekleştirildi. Sevofluran ile anestezi yapıp ovaryumları için çıkartıldı.

Grup 4. Sıçanlara oral yoldan gavajla 1cc propolis 100 mg/kg verildi. Bir saat sonra anestezi verilen hayvanların ovaryum bölgesi cerrahi olarak açıldı. Her ovaryumalarına 3 saat iskemi yapıldı. 3 saat iskemiye takiben yeniden 3 saat reperfüzyon uygulandı. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek öldürülen hayvanların over doku örnekleri alındı.

Grup 5. Son grupta ise sıçan ovaryumlarına oral yoldan gavajla peşpeşe propolis 100 mg/kg ve borik asit 7 mg/kg 1 cc miktarında verildi. Bir saat sonra anestezi verilen hayvanların ovaryum bölgesi cerrahi olarak açıldı. Ardından 3 saat iskemi metodu uygulandı. Daha sonra klempler açılarak 3 saat reperfüzyona bırakıldı. Hayvanlara ötanazi yapılarak over doku örnekleri alındı.

3.8. Histopatolojik Yöntemler

3.8.1. Mikroskopik işlemler

Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Hayvan Fizyolojisi ve Histoloji Laboratuvarlarında konvansiyonel ışık mikroskobu işlemleri gerçekleştirildi.

3.8.2. Doku takip işlemleri

Dokular akarsuda yıkanarak (4 saat) bekletildi. Fiksasyon sonrası dokuların rutin histolojik değerlendirilmesi yapıldı. Dokular bir saat musluk suyuna koyulduktan sonra, tüm numuneler kademeli olarak alkol serilerinden geçirilip dehidrasyon işlemi yapıldı:

1. %70'lik Alkolde 1 gece süreyle tutuldu
2. %80'lik Alkolde 1 saat süreyle tutuldu.
3. %96'lık Alkolde 1 saat süreyle tutuldu.
4. %96'lık Alkolde 1 saat süreyle tutuldu.
5. %100'lük Alkolde 1 saat süreyle tutuldu.
6. %100'lük Alkolde 1 saat süreyle tutuldu.

Deparafinizasyon işlemi için ksilen serilerinden numuneler geçirildi:

1. Ksilen I de 5 dakika, bekletildi
2. Ksilen II de 5 dakika bekletildi.

Parafin serilerinden geçirilerek doku infiltrasyon işlemi yapılması

58°C’de etüvden sonra dokular, parafin bloğun içine düz kısmı altı gelecek şekilde yerleştirildi ve dokuların üstü kapanacak şekilde tekrar parafin döküldü ve ardından soğumaya bırakıldı. Dokular parafin bloklara gömüldü ve kesit alma işlemlerine hazır hale getirildi.

Blokların kesilmesi

Parafin bloklardan mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve daha sonra lamalar üzerine dizildi. Elde edilen bu kesitler histokimyasal boyamalar ile boyanarak aynı kesit yüzeyine düşen hücrenin karakteri belirlenmiş oldu. Tüm boyamaların mikroskopik fotoğrafları, grupların değerlendirmelerinde objektif halde olması için aynı ışık ayarlarında çekildi.

3.8.3. H&E boyama metodu

1. Deparafinizasyon işlemi yapıldıktan sonra H&E boyama tekniği uygulandı
2. %100, %96, %80’lik alkol serisinde 5 dk bırakıldı
3. Alkollerden sonra distile suda 5 dk yıkandı
4. Hematoksilen boyasında 3 dk bekletildi
5. Çeşme suyunda preparatlar iyice yıkandı
6. Asit alkole 3 kez batırılıp çıkarıldı
7. Çeşme suyunda dokuların hemetoksilen boyaması gidene kadar iyice yıkandı
8. Eozin solüsyonda 30 sn bekletildi

9. %80'lik çıkış alkol serisine batırıp çıkarıldı
10. %96'lik çıkış alkol serine batırılıp çıkarıldı
11. %100'lik çıkış alkol serine batırılıp çıkarıldı
12. Entellan ile kapatma işlemi yapıldı.

İşlemler tamamlandıktan sonra preparatlar entellan ile kapatıldı (Bancroft and Stevens 1982).

3.9. Biyokimyasal Analizler

Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında biyokimyasal analiz işlemleri gerçekleştirildi. Deney sonunda hızlı bir şekilde elde edilen ovaryum dokuları disekte edilerek biyokimyasal incelemeler için -20°C'de saklandı. Dokuların enzim aktiviteleri en az üç gün içerisinde analiz edildi. Ovaryum dokusundan elde edilen homojenatların süpernatant kısmı alınarak SOD, KAT, MDA, GSH ve LPO aktiviteleri literatürlere dayalı uygun metotlar kullanılmak suretiyle oda sıcaklığında ölçümleri yapıldı.

Doku homojenatlarının hazırlanması

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak amacıyla PBS ile yıkandı.
2. Sıvı azot altında dokular iyice ezildi ve homejenize edildi.
3. 3.70 mM sükroz, 210mM mannitol ve 1mM etilen glikol-bis tetraasetikasit (EDTA) içeren pH'ı 7.2 olan doku başına 1 ml soğuk Reaktion buffer ile ultra turrax homojenizatörde buz üstünde 1 dakika boyunca homojenize edildi.
4. Bütün numuneler işlem bitene kadar + 4°C muhafaza edildi.
5. Parçalanmamış hücreler, çekirdekler ve hücre döküntüleri 2000 -3000 rpm 15 dakika süreyle 4°C'de santrifüjle çöktürüldü. Daha sonra ovaryum dokusunda süpernatant kısmı SOD, KAT, LPO, IL-6 ve MDA analizleri yapılınca kadar -80°C'de saklandı.

Kullanılan Reaktifler: Test tamponu (50 mM Tris-HCl, pH:0.8), 0.1 mM örnek tampon (50 mM Tris-HCl, pH:0.8), Radikal Dedektör (Tetrazolium tuzu), SOD, KAT, LPO, IL-6 ve MDA'nın Standartları.

Süpernatant kısmında ölçüm ve sandviç ELISA yönteminin yapılması;

Çalışmalar için homojenizatör, çözeltilerin hazırlanması için mezür, erlen ve beher, santrifüj tüpü, 10-100 ve 100-1000 µL'lik otomatik pipetler, tek kullanımlık pipet uçları, santrifüj cihazı ve spektrofotometre kullanıldı.

1. 0,15 N KCl tamponu hazırlandı, bu çözelti içine 1 gr doku 10 ml'ye tamamlanacak şekilde alınan dokular homojenize edildi.
2. Örnek plaka kuyucuklara standartlar ve süpernatlar konularak 37°C'de 30 dakika süreyle inkübe cihazıyla tespit edildi.
3. Daha sonra PBS solüsyonunda örnek plate kapakları yıkanıp HRP–konjugat reaktifi eklenerek 37°C'de 30 dk süreyle yeniden inkubasyonda bekletildi.
4. Örnek kuyucukları PBS solüsyonu yıkandıktan sonra, kromojen A ve B substratı ilave edilerek renk gelişimi için 37°C'de 15 dakika süreyle bekletildi.
5. Reaksiyonu durdurmak için stop çözeltisi ilave edildi ve optik yoğunluk 450 nm'de bir mikropilaka okuyucu kullanılarak ölçüldü.
6. Kullanılan tüm sandviç ELISA (SOD, KAT, GSH, LPO, MPO ve IL-6) kitleri için inkübasyon aşamasından sonra kitlere göre ortak prosedürler izlendi.

3.10. İmmunohistokimyasal Analiz

Işık mikroskopik incelemelerin yanı sıra immunohistokimyasal analizler için parafine gömülen dokulardan mikrotom cihazıyla 5 µm'lik kesitler alındı ve adezinli cam lamalar üzerine konulduktan sonra aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak boyama işlemi gerçekleştirildi.

3.10.1. Kaspaz 3, Tnf- α ve 8-OHdG immunohistokimyasal boyama metodları

1. Ovaryum doku preparatların 58°C 1 saat etüvde bekletildi
2. Ksilol I ve ksilol II'de 5 dk boyunca tutuldu
3. Alkollerde 3 dk süreyle tutuldu
 - %75 alkol 3 dk
 - %80 alkol 3 dk
 - %90 alkol 3 dk
 - %100 alkol 3dk
4. Distile suda 5 dk bekletildi
5. Hidrojen peroksitte 10 dk bekletildi
6. PBS'de 3 defa yıkandı
7. Antijen retivol solüsyonda mikrodalgada kaynatılıp bekletildi.
 - İlk aşamada - 5 dk kaynatılıp soğutuldu
 - İkinci aşamada -5 dk kaynatılıp soğutuldu
8. Soğutma yapıldı
9. PBS'de 3 defa yıkandı
10. Protein bloklama aşamasında DAP- Pen kalem ile dokunun çevresi çizilerek pipetle protein bloklama damlatıldı ve 10 dk boyunca tespit edildi.
11. Konjugasyon boyaması ile (primer antikor yeşil renkli olanından) birer damla dokuların üstü kapatılacak şekilde örtüldü (Tnf - α antikor) ve ardından PBS ile 3 defa yıkandı.
12. Sekonder antikorda (Biotinylated coat antikor polyvaları – Sarı renkli olan) 10 dk bekletildi.
13. PBS ile 3 defa yıkandı.
14. Streptovidin peroksidaz (Pembe renkli) 10 dk bekletildi.

15. PBS ile 3 defa yıkanıp DAP Plus Chromagen (etidyum promid gibi)'de 10 dk süreyle tutuldu. Tekrar PBS ile 3 defa yıkandı.
16. Hemotoksilen damlatılarak 2 dk bekletildi.
17. Çeşme suyunda yıkandı.
18. Alkollere batırıp çıkarıldı.
19. Ksilolde 5 dk bekletildi ve entellen ile kapatıldı.

Tnf- α için uygulanan bu basamaklar, 8-OHdG ve Kaspaz-3 antikorları içinde aynı şekilde takip edildi.

3.11. İstatistiksel Analiz

Varyans farkları, istatistiksel olarak Graphpad prizma 5.0 istatistik yazılım (GraphPad, La Jolla, CA, ABD) programı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanılarak yapıldı. Histopatolojik incelemede ise yarı-kantitatif yöntem kullanılarak elde edilen veriler arasındaki varyasyonları analiz etmek için parametrik Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Biyokimyasal Parametreler

Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi, sıçanlarda ovaryum iskemi/reperfüzyon (hasta) oluşturulması SOD, KAT ve GSH seviyelerinde kontrol grubuyla kıyaslandığında belirgin şekilde düşüslere neden oldu ($p<0.0001$). Öte yandan borik asit + iskemi/reperfüzyon gurubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında GSH ve KAT seviyelerinde anlamlı düşüşler görülürken, SOD seviyesinde dikkate değer şekilde artışa yol açtı ($p<0.0001$). Bununla birlikte borik asit + iskemi/reperfüzyon grubu hasta grubuyla kıyaslandığında SOD ve GSH aktivitesi belirgin bir şekilde yükselirken ($p<0.0001$), KAT seviyesinde istatistiksel anlamda herhangi bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Propolis + iskemi/reperfüzyon gurubu sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında ise SOD seviyesinde herhangi bir değişiklik olmadığı ancak KAT ($p<0.0001$) ve GSH ($p<0.0001$) aktivitelerinin belirgin şekilde düşük olduğu görüldü. Diğer taraftan propolis + iskemi/reperfüzyon grubu hasta grubuyla karşılaştırıldığında SOD ($p<0.0001$) ve GSH ($p<0.0001$) seviyelerinde belirgin artışlar meydana geldiği ancak KAT seviyesinde herhangi bir anlamlı değişiklik olmadığı görüldü ($p<0.0001$).

Ovaryum dokusunun borik asit + propolis + iskemi/reperfüzyon grubu (kombine tedavi) kontrol grubuyla kıyaslandığında SOD seviyesinin değişmediği, KAT seviyesinin düştüğü ($p<0.001$) ve GSH seviyesinin ise yüksek olduğu belirlendi ($p<0.0001$). Diğer taraftan bu kombine grup hasta grupla kıyaslandığında ise SOD ($p<0.0001$), KAT ($p<0.01$) ve GSH ($p<0.0001$) aktivitelerinin istatistiksel olarak yükseldiği ortaya çıktı. Borik asit + propolis + iskemi/reperfüzyon grubu, tek uygulanan borik asit + iskemi/reperfüzyon grubuyla kıyaslandığında ovaryum dokusunda KAT ($p<0.001$) ve GSH ($p<0.0001$) seviyelerinde önemli bir şekilde artış olduğu ve tek başına uygulanan propolis + iskemi/reperfüzyon grubuyla kıyaslandığında ise bu parametrelerde istatistiksel olarak herhangi bir farklılığın olmadığı gözlemlendi.

Çizelge 4.1. Ovaryum iskemi/reperfüzyonunda borik asit ve propolis SOD, KAT ve GSH aktivitelerine etkisi

Gruplar	SOD mmol/min/mg doku	KAT μmol/min/mg doku	GSH mmol/mg doku
Kontrol	2.23±0.7	1120±16.9	3.51±0.06
İ/R	0.30±0.04 ^{a4}	767.3±23 ^{a4}	2.58±0.03 ^{a4}
BA + İ/R	3.76±0.16 ^{a4, b4}	720±23.9 ^{a4}	3.16±0.04 ^{a4,b4}
Prop + İ/R	2.57±0.06 ^{b4, c4}	865±25.6 ^{a4,c2}	3.09±0.03 ^{a4,b4}
BA + Prop + İ/R	2.19±0.08 ^{b4, c4}	923±39.9 ^{a3,b2,c3}	4.62±0.04 ^{a4,b4,c4}

Veriler ortalama ± SEM olarak sunulmuştur (n = 7). a, kontrol ve diğer gruplar arasında anlamlı farklılıkları (a3: p<0.001, a4: p<0.0001); b, İ/R grubu ve diğer gruplar arasında anlamlı farklılıkları (b2: p<0.01, b4: p<0.0001); c, BA + İ/R grubu çalışılan ve diğer gruplar arasındaki anlamlı farklılıkları (c2:<0.01, c3: p <0.001, c4: p < 0.0001) Tukey çoklu aralık testleri ile göstermektedir. Kısaltmalar: İ/R: İskemi/Reperfüzyon, BA: Borik Asit, Prop: Propolis.

Çizelge 4.2’de gösterildiği gibi iskemi/reperfüzyona maruz bırakılmış ovaryum dokusu sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MPO, LPO ve IL-6 seviyelerinde belirgin bir şekilde artışlar olduğu görüldü (p<0.0001). Borik asit + iskemi /reperfüzyon grubu kontrollerle kıyaslandığında MPO, LPO ve IL-6 değerlerinin istatistiksel olarak önemli derecede arttığı izlendi (p<0.0001). Sadece borik asit + iskemi /reperfüzyon grubu hasta grubuyla karşılaştırıldığında ise LPO seviyesinde istatistiksel bakımdan belirgin düşüş sağlandığı görüldü (p<0.0001). Diğer taraftan propolis + iskemi/reperfüzyon grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MPO, LPO ve IL-6 değerlerinde önemli derecede artışlar olduğu (p<0.0001) ve bu grup hasta grubuyla kıyaslandığında ise MPO (p<0.001), LPO (p<0.0001) ve IL-6 (p<0.05) seviyelerinde belirgin olarak düşüşler meydana geldiği gözlemlendi.

Ovaryum dokusuna uygulanan borik asit + propolis + iskemi/reperfüzyon grubunda MPO seviyesinin sağlıklı kontrole göre daha düşük olduğu (p<0.05), LPO ve IL-6 seviyelerinin ise değişmediği görüldü. Bu kombine tedavi grubunun MPO, LPO ve IL-6 seviyelerinde hasta grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak belirgin şekilde

düşüşler olduğu ortaya çıktı ($p<0.0001$). Tek başına uygulanan Borik asit + propolis + iskemi/reperfüzyon grubu, borik asit+ iskemi/reperfüzyon grubuyla kıyaslandığında ise MPO, MDA ve IL-6 seviyelerinin belirgin olarak düştüğü gözlemlendi ($p<0.0001$). Borik asit + propolis + iskemi/reperfüzyon grubu tek uygulanan propolis + iskemi/reperfüzyon grubuyla karşılaştırıldığında ise tüm bu parametrelerde borik asit grubuna benzer şekilde istatistiksel anlamda önemli düşüşlerin olduğu tespit edildi ($p<0.0001$). İskemi/reperfüzyonla indüklenen sıçan ovaryum hasarı üzerinde propolis ve borik asitin kombine uygulamasının MPO, LPO ve IL-6 seviyelerini azaltma üzerinde tek başlarına uygulamalarından istatistiksel anlamda çok daha etkili olduğu görüldü.

Çizelge 4.2. Ovaryum iskemi/reperfüzyonunda borik asit ve propolisin MPO, LPO, IL-6 seviyelerine etkisi

Gruplar	MPO EU/mg doku	LPO nmol MDA/g doku	IL-6 pg/mg doku
Kontrol	12.9±0.45	45.85±0.26	947.2±31.48
İ/R	126.7±3.27 ^{a4}	67.56±1 ^{a4}	1714±37.65 ^{a4}
BA + İ/R	125.4±2.48 ^{a4}	59.24±0.48 ^{a4,b4}	1667±57.9 ^{a4}
Prop + İ/R	109.2±3.71 ^{a4,b3,c3}	57.33±0.55 ^{a4,b4}	1537±45.1 ^{a4,b1}
BA + Prop + İ/R	1.91±0.22 ^{a1,b4,c4,d4}	48.15±0.74 ^{b4,c4,d4}	1117±38.4 ^{b4,c4,d4}

Veriler ortalama ± SEM olarak sunulmuştur (n = 7). a, kontrol ve diğer gruplar arasında anlamlı farklılıkları (a1: $p<0.05$, a4: $p<0.0001$); b, İ/R grubu ve diğer gruplar arasında anlamlı farklılıkları (b1: $p<0.05$, b3: $p<0.001$, b4: $p<0.0001$); c, BA + İ/R grubu ve çalışılan diğer gruplar arasındaki anlamlı farklılıkları (c3: $p<0.001$, c4: $p < 0.0001$); d, Prop + İ/R grubu ve çalışılan diğer gruplar arasındaki anlamlı farklılıkları (d4: $p<0.0001$) Tukey çoklu aralık testleri ile göstermektedir. Kısaltmalar: İ/R: İskemi/Reperfüzyon, BA: Borik Asit, Prop: Propolis.

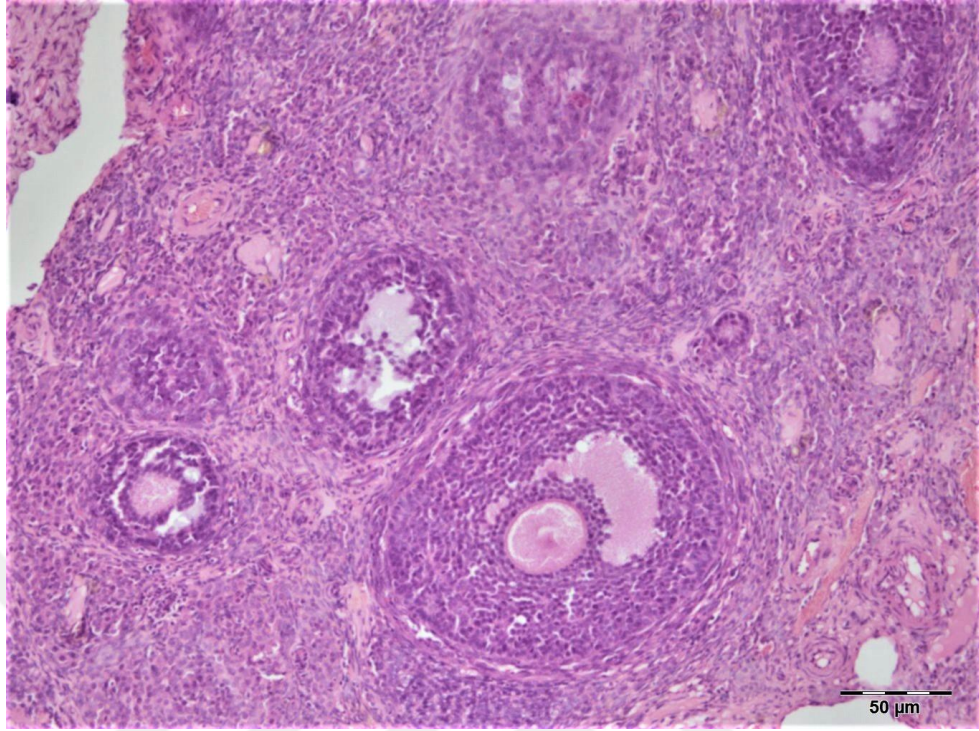
4.2. Patolojik Bulgular

Sıçan ovaryum dokularının genel histolojik yapısını gözlemek amacıyla H&E boyama metodu kullanıldı. Kontrol grubundaki sıçanların ovaryumu incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu tesbit edildi (Şekil 4.1).

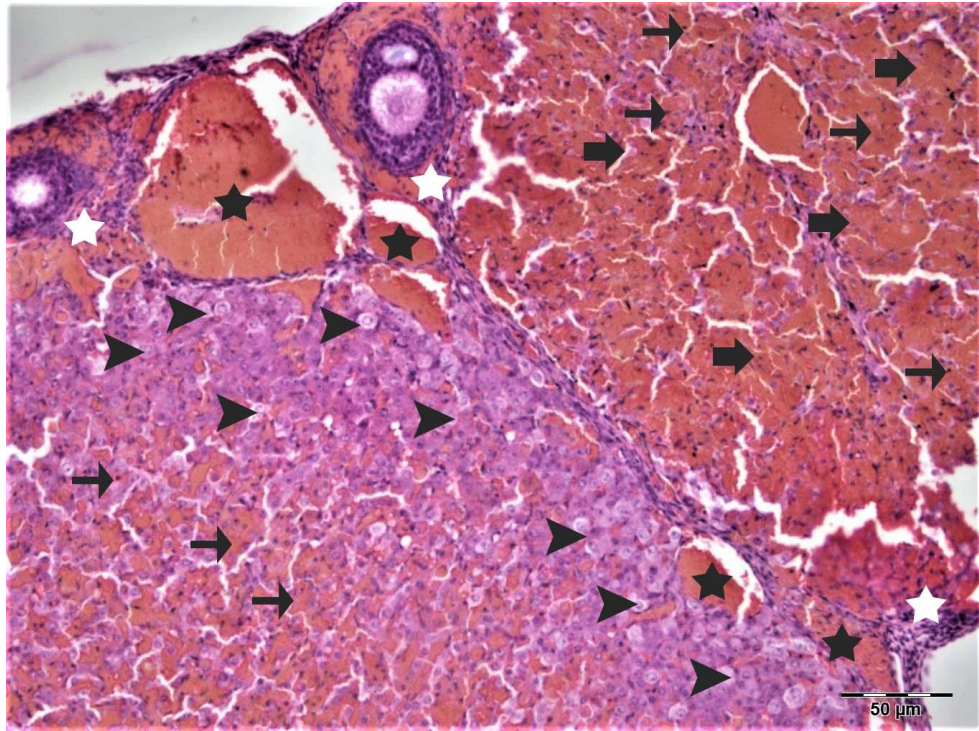
İskemi/reperfüzyon modeli oluşturulan sıçanların ovaryum dokuları kontrol ovaryumlarıyla kıyaslandığında konjesyon, hemoraji (kanama), dejenerasyon, hücrelerde nekroz, nötrofil infiltrasyonu gibi önemli histopatolojik bulguların olduğu görüldü. Bu patolojik bulguların şiddetli derecelerde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2).

Borik asitin sıçanlara model oluşumu öncesi verildiği iskemi/reperfüzyon + borik asit tedavi grubunun ovaryumlarıyla hasta grubu kıyaslandığında ise primer folikül ve sekonder folikül oluşumlarına rastlanırken, aynı zamanda dejenerasyon, hemoraji ve nötrofil infiltrasyonunun daha az olduğu saptandı. İskemi/reperfüzyon + borik asit grubu kontrol grubuyla kıyaslandığında ise orta şiddette bu hasarların olduğu tespit edildi (Şekil 4.3). Bu gruba benzer şekilde iskemi/reperfüzyon + propolis grubu ovaryumlarında hasta grubuna kıyasla dejenerasyon, hücrelerin nekrozu ve nötrofil infiltrasyonu ve konjesyon gibi patolojik bulguların da azaldığı saptandı.

Diğer taraftan iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis uygulanan kombine grubu sıçan ovaryumlarında ise dejenerasyon, hücrelerin nekrozu, konjesyon ve nötrofil infiltrasyonu gibi patolojik hasarların ciddi düzeyde azaldığı belirlendi (Şekil 4.4). Her iki madenin kombininin ön muamelesiyle oluşturulan iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu ovaryum dokularında söz konusu hasarların en az düzeye indiği ve diğer tek başına uygulandıkları grupların ovaryumlarına göre bu tedavinin daha etkili olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5).

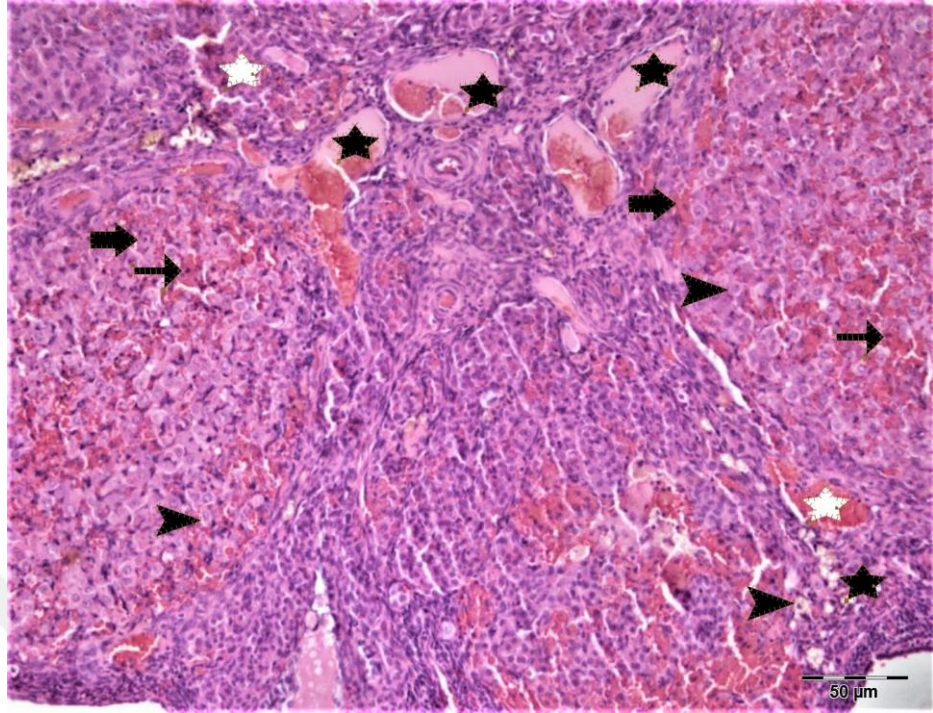


Şekil 4.1. Kontrol grubu, ovaryum normal histolojik yapısı, H&E



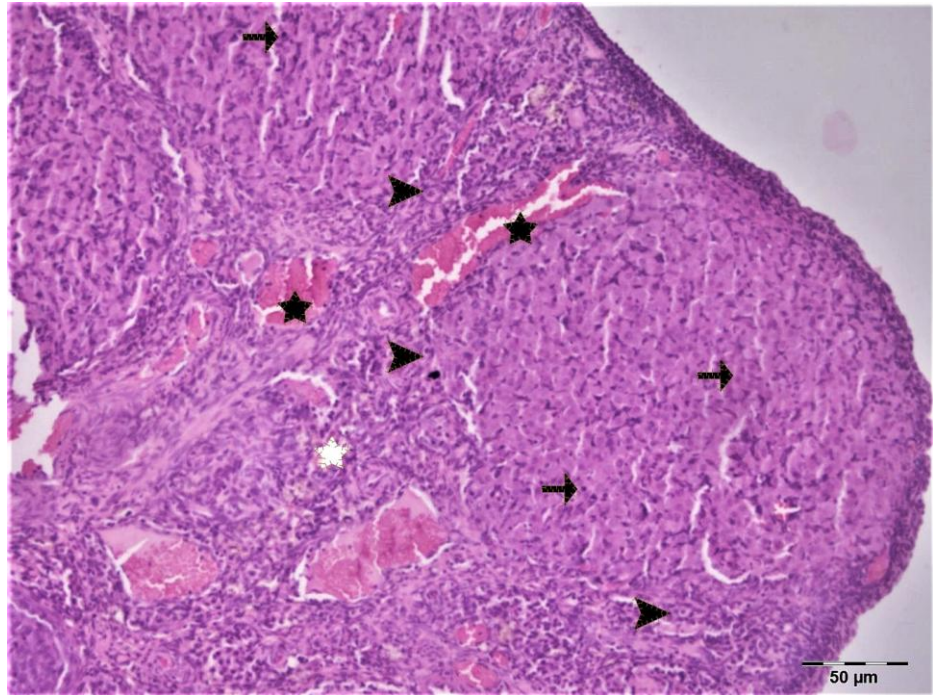
Şekil 4.2. Ovaryum iskemi/reperfüzyon grubu, H&E

Kalın ok: hemoraji, ok başı: dejenerasyon, ince ok: nekroz, siyah yıldız: konjesyon, beyaz yıldız: infiltrasyon.



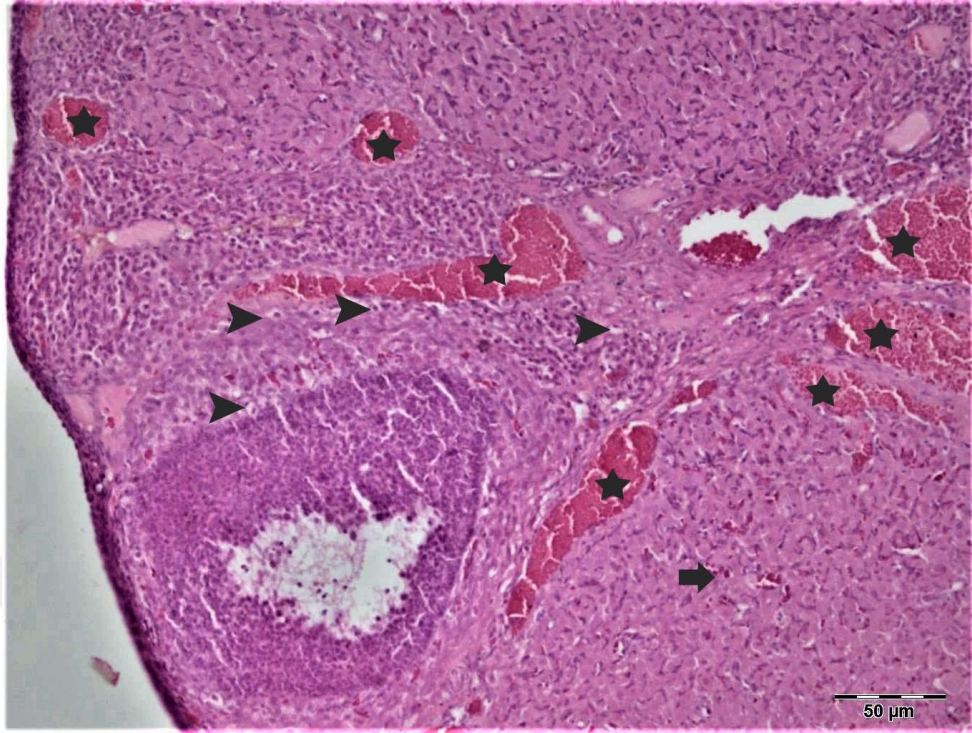
Şekil 4.3. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, H&E

Kalın ok: hemoraji, ok başı: dejenerasyon, ince ok: nekroz, siyah yıldız: konjesyon, beyaz yıldız: infiltrasyon.



Şekil 4.4. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + propolis grubu, H&E

Ok başı: dejenerasyon, ince ok: nekroz, siyah yıldız: konjesyon, beyaz yıldız: infiltrasyon.



Şekil 4.5. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, H&E
Siyah yıldız: konjesyon, ok başı: dejenerasyon, siyah kalın ok: hemoraji

Sıçan ovaryumunda iskemi/reperfüzyonun etkisi ve tedavi sonucu tespit edilen patoloji yoğunluğu Çizelge 4.3’de verilerek özetlendi. Bu patolojik bulguların yoğunluğu, zayıftan şiddetliye doğru derecelendirilerek yapıldı.

Çizelge 4.3. Ovaryumda patoloji yoğunluğu

Gruplar	Hemoraji	Hücre dejenerasyonu	Konjesyon	Nötrofil infiltrasyonu	Hücre nekrozu
Kontrol	-	-	-	-	-
İ/R	++++	++++	++++	++++	++++
BA + İ/R	++	++	++++	++	+++
Prop + IR	+++	+++	++	+	+++
BA + Prop + İ/R	+	+	+	-	-

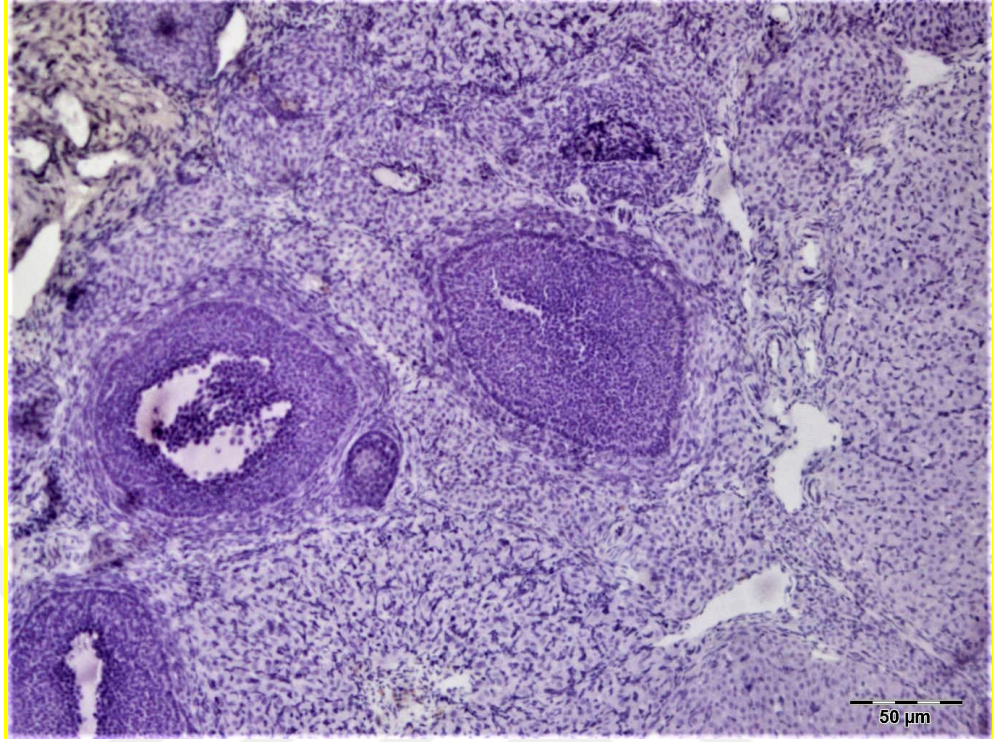
Kısaltmalar: İ/R: İskemi/Reperfüzyon, BA: Borik Asit, Prop: Propolis.

Patolojik bulgulara göre: yok (-), zayıf (+), hafif (++) , orta (+++) ve şiddetli (++++).

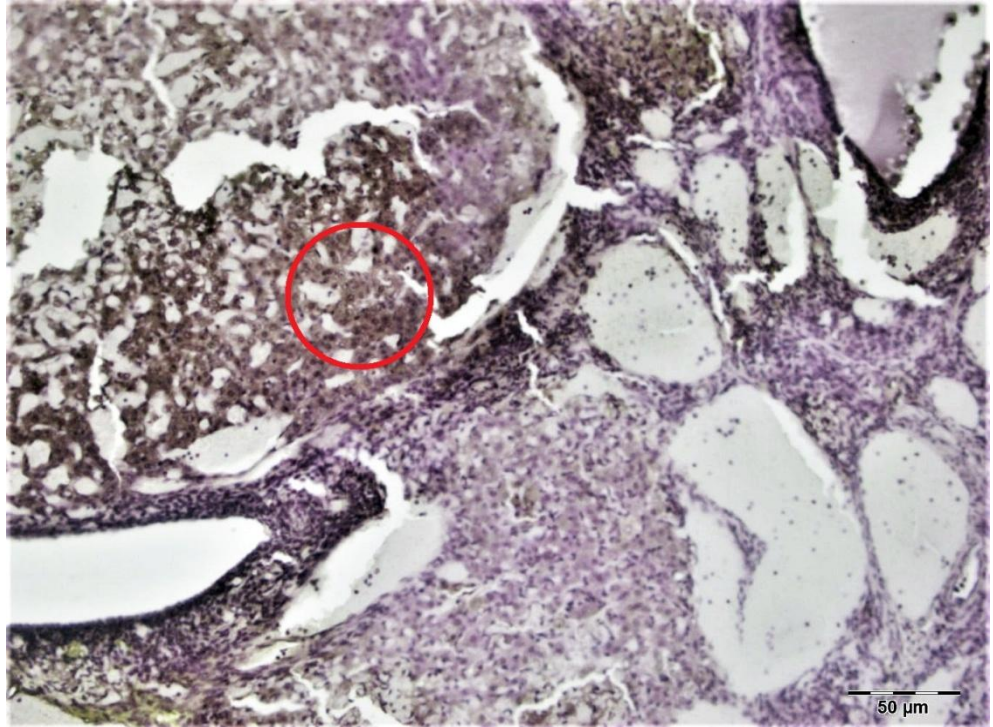
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

Sıçan ovaryumunda iskemi/reperfüzyonun etkisiyle meydana gelen inflamasyonun derecesini ve bu inflamasyona borik asit ile propolisin etkilerini göstermek için TNF- α immünohistokimya boyama metodu kullanıldı. Sıçan ovaryum kontrol grubunda TNF- α immünoreaktivitesinin olmadığı tespit edildi (Şekil 4.6). İskemi/reperfüzyon modeli oluşturulmuş sıçanların ovaryumunda ise bu TNF- α immünoreaktivitesinin yaygınlık ve yoğunluk derecesinin şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil 4.7). Diğer taraftan iskemi/reperfüzyon oluşturulmuş sıçan ovaryumlarının 7 mg/kg borik asit verilen grubunda TNF- α immünoreaktivitesinin orta derecede (Şekil 4.8), 100 mg/kg propolis verilen grubunda ise hafif derecede olduğu belirlendi (Şekil 4.9). Ayrıca her iki maddenin verildiği iskemi/reperfüzyon oluşturulmuş sıçan ovaryumlarında TNF- α immünohistokimya boyamasının zayıf derecede olduğu görüldü (Şekil 4.10).

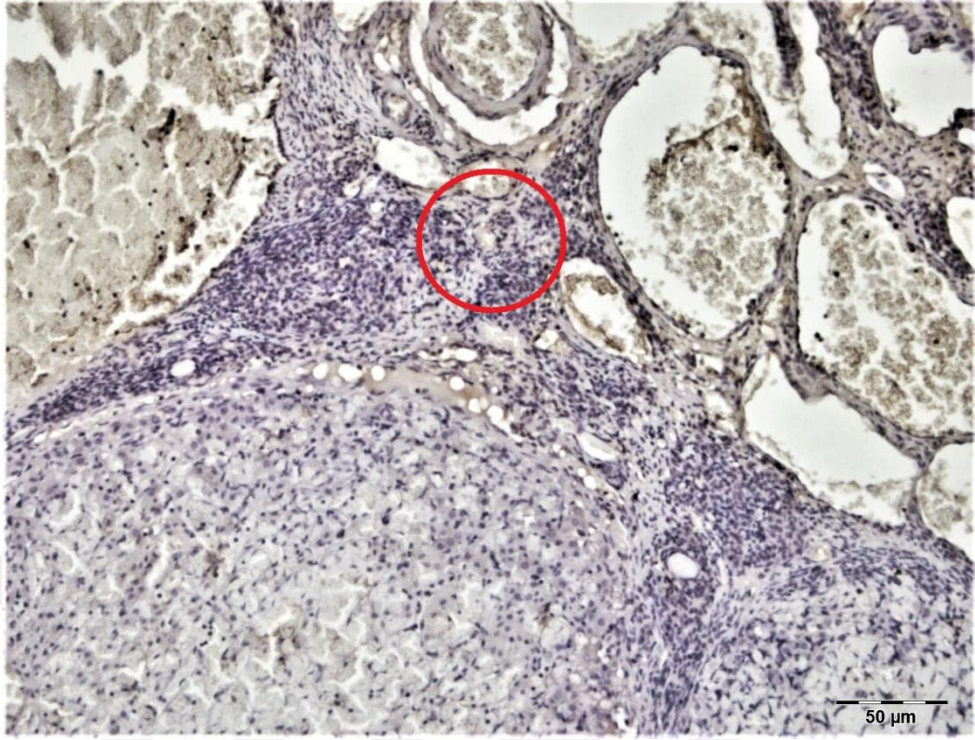
İskemi/reperfüzyonun etkisiyle ovaryum hücrelerinde oluşan apoptozu göstermek amacıyla Kaspaz 3 ve DNA hasarını belirlemek amacıyla ise 8-OHdG immünohistokimya boyama metodları kullanıldı. Sıçan ovaryum kontrol grubunda Kaspaz 3 immünoreaktivitesinin olmadığı (Şekil 4.11) ve iskemi/reperfüzyonun etkisiyle ovaryum hücrelerinde Kaspaz 3 boyamasının yaygınlık ve yoğunluk derecesinin şiddetli olduğu görüldü (Şekil 4.12). 7 mg/kg borik asit uygulanan iskemi/reperfüzyonlu ovaryumlarda Kaspaz 3 immünoreaktivitesinin orta derecede (Şekil 4.13), 100 mg/kg propolis uygulanan grubunda ise hafif derecede olduğu saptandı (Şekil 4.14). Her iki maddenin uygulandığı iskemi/reperfüzyonlu sıçan ovaryumlarında ise Kaspaz 3'ün daha zayıf boyandığı tespit edildi (Şekil 4.15). Benzer şekilde kontrol ovaryumlarında 8-OHdG immünoreaktivitesinin olmadığı (Şekil 4.16) ancak iskemi/reperfüzyonlu ovaryumlarda şiddetli halde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.17). Diğer taraftan iskemi/reperfüzyon oluşturulmuş sıçan ovaryumlarının 7 mg/kg borik asit grubunda 8-OHdG immünoreaktivitesinin orta derecede (Şekil 4.18), 100 mg/kg propolis grubunda ise hafif derecede olduğu belirlendi (Şekil 4.19). Ayrıca her iki maddenin verildiği iskemi/reperfüzyonlu ovaryumlarda 8-OHdG immünoreaktivitesinin zayıf derecede olduğu görüldü (Şekil 4.20).



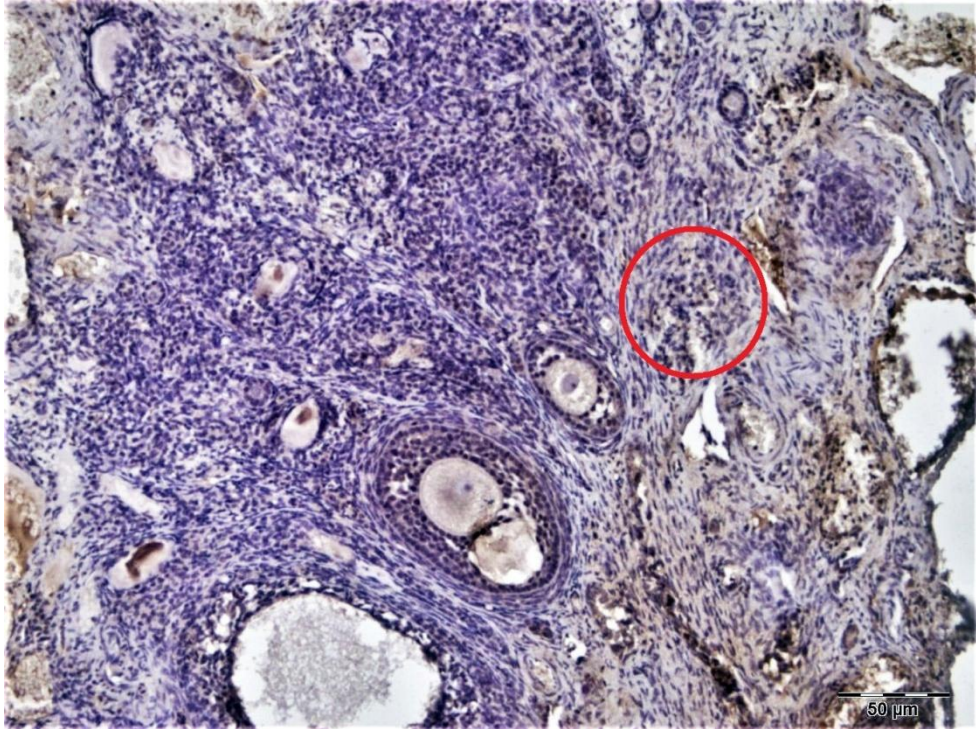
Şekil 4.6. Ovaryum kontrol grubu, TNF- α .
Normal histolojik yapı



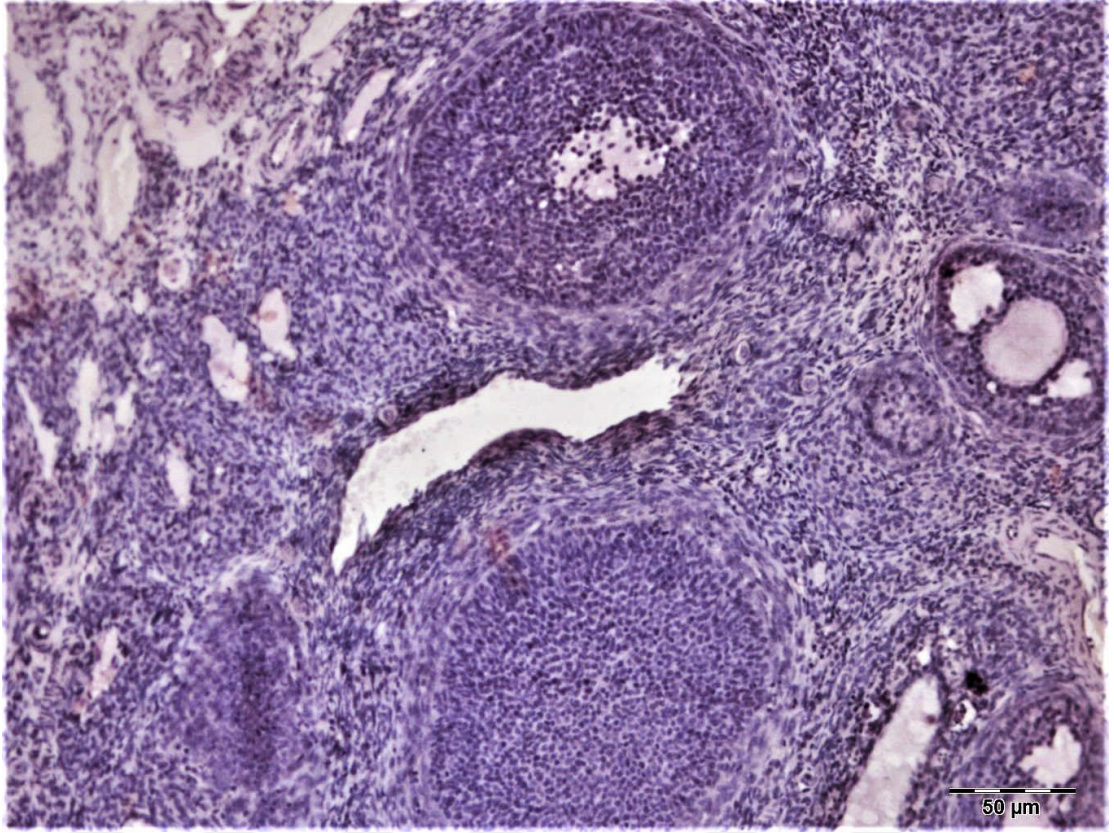
Şekil 4.7. Ovaryumiskemi/reperfüzyon grubu, TNF- α .
Kırmızı halka: TNF- α yoğunluğu.



Şekil 4.8. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, TNF- α
Kırmızı halka: TNF- α yoğunluğu.



Şekil 4.9. Ovaryumiskemi/reperfüzyon + propolis grubu, TNF- α .
Kırmızı halka: TNF- α yoğunluğu.



Şekil 4.10. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, TNF- α .

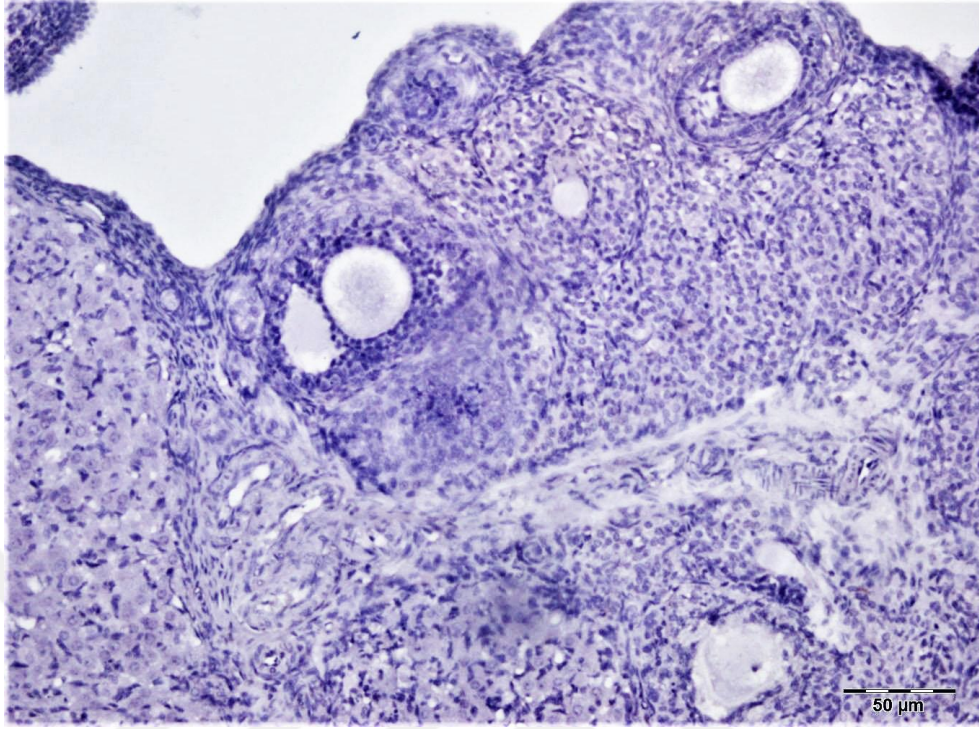
Sıçan ovaryumda iskemi/reperfüzyonun etkisi ve tedavi sonucu TNF- α yoğunluğunun derecelendirmesi Çizelge 4.4’de özetlendi. Bu TNF- α yoğunluğunun belirlenmesinde zayıf, hafif, orta ve şiddetli olmak üzere farklı derecelendirmeler kullanıldı. İskemi/reperfüzyona maruz bırakılan ovaryum üzerinde en zayıf derecede TNF- α yoğunluğu gösteren grubun söz konusu maddelerin kombine olarak uygulandığı grup olduğu belirlendi.

Çizelge 4.4. Ovaryumda TNF- α yoğunluğu.

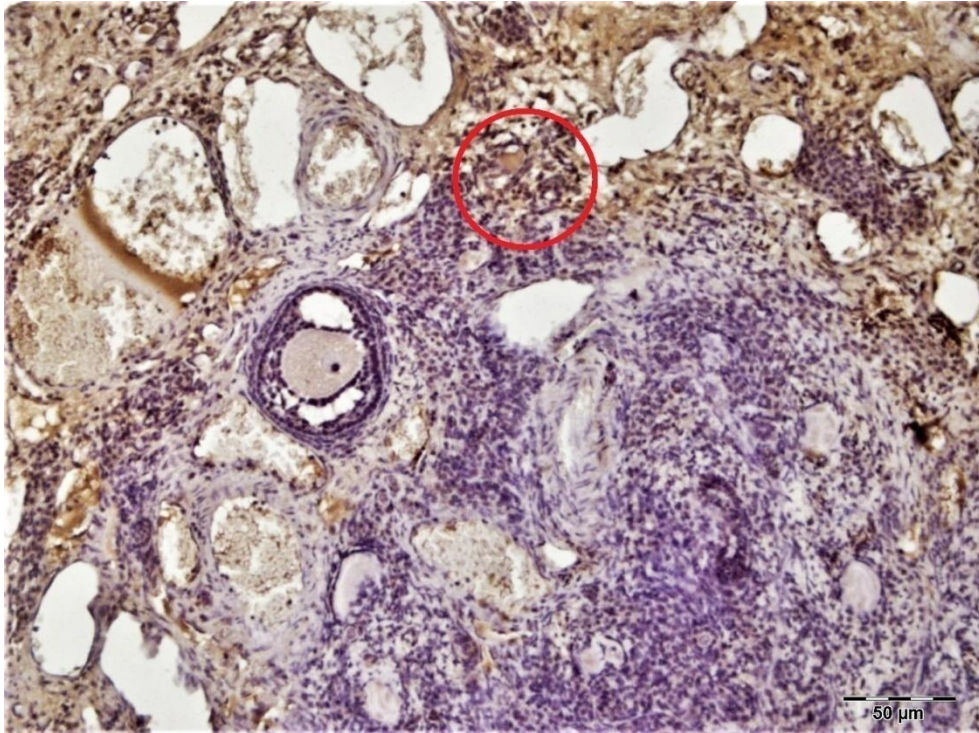
Gruplar	Kontrol	İ/R	BA + İ/R	Prop + İ/R	BA + Prop + İ/R
TNF- α	-	++++	+++	++	+

Kısaltmalar: İ/R:İskemi/Reperfüzyon, BA: BorikAsit, Prop: Propolis.

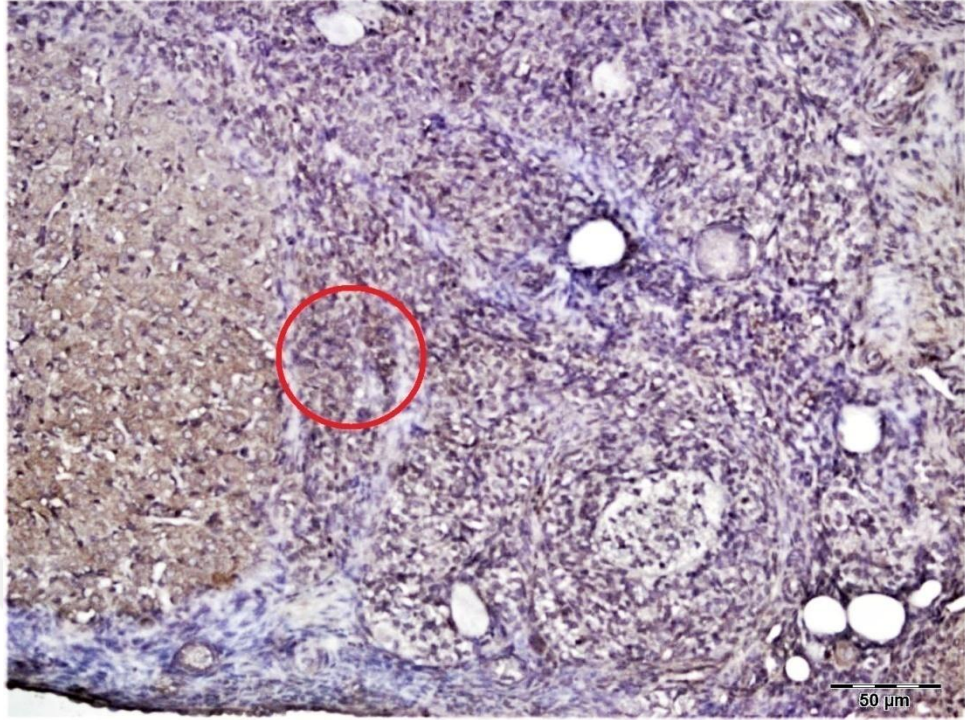
İmmünohistokimyasal bulgulara göre: yok (-), zayıf (+),hafif (++) , orta (+++) ve şiddetli (++++).



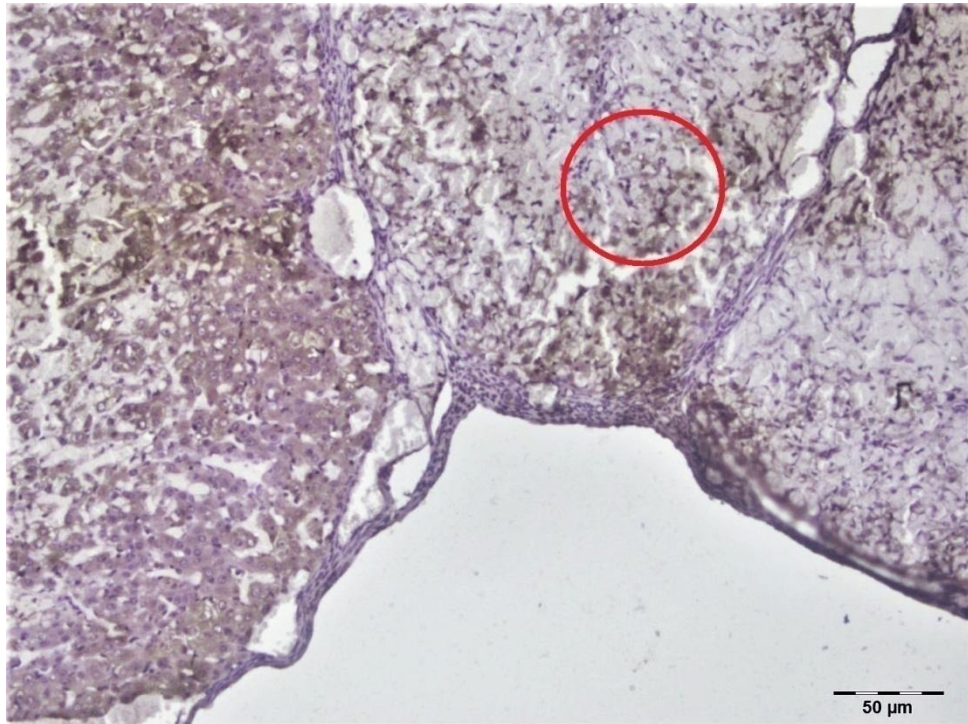
Şekil 4.11. Ovaryum kontrol grubu, Kaspaz 3.
Normal histolojik yapı



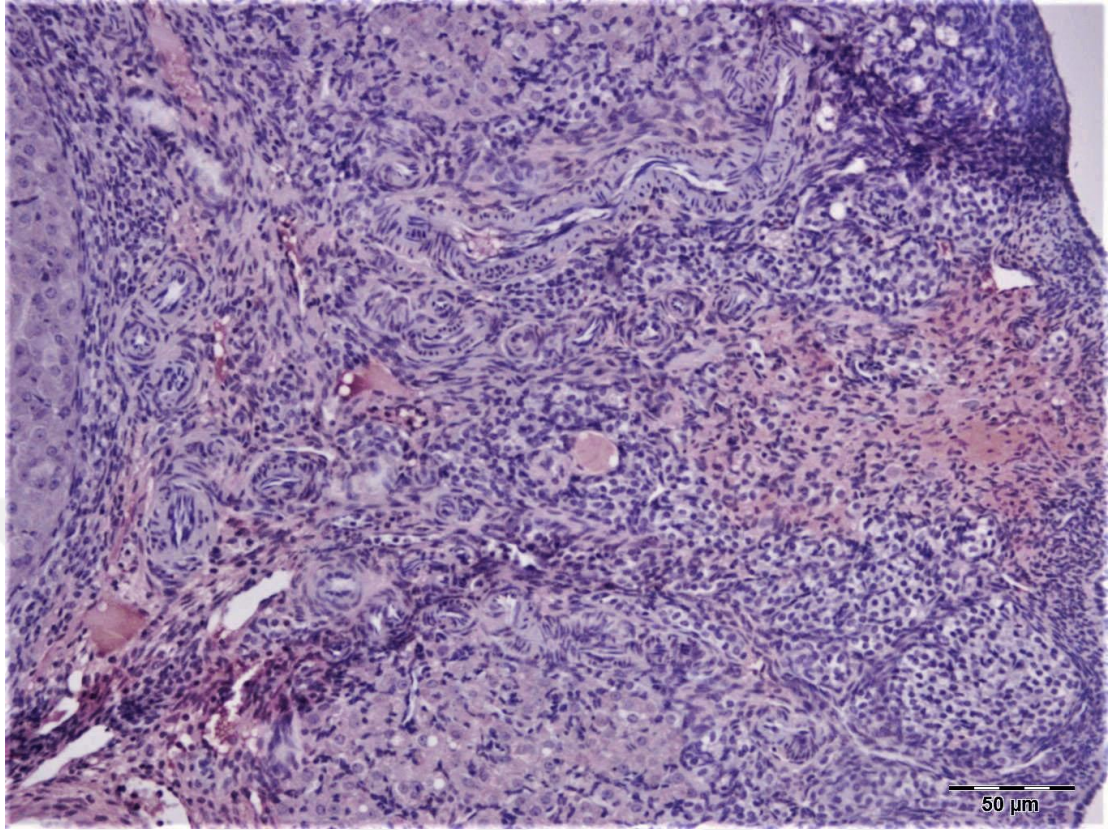
Şekil 4.12. Ovaryum iskemi/reperfüzyon grubu, Kaspaz 3.
Kırmızı halka: Kaspaz 3 yoğunluğu.



Şekil 4.13. Ovaryumiskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, Kaspaz 3.
Kırmızı halka: Kaspaz 3 yoğunluğu.



Şekil 4.14. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + propolis grubu, Kaspaz 3.
Kırmızı halka: Kaspaz 3yoğunluğu.



Şekil 4.15. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, Kaspaz 3.

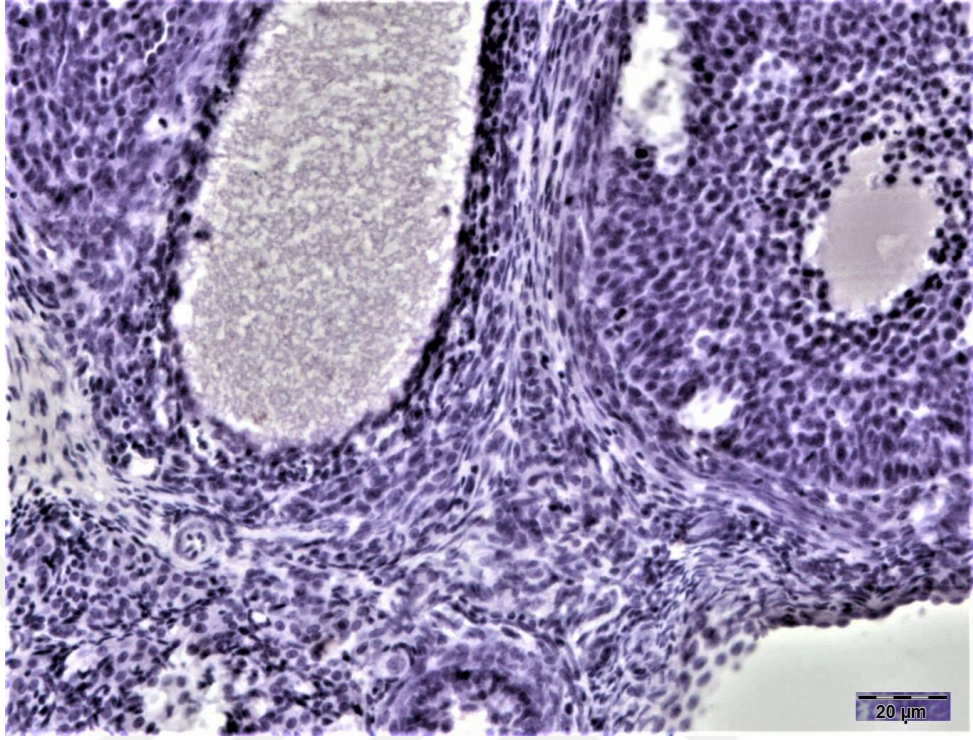
Sıçan ovaryumda iskemi/reperfüzyonun etkisi ve tedavi sonucu Kaspaz 3 yoğunluğunun derecelendirilmesi Çizelge 4.5’de özetlendi. Bu Kaspaz 3 yoğunluğunun belirlenmesinde zayıftan şiddetliye doğru farklı derecelendirmeler kullanıldı. İskemi/reperfüzyonlu ovaryumlar üzerine söz konusu maddelerin kombine olarak uygulanmasının Kaspaz 3 yoğunluğunu zayıf derecede gösterdiği ortaya çıktı.

Çizelge 4.5. Ovaryumda Kaspaz 3 yoğunluğu

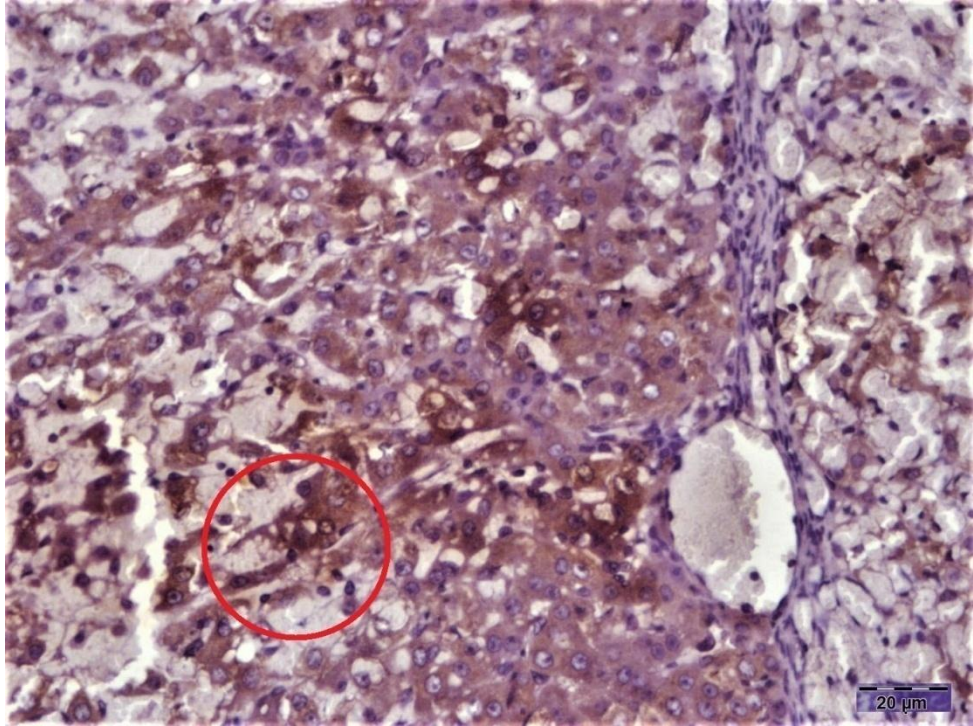
Gruplar	Kontrol	İ/R	BA + İ/R	Prop + İ/R	BA + Prop + İ/R
Kaspaz 3	-	++++	+++	++	+

Kısaltmalar: İ/R:İskemi/Reperfüzyon, BA: BorikAsit, Prop: Propolis.

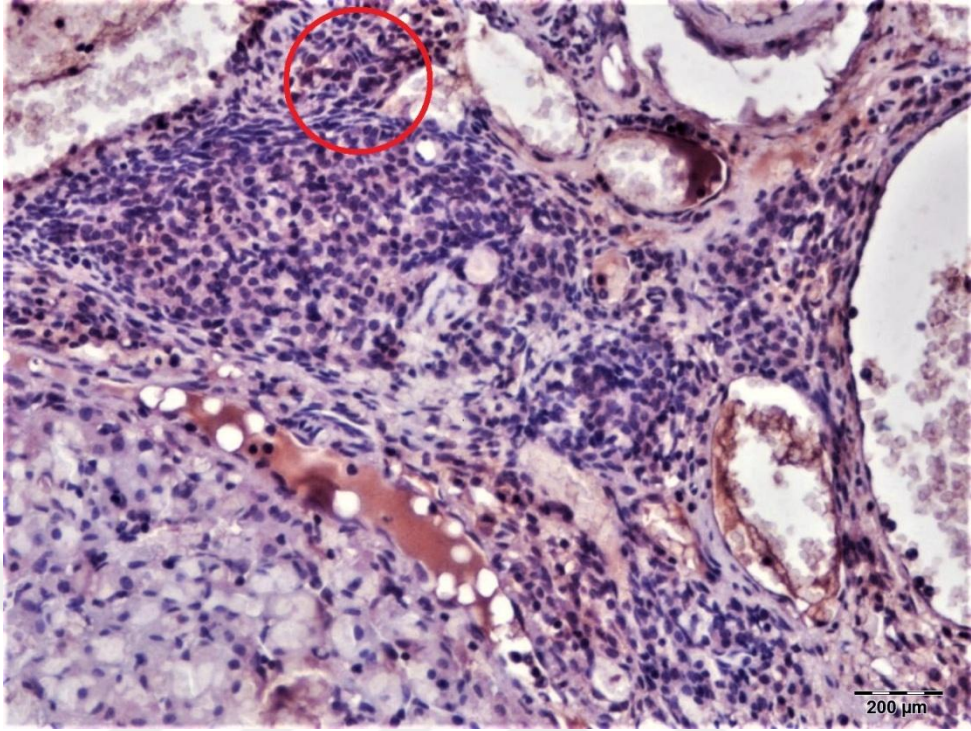
İmmünohistokimyasal bulgulara göre: yok (-), zayıf (+), hafif (++) , orta (+++) ve şiddetli (++++).



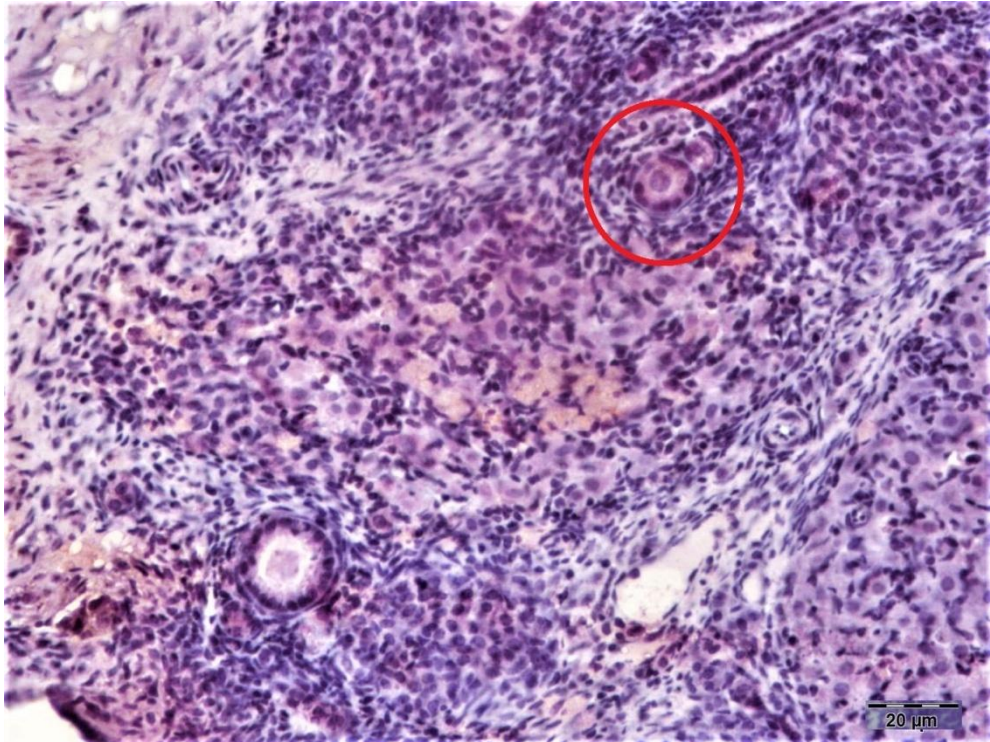
Şekil 4.16. Ovaryum kontrol grubu, 8-OHdG.
Normal histojik yapı



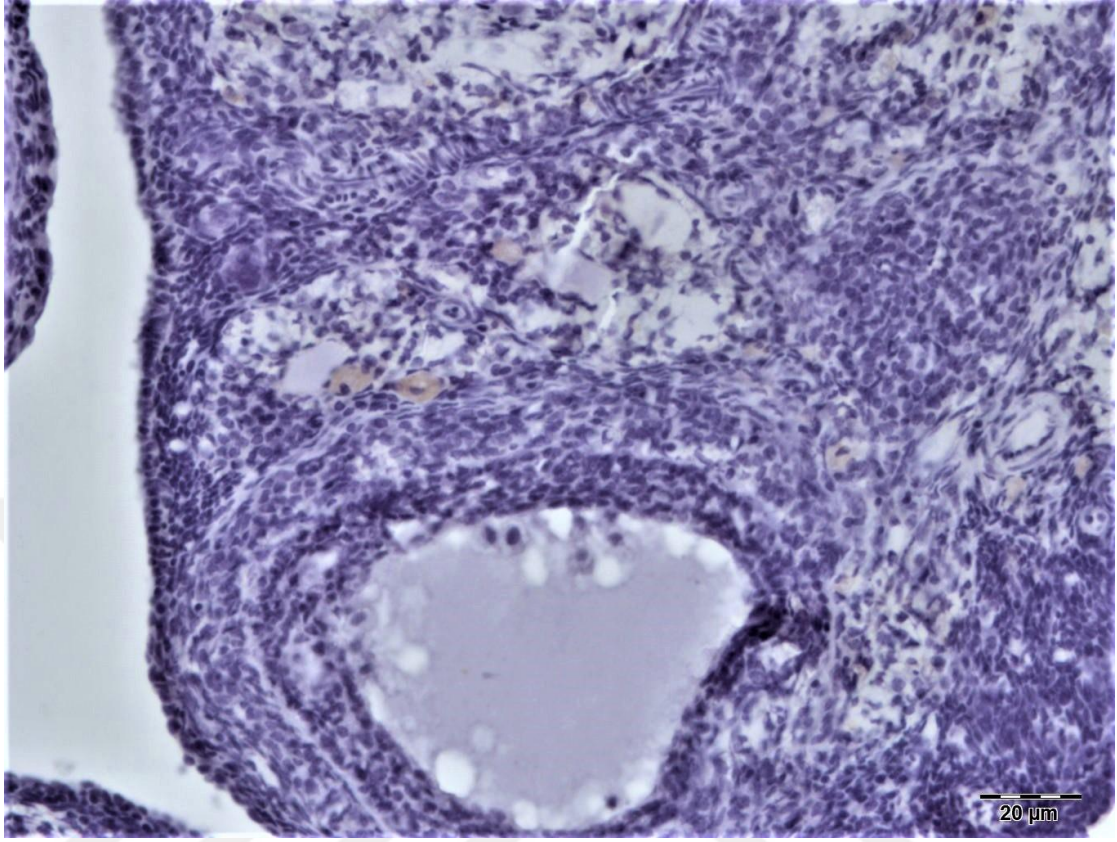
Şekil 4.17. Ovaryumiskemi/reperfüzyon grubu,8-OHdG.
Kırmızı halka: 8-OHdGyoğunluğu.



Şekil 4.18. Ovaryumiskemi/reperfüzyon + borik asit grubu, 8-OHdG.
Kırmızı halka: 8-OHdG yoğunluğu.



Şekil 4.19. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + propolis grubu, 8-OHdG.
Kırmızı halka: 8-OHdG yoğunluğu.



Şekil 4.20. Ovaryum iskemi/reperfüzyon + borik asit + propolis grubu, 8-OHdG.

Sıçan ovaryumda iskemi/reperfüzyonun etkisi ve tedavi sonucu 8-OHdG yoğunluğunun derecelendirilmesi Çizelge 4.6’da özetlendi. Bu 8-OHdG yoğunluğunun belirlenmesinde zayıftan şiddetliye doğru farklı derecelendirmeler kullanıldı. Sıçan iskemi/reperfüzyon üzerine uygulanan borik asit ve propolis kombine terapi grubunun tek başlarına uygulandığı gruplara kıyasla 8-OHdG yoğunluğunu çok daha zayıf derecede gösterdiği ortaya çıktı.

Çizelge 4.6. Ovaryumda 8-OHdG yoğunluğu.

Gruplar	Kontrol	İ/R	BA + İ/R	Prop + İ/R	BA + Prop + İ/R
8-OHdG	-	++++	+++	++	+

Kısaltmalar: İ/R:İskemi/Reperfüzyon, BA: BorikAsit, Prop: Propolis.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son zamanlardaki araştırmalar yumurtalıkları iskemik hasar ve hücre ölümüne daha dirençli hale getirebilecek “yeni terapiler” olarak adlandırılan farmakolojik stratejileri geliştirmeye çalışmaktadır (Mogilner *et al.* 2006; Halici *et al.* 2008; Ozlem *et al.* 2018). Bu bağlamda vasküler hastalıkların önlenmesi konusunda yeni geliştirilecek tedavilerin faydalı etkilerinin doğru bir şekilde tanımlanabilmesi ve desteklenebilmesi açısından daha fazla *in vivo* çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Bojić *et al.* 2018).

Son zamanlarda *in vivo* olarak yapılmış bir çalışmada iskemiye maruz kalan yumurtalık dokusunda intraperitoneal yolla uygulanmış alfa tokoferol yüklü nanopartiküllerin iskemi/reperfüzyon hasarını en az seviyeye indirmeye yardımcı olabileceği rapor edilmiştir (Najafpour and Azizizadeh 2018). Literatür verilerine bakıldığında mevcut araştırma, sıçanlarda yumurtalık iskemi/reperfüzyon hasarına karşı borik asit ve propolis’in koruyucu etkinliklerinin ilk defa araştırıldığı orijinal bir çalışmadır. Temel ve klinik araştırmalar, akut yumurtalık iskemi/reperfüzyon hasarlarına karşı uygulanan terapötik müdahalelerin etkinliğini ve güvenilirliğini desteklemeye devam ettiğinden, bu çalışma ile borik asit ve propolis’in tek başlarına veya kombine yaklaşımlarla araştırılmasının sergileyecekleri güçlü aktivitelerin ortaya konulabilmesi açısından son derece faydalı olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda, bu araştırma ile iskemi/reperfüzyonun neden olduğu yumurtalık hasarları üzerinde anti-oksidan faktörlerin rolüne, inflamatuvar ve apoptotik değişikliklere, yumurtalık patolojisine ve buna neden olabilecek DNA hasar işaretleyicisine (8-OHdG) odaklanılarak kullanılan maddelerle ilgili ayrıntılı biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar yapılmış ve önemli veriler elde edilmiştir. Sunulan çalışmanın sonuçlarına göre iskemi/reperfüzyon grubunda MDA’nın belirgin bir şekilde yükseldiği ve GSH düzeyi ile anti-oksidan enzim aktivitelerinin belirgin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir. Mevcut bulgular ışığında ovaryum dokusunda iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı olarak oksidatif stresin önemli derecede arttığı anlaşılmış ve bu durum literatür bulgularıyla da desteklenmiştir. Nitekim, lipid metabolizmasındaki bozuklukların, artan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile ilişkili olarak oksidatif stresi arttırdığı rapor edilmiştir. Bu

mekanizmanın, iskemi/reperfüzyonun neden olduğu doku hasarlarının en nemli nedenlerinden birisi olabileceği belirtilmiştir (Li *et al.* 2018). Kontrol sıçanlarla karşılaştırıldığında mevcut çalışmada pre-iskemik tedavi, iskemi/reperfüzyon ile indüklenen oksidatif strese belirgin bir azalma sağlamış ve yumurtalıkların gördüğü hasarın derecesini önemli bir şekilde önlemiştir. *In vivo* araştırma bulgularına göre tek başlarına 100 mg/kg propolis ve 7 mg/kg borik asit tedavisi yumurtalık dokusunda MDA düzeylerinin yanı sıra SOD ve CAT aktiviteleri üzerinde önemli ölçüde koruyucu etkinlikler sunmuştur. İskemi/reperfüzyon grubuna kıyasla bu maddeler ile tedavi sonucunda MDA seviyeleri düşmüş, anti-oksidan enzim seviyeleri belirgin bir şekilde yükselmiş ve aynı zamanda GSH değerlerinde belirgin düzeylerde artışlar sağlanmıştır ($p<0.0001$). Borik asit ve propolis'in anti-oksidan aktiviteleriyle farklı hastalıklara karşı terapötik etkiler oluşturan çeşitli fizyolojik ve hücresel süreçlerde rol oynayabilecekleri rapor edilmiştir (Nielsen and Stoecker 2009; Uluişik *et al.* 2018). Borik asit'in anti-oksidan özellikleri de dahil olmak üzere pek çok biyolojik fonksiyonun esas olarak onun yapısı ile ilişkilendirilebileceği rapor edilmiştir. Yapılan araştırmalar, borik asit'in elektron çekici gruplara sahip olduğunu ve doku hasarına karşı koruyucu etkilerinin ortaya çıkmasında bu grupların önemli roller sergileyebileceklerini göstermiştir (Pérez-Rodríguez *et al.* 2017; Ugwu *et al.* 2017). Böylece, mevcut çalışmanın sonuçlarına dayanılarak iskemi/reperfüzyon hasarı sırasında artan ROS üretimi ve bozulmuş anti-oksidan kapasitenin propolis ve borik asit gibi ajanlarla tedavi sonucunda yumurtalıkta oluşabilecek olası fonksiyonel bozuklukları da önleyebileceği kanaatine varılmıştır.

Propolis tek başına veya diğer doğal ürünlerle kombinasyon halinde, sadece nutrasötik bir destek olarak değil, aynı zamanda gıdalarlaa doğal anti-oksidan bir ajan olarak da kullanılmıştır (Yang *et al.* 2017). Nitekim, bal ve propolis kombinasyonunun anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada propolis'te bulunan polifenollerin enzim aktivitesini indükleyebileceği ve GSH düzeylerinde artışa yol açabileceği öne sürülmüştür ((Osés *et al.* 2016; Celińska-Janowicz *et al.* 2018). Diğer taraftan, bor eksikliğinin bitkilerde fenolik bileşiklerin metabolizmasını etkileyebileceği belirtilmiştir (Camacho-Cristóbal *et al.* 2008; Hajiboland *et al.* 2013). Böylece, mevcut çalışmanın ilgi odağını propolis ve borik asit'in birlikte yumurtalık

iskemi/reperfüzyon hasarına karşı anti-oksidan cevabı oluşturmuştur. Araştırma bulguları, borik asit ve propolis kombinasyonunun yumurtalık dokusunda oksidatif stres ve anti-oksidan durumu modüle edebildiğini göstermiş ve yumurtalıklarda iskemi/reperfüzyon hasarı için kombine tedavinin potansiyelini ilk defa teklif eden öncül bir çalışma olmuştur. Oksidatif stresin hücrelerin DNA'sında ve diğer makromoleküllerinde (lipitler, proteinler, kinazlar, vd.) geri dönüşümsüz hasarlara neden olabileceği bildirilmiş bununla birlikte güçlü endojen anti-oksidan savunma sistemlerinin hücreleri serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden koruyabileceği bildirilmiştir (Ge *et al.* 2018).

İskemi/reperfüzyon hasarı ile ilgili olarak gelişen inflamasyon ve bu durumun artan dereceleri yumurtalıklar üzerinde zarar verici sonuçlar doğurabilmiş ve ortaya çıkan çeşitli patofizyolojik bulguların iskemi/reperfüzyon hasarı sırasında gelişen inflamasyona bağlı olarak artabileceği rapor edilmiştir (Sayar *et al.* 2016). Önceki çalışmalara bakıldığında anti-inflamatuar maddelerin etkinliklerine bağlı olarak yumurtalık iskemi/reperfüzyon hasarını önleme veya azaltmada faydalı olabilecekleri anlaşılmıştır (Nayki *et al.* 2018). Bu noktada mevcut araştırmanın bulguları IL-6 ölçümlerinden elde edilmiş sonuçlara göre propolis ve borik asit'in yumurtalık inflamasyonunu inhibe etme özelliğine sahip olduklarını göstermiştir. Dahası propolis ve borik asit'in etkisiyle TNF- α ifadesinde belirgin azalmalar sağlanmış ve bu maddelerin anti-inflamatuar etkinliklerine bağlı olarak yumurtalığı iskemi/reperfüzyon hasarlarına karşı önemli ölçüde koruyabilecekleri teklif edilmiştir. Benzer bir şekilde önceki bir araştırma, polifenol bakımından zengin propolis'in, mRNA transkripsiyonunun anahtarı durumunda olan inflamatuvar medyatörleri modüle etmek ve diğer taraftan da spesifik inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe etmek suretiyle önemli *in vitro* anti-inflamatuar etkiler sergileyebildiğini kaydetmiştir (Wang *et al.* 2014). Bununla birlikte, son zamanlarda yapılmış bir çalışma ile propolis'in inflamatuvar hastalıkların modüle edilmesindeki etki mekanizmasının hala tam olarak aydınlatılamadığı belirtilerek bu konuda yeni araştırmalara ihtiyaç duyulduğu rapor edilmiştir (Chang *et al.* 2018). Diğer taraftan, literatürde bor bileşiklerinin çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişen metabolik bozukluklar sonucunda artan inflamasyon

reaksiyonuna karşı anti-inflamatuar etkilere sahip olabileceği belirtilmiştir (Cao *et al.* 2008; Sandeep Varma *et al.* 2014).

Mevcut araştırmanın bulguları, iskemi/reperfüzyon hasarlarına karşı özellikle propolis ile borik asit kombinasyonunun önemli ölçüde anti-inflamatuar etkiler gösterdiğini ve yumurtalıkta inflamasyona bağlı olarak oluşan negatif tablonun bu maddelerin birlikteliği ile belirgin bir şekilde önlenebileceğini göstermiştir.

IL-6, TNF- α ve ROS etkileşimlerinin karmaşık inflamatuvar yanıtlara yol açtığı ve bu durumun reperfüzyonu takiben damar duvarına inflamatuvar hücrelerin girişini kolaylaştıran önemli nedenler arasında sayılabileceği rapor edilmiştir (Stark *et al.* 2013). Araştırmacılar iskemi/reperfüzyon hasarının nötrofillerden MPO salınımını indükleyerek doku hasarını arttırdığını belirtmişlerdir. Böylece, MPO'nun iskemi/reperfüzyon durumunda nötrofillerin dokuya verdikleri hasarı değerlendirebilmek amacıyla kullanılabilecek önemli parametrelerden birisi olarak değerlendirilmesi gerektiği teklif edilmiştir (Li *et al.* 2018). Mevcut araştırmanın sonuçları, Elisa'da MPO salınımının tespit edilmesiyle iskemi/reperfüzyon hasarında kaydedilmiş bulguları desteklemiştir. Propolis'in hamsterlerde süngerimsi kemik implant modelinde mastositler ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler üzerinde bağışıklık düzenleyici etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Melo *et al.* 2018). Bu çalışmada MPO bulgularına göre, propolis ve borik asit birlikte iskemi/reperfüzyon *in vivo* modelinde yumurtalık dokusunu tek başına propolis ve borik asit'ten çok daha iyi bir şekilde korumuşlardır. Nitekim kullanılan bu maddeler yumurtalık dokusunda MPO salınımı ve aynı zamanda nötrofil infiltrasyonunu belirgin bir şekilde baskılamışlardır. Böyle bir sonuç, yumurtalık dokusunda inflamasyona bağlı akut hasarların nötrofil infiltrasyonunun azaltılması yoluyla önlenebileceğini ve kullanılacak koruyucu maddelerin söz konusu bu özelliklerinin iskemi/reperfüzyon hasarlarını önlemede önemli bir kriter olabileceğini düşündürmüştür.

İskemik yumurtalıkta reperfüzyona bağlı olarak gelişen apoptoz ve nekroz kombinasyonunun parankim hücrelerinin ölümünü başlatabileceği belirtilmiştir. Bu

nedenle, apoptoz veya nekrozun önlenmesi önemli bir klinik çözüm olarak düşünülmüştür (Schumer *et al.* 1992). Bu noktada, mevcut çalışmanın bulguları propolis'in kaspaz-3 ifadesi üzerinde yeni bir terapötik potansiyel sergilediğini ortaya çıkarmış ve yumurtalık dokusunda apoptotik marker ifadesinin düzeylerinde belirgin bir azalmanın sağlandığını göstermiştir. Benzer bir şekilde borik asit, iskemi/reperfüzyon sonucunda artan kaspaz-3 proteininin ekspresyonu üzerinde önemli ölçüde etkili olmuş ve canlı hücrelerin sayısında belirgin bir artışa rehberlik etmiştir. Ancak literatür bilgilerine göre açıklanması gereken ana konuyu kaspaz 3'ün hangi mekanizmalarla ne şekilde aktifleştirildiği sorusu oluşturmuştur. Sunulan çalışmada tedavide kullanılan ajanların kaspaz 3'ü aktive eden önemli birtakım mekanizmaları inhibe edebilecekleri teklif edilmiştir. Önceki çalışmalardan anlaşıldığı kadarıyla oksidatif stres ve inflamasyon apoptoz oluşumuna neden olabilecek mekanizmalar arasında sayılmıştır (Chen *et al.* 2018). Diğer taraftan apoptotik tahribat mekanizmasında son adımın kaspaz 3'ün aktivasyonu olduğu ifade edilmiştir (Danish *et al.* 2018). Bu nedenle mevcut çalışmada apoptotik prosesin sonuçlarının genel yorumunun sadece kaspaz 3'ün mRNA ekspresyonu düzeylerine dayalı olabileceği düşünülmüştür. Bu araştırma ile yumurtalık iskemi/reperfüzyon hasarının oksidatif stres, apoptotik ve aynı zamanda inflamasyona bağlı mekanizmalarla karakterize edilebileceği teklif edilmiştir. Böylece, iskemi/reperfüzyon modelinde propolis ve borik asit'in optimal dozlarının tespitinin yumurtalık üzerinde önemli bir durum arz ettiği düşünülmüştür. Nitekim, elde edilen verilerden 100 mg/kg propolis ve 7 mg/kg borik asit'in tek başlarına yumurtalık dokusunun korunmasında önemli rol oynadıkları ve bunların özellikle kombinasyonlarının nekrotik hücrelerin sayısında önemli derecede azalmaya rehberlik ettikleri anlaşılmıştır.

Biyolojik açıdan iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı olarak DNA iplikçiklerinde kırılmalar, oksidatif DNA hasarı ve mutasyonların indüklediği görülmüştür (Demiryilmaz *et al.* 2014; Pressly *et al.* 2014). Bununla birlikte, oksidatif stresle ortaya çıkan 8-OHdG oluşumlarının yumurtalık iskemi/reperfüzyon hasarındaki anahtar rolünü destekleyen genetik kanıtlar hala eksiktir. Önceki çalışmalarda propolis'in oksidatif süreçlerin ürünlerini (4-Hidroksi-2-nonenal ve 8-OHdG) azaltabileceği, pulmoner ve

renal kanserlerin gelişimini önleyebileceği ileri sürülmüştür ((Kimoto *et al.* 2014; Kimoto *et al.* 2014). Ayrıca 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) formasyonlarının DNA iplikçisindeki kırılmalara bağlı olarak hidroksil radikalleri (HO•) tarafından indüklenebileceği söz konusu edilmiştir (Huang *et al.* 2014). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada da Borik asidin oksidatif strese bağlı DNA çift zincirlerinin kırılmalarını azaltabileceği ve insan epitel hücre hattında yara iyileşmesini hızlandırabileceği rapor edilmiştir (Tepedelen *et al.* 2016). Mevcut çalışmanın bulguları borik asit ve propolis ile yapılan tedavinin, 8-OHdG ifadesinin baskılanması yoluyla iskemi/reperfüzyonun DNA üzerindeki zararlı etkilerini büyük ölçüde önlediğini ortaya koymuştur. Ancak yüksek bor seviyelerinin bitki ve hayvanlar için toksik etkiler oluşturduğu bu nedenle de laboratuvar hayvanlarında farklı dozlardaki bor bileşiklerinin anti-oksidan ve metabolik etkileri açısından etkilerine dair yeni çalışmaların konunun anlaşılması açısından faydalı olabileceği beyan edilmiştir (Butterwick *et al.* 1989). Mevcut çalışmanın sonuçları, kontrol ve borik asit ile tedavi edilen hayvanlar arasında DNA hasar seviyeleri açısından anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Üstelik yukarıdaki veriler ışığında Borik asidin 7 mg/kg'lık dozunun güvenilir olduğu ve sıçanlarda iskemi/reperfüzyonun neden olduğu yumurtalık hasarlarına karşı önemli bir etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Diğer taraftan bu araştırma 8-OHdG ekspresyonun, propolis ve borik asit'in kombinasyon tedavisi ile belirgin bir şekilde hafifletildiğini göstermiştir. Aynı zamanda propolis ve borik asit, yumurtalık dokusunda hafif bir şekilde ödem, hafif dejenerasyon ancak kanama ve nekrozun olmadığı bir histolojik görüntü oluşturarak iskemi/reperfüzyon ile gözlenen patolojik bulguların belirgin bir şekilde azaltılmasını sağlamışlardır. Yumurtalıkta gözlenen bu pozitif etkiler etkiler propolis ve borik asit'in birlikte en yüksek anti-oksidan değerler oluşturarak serbest radikal savaşçı özelliklerinin artması ile ilişkilendirilmiştir.

Sonuç olarak, akut yumurtalık iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş sıçanlarda propolis ve borik asit'in tek başlarına ve özellikle de kombine halde önemli koruyucu etkinlikler sergiledikleri tespit edilmiştir. Söz konusu maddelerin anti-oksidan, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve aynı zamanda DNA'yı koruyucu etkinliklerine bağlı olarak yumurtalıkların histolojik yapısını korudukları anlaşılmıştır. Mevcut araştırmanın

bulguları ışığında propolis ve borik asit'in başta yumurtalıklar olmak üzere diğer doku ve organlarda da iskemi/reperfüzyon hasarlarının önlenmesi amacıyla kullanılabilecek yeni terapötikler olabilecekleri teklif edilmiştir.



KAYNAKLAR

- Acikalin, M. F., and Tokar, B., 2005. Giant cyst of the rete ovarii in a child. *Journal of Pediatric Surgery*, 40 (6), e17-e19.
- Adefisayo, M.A., Akomolafe, R.O., Akinsomisoye, S.O., Alabi, Q.K., Ogundipe, O.L., Omole, J.G. and Olamilosoye, K.P., 2017. Gastro-protective effect of methanol extract of *Vernonia amygdalina* (del.) leaf on aspirin-induced gastric ulcer in Wistar rats. *Toxicology Reports*, 4, 625-633.
- Ahmad, K. A., Yuan Yuan, D., Nawaz, W., Ze, H., Zhuo, C. X., Talal, B., and Qilong, D., 2017. Antioxidant therapy for management of oxidative stress induced hypertension. *Free Radical Research*, 51 (4), 428-438.
- Aitken, R. J., 2017. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Molecular reproduction and development*, 84 (10), 1039-1052.
- Akbarzadeh Khiavi, M., Jalili, A., Safary, A., Gharedaghchi, Z., Mirinezhad, S. K., Mehdizadeh, A., and Rahmani, S. A., 2019. Karyotypic abnormalities and molecular analysis of Y chromosome microdeletion in Iranian Azeri Turkish population infertile men. *Systems Biology In Reproductive Medicine*, 1-7.
- Akk, A., Springer, L.E., Yang, L., Hamilton-Burdess, S., Lambris, J.D., Yan, H., Hu, Y., Wu, X., Hourcade, D.E., Miller, M.J., and Pham, C.T.N., 2019. Complement activation on neutrophils initiates endothelial adhesion and extravasation. *Molecular Immunology*, 114, 629-642.
- Al-Turki, H. A., 2015. Fertility after oophorectomy due to torsion. *Saudi Medical Journal*, 36 (3), 368.
- Ampofo, E., Lachnitt, N., Rudzitis-Auth, J., Schmitt, B. M., Menger, M. D., and Laschke, M. W. 2017. Indole-3-carbinol is a potent inhibitor of ischemia–reperfusion–induced inflammation. *Journal of Surgical Research*, 215, 34-46.
- Anonim, 2017. Dişi Üreme Sistemi Biyoloji Tyt Ayt, 2, <https://www.eokultv.com/disi-ureme-sistemi-biyoloji-tyt-ayt/37519> (05/12/2019).
- Anonim, 2019a. Genital Sistem Embryolojisi, <https://www.slideshare.net/HakkiNUR/genital-sistem-embryolojisi-hakki> (05/12/2019).
- Anonim, 2019b. Genital sistem Embriyolojisi, <https://www.slideshare.net/HakkiNUR/genital-sistem-embriyolojisi-hakki> (05/12/2019).
- Anonim, 2019c. Kadın Üreme Sistemi, <http://www.birgulkarakoc.com/tr/makale/kisirlik/7/kadin-ureme-sistemi/99> (05/12/2019)
- Anonim, 2019d. Eşeyssel Gelişmenin Hormonal Kontrolü, [https://www.bilgiustam.com/eseysel-gelismenin-hormonal-kontrolu/\(05/12/2019\)](https://www.bilgiustam.com/eseysel-gelismenin-hormonal-kontrolu/(05/12/2019)).
- Anonim, 2019e. Primordial Folikül ve Primer Folikül Arasındaki Fark, <https://tr.strephonsays.com/difference-between-primordial-follicle-and-primary-follicle> (05/12/2019).
- Anonim, 2019f. Ovulasyon, <https://www.kacgun.com/ovulasyon-nedir/> (05/12/2019)
- Anonim, 2019g. Progesteron Nedir? Progesteron Ne İşe Yarar?, <https://www.yenibiyoloji.com/progesteron-nedir-progesteron-ne-ise-yarar-3673/> (05/12/2019).

- Anonim, 2019h. Alkol ve Sigara, <https://www.doktoramcam.com/alkol-ve-sigara/> / (05/12/2019)
- Anonim, 2019ı. Polikistik Over Sendromu, <http://www.drsoathazer.com/k%C4%B1s%C4%B1rl%C4%B1k/kad%C4%B1n-infertilitesi/polikistik-over-sendromu.html> (05/12/2019).
- Anonim, 2019i. Yumurtalık Ters Döner mi? Over Torsiyonu Nedenleri ve Belirtileri, <https://www.saglikocagim.net/over-torsiyonu/> (05/12/2019).
- Anonim, 2019j. İskemi nedir? Tedavi Yöntemleri Nelerdir?, <https://www.neoldu.com/iskemik-kalp-hastaligi-teshisi-ve-tedavi-yontemleri-11015h.htm> (05/12/2019).
- Anonim, 2019k. Antioksidan Ne İşe Yarar, Hangi Besinlerde Bulunur, <https://blog.supplementler.com/beslenme/antioksidan-nedir-hangi-besinlerde-bulunur> (05/12/2019).
- Anonim, 2019l. Serbest Radikaller - Oksidatif Stres, <http://ismailpaksoy.com.tr/serbest-radikaller.asp> (05/12/2019).
- Anonim, 2019m. Bor Elementi, <https://www.boren.gov.tr/Sayfa/bor-elementi/23> (05/12/2019).
- Anonim, 2019n. Balıkesir'den Dünyaya Taşınan Değer: Bor, <http://www.etimaden.gov.tr/bandirma> (05/12/2019).
- Anonim, 2019o. Boraks – Borik Asit Nasıl Kullanılır, <https://www.1organik.com/boraks-borik-asit-nasil-kullanilir.html> (05/12/2019).
- Anonim, 2019ö. Propolis nedir?, <https://radgida.com/blog/index.php/2019/08/04/propolis-nedir/> (05/12/2019).
- Anonim, 2019p. Propolis Özlü Sabun, <https://osmanaktar.com/urun/propolis-sabun> (05/12/2019).
- Anonim, 2019r. Prpolis, <http://izmiraricilik.com/2017/12/01/propolis/> (05/12/2019).
- Araki, A., Itoh, S., Miyashita, C., Minatoya, M., and Kishi, R., 2018. Environmental Chemical Exposure and Its Effects on Infants' Reproductive Hormones. *Nihon eiseigaku zasshi. Japanese Journal of Hygiene*, 73 (3), 313-321.
- Atik, A., and Gümüş, T., 2017. Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları. *Akademik Gıda*, 15 (1), 60-65.
- Aydın, A. O., Gülensoy, H., Akıcıoğlu, A., and Sakarya, A., 2003. Kulemanitlerdeki Arseniğin Borik Asit ve Boraks Üretimine Etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5 (1), 51-58.
- Baert, Y., De Kock, J., Alves-Lopes, J. P., Söder, O., Stukenborg, J. B., and Goossens, E. 2017. Primary human testicular cells self-organize into organoids with testicular properties. *Stem Cell Reports*, 8 (1), 30-38.
- Baerwald, A. R., Adams, G. P., and Pierson, R. A., 2011. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Human Reproduction Update*, 18 (1), 73-91.
- Baird, K., Creedy, D. K., Saito, A. S., and Eustace, J., 2018. Longitudinal evaluation of a training program to promote routine antenatal enquiry for domestic violence by midwives. *Women and Birth*, 31 (5), 398-406.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1982. *Theory and practice of Histological Techniques*. Churchill livingstone, Edinburg (2nd ed.), 662.
- Begum, B. N., and Hasan, S., 2014. Psychological problems among women with infertility problem: a comparative study. *J Pak Med Assoc*, 64 (11), 1287-91.

- Bello, M., Guadarrama-García, C., Velasco-Silveyra, L. M., Farfán-García, E. D., and Soriano-Ursúa, M. A. 2018. Several effects of boron are induced by uncoupling steroid hormones from their transporters in blood. *Medical Hypotheses*, 118, 78-83.
- Bender, H. R., Trau, H. A., and Duffy, D. M. 2017. Placental growth factor is required for ovulation, luteinization, and angiogenesis in primate ovulatory follicles. *Endocrinology*, 159 (2), 710-722.
- Bennegård-Edén, B., Hahlin, M., & Kindahl, H. 1995. Ovary and ovulation: Interaction between oxytocin and prostaglandin F2 α in human corpus luteum?. *Human Reproduction*, 10 (9), 2320-2324.
- Bennegård-Edén, B., Hahlin, M., and Kindahl, H., 1995. Ovary and ovulation: Interaction between oxytocin and prostaglandin F2 α in human corpus luteum?. *Human Reproduction*, 10 (9), 2320-2324.
- Biason-Lauber, A., 2017. Human Sex Development: from Basic Science to Clinical Practice and Back. *Pediatric Endocrinology Reviews: PER*, 15 (1), 8-20.
- Bojić, M., Antolić, A., Tomićić, M., Debeljak, Ž., and Maleš, Ž., 2018. Propolis ethanolic extracts reduce adenosine diphosphate induced platelet aggregation determined on whole blood. *Nutrition Journal*, 17 (1), 52.
- Brażert, M., Kranc, W., Celichowski, P., Ożegowska, K., Budna-Tukan, J., Jeseta, M., and Kempisty, B., 2019. Novel markers of human ovarian granulosa cell differentiation toward osteoblast lineage: A microarray approach. *Molecular Medicine Reports*, 20 (5), 4403-4414.
- Broughton, D. E., and Moley, K. H., 2017. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertility and Sterility*, 107 (4), 840-847.
- Butterwick, L., de Oude, N., and Raymond, K., 1989. Safety assessment of boron in aquatic and terrestrial environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 17 (3), 339-371.
- Byskov, A. G., Andersen, C. Y., and Leonardsen, L., 2002. Role of meiosis activating sterols, MAS, in induced oocyte maturation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 187 (1-2), 189-196.
- Calabrese, G., Morgan, B., Riemer, J., 2017. Mitochondrial Glutathione: Regulation and Functions. *Antioxid Redox Signal*. 20; 27 (15): 1162-1177.
- Camacho- Cristóbal, J. J., Rexach, J., and González- Fontes, A., 2008. Boron in plants: deficiency and toxicity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50 (10), 1247-1255.
- Cao, J., Jiang, L., Zhang, X., Yao, X., Geng, C., Xue, X., and Zhong, L., 2008. Boric acid inhibits LPS-induced TNF- α formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 22 (3), 189-195.
- Capozzi, M. E., Savage, S. R., McCollum, G. W., Hammer, S. S., Ramos, C. J., Yang, R., and Penn, J. S., 2020. The peroxisome proliferator-activated receptor- β/δ antagonist GSK0660 mitigates retinal cell inflammation and leukostasis. *Experimental Eye Research*, 190, 107885.

- Celińska-Janowicz, K., Zaręba, I., Lazarek, U., Teul, J., Tomczyk, M., Pałka, J., and Mityk, W., 2018. Constituents of propolis: Chrysin, caffeic acid, p-coumaric acid, and ferulic acid induce PRODH/POX-dependent apoptosis in human tongue squamous cell carcinoma cell (CAL-27). *Frontiers In Pharmacology*, 9, 336.
- Ceyhan, D., and Yiğit, T. T., 2016. Güncel tamamlayıcı ve alternatif tıbbi tedavilerin sağlık uygulamalarındaki yeri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6 (3), 178-189.
- Chang, H., Yuan, W., Wu, H., Yin, X., and Xuan, H., 2018. Bioactive components and mechanisms of Chinese poplar propolis alleviates oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial cells injury. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18 (1), 142.
- Chen, Y., Xue, F., Han, C., Yang, H., Han, L., Li, K., and Yu, L., 2019. Ferulic acid ameliorated placental inflammation and apoptosis in rat with preeclampsia. *Clinical and Experimental Hypertension*, 41 (6), 524-530.
- Chou, C. H., and Chen, M. J., 2018. The effect of steroid hormones on ovarian follicle development. In *Vitamins and hormones* (Vol. 107, pp. 155-175). Academic Press.
- Danish, L., Imig, D., Allgöwer, F., Scheurich, P., and Pollak, N., 2018. Bcl-2-mediated control of TRAIL-induced apoptotic response in the non-small lung cancer cell line NCI-H460 is effective at late caspase processing steps. *PloS one*, 13 (6), e0198203.
- Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta, P., Durairajanayagam, D., Henkel, R., and Sadeghi, M. R., 2018. Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16 (1), 87.
- Daumler, D., Chan, P., Lo, K. C., Takefman, J., and Zelkowitz, P., 2016. Men's knowledge of their own fertility: a population-based survey examining the awareness of factors that are associated with male infertility. *Human Reproduction*, 1-10.
- Demirtaş, O., Kaya, M., Boleken, M. E., Kanmaz, T., Çelik, H., Baba, F., and Yücesan, S., 2010. Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında pentoksifilin etkisi. *Çocuk Cerrahisi Dergisi*, 24 (1), 1-6.
- Demiryılmaz, I., Turan, M. I., Kisaoglu, A., Gulapoglu, M., Yilmaz, I., and Suleyman, H. 2014., Protective effect of nimesulide against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats: effects on oxidant/antioxidants, DNA mutation and COX-1/COX-2 levels. *Pharmacological Reports*, 66 (4), 647-652.
- Devequi-Nunes, D., Machado, B. A. S., de Abreu Barreto, G., Silva, J. R., da Silva, D. F., da Rocha, J. L. C., and Umsza-Guez, M. A., 2018. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. *PloS One*, 13 (12), 0207-676.
- Dewailly, D., Robin, G., Peigne, M., Decanter, C., Pigny, P., and Catteau-Jonard, S., 2016. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Human Reproduction Update*, 22 (6), 709-724.

- Dickey, R. P., Taylor, S. N., Lu, P. Y., Sartor, B. M., Rye, P. H., and Pyrzak, R., 2002. Effect of diagnosis, age, sperm quality, and number of preovulatory follicles on the outcome of multiple cycles of clomiphene citrate-intrauterine insemination. *Fertility and Sterility*, 78 (5), 1088-1095.
- Diedrich, J. T., Klein, D. A., and Peipert, J. F., 2017. Long-acting reversible contraception in adolescents: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 216 (4), 364-e1.
- Dilaver, N., Pellatt, L., Jameson, E., Ogunjimi, M., Bano, G., Homburg, R., and Rice, S., 2019. The regulation and signalling of anti-Müllerian hormone in human granulosa cells: relevance to polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*, 34 (12), 2467-2479.
- Doğan, N., Hayoğlu, İ., 2012. Propolis ve Kullanım Alanları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 16 (3), 39-48.
- Domergue, J., Pécaut, J., Proux, O., Lebrun, C., Gateau, C., Le Goff, A., and Delangle, P., 2019. Mononuclear Ni (II) Complexes with a S3O Coordination Sphere Based on a Tripodal Cysteine-Rich Ligand: pH Tuning of the Superoxide Dismutase Activity. *Inorganic Chemistry*, 58 (19), 12775-12785.
- Durous, V., Milot, L., Buy, J. N., Deval, B., and Rousset, P., 2019. Auto-amputated adnexa in a young woman: Multimodal imaging to rule in a pelvic rolling stone. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 48 (6), 423-426.
- Duydu, Y., Aydın, S., Undeger, U., Yavuz Ataman, O., Aydos, K., Düker, Y., and Maximilian Bolt, H., 2016. Is boric acid toxic to reproduction in humans? Assessment of the animal reproductive toxicity data and epidemiological study results. *Current Drug Delivery*, 13 (3), 324-329.
- El Amki, M., and Wegener, S., 2017. Improving cerebral blood flow after arterial recanalization: a novel therapeutic strategy in stroke. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (12), 2669.
- El, M., Closon, F., Brichant, G., Kotzampassakis, N., and Nisolle, M., 2018. Chemical peritonitis complicating the spontaneous rupture of a dermoid cyst of the ovary. *Revue Medicale de Liege*, 73 (7-8), 413-418.
- El-Dakdoky, M. H., and Abd El-Wahab, H. M., 2013. Impact of boric acid exposure at different concentrations on testicular DNA and male rats fertility. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23 (5), 360-367.
- Elnakady, Y. A., Rushdi, A. I., Franke, R., Abutaha, N., Ebaid, H., Baabbad, M., and Al Ghamdi, A. A., 2017. Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia. *Scientific Reports*, 7, 41-453.
- Eltzschig, H. K., and Eckle, T., 2011. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature Medicine*, 17 (11), 1391.
- Farfán-García, E. D., Castillo-Mendieta, N. T., Ciprés-Flores, F. J., Padilla-Martínez, I. I., Trujillo-Ferrara, J. G., and Soriano-Ursúa, M. A., 2016. Current data regarding the structure-toxicity relationship of boron-containing compounds. *Toxicology letters*, 258, 115-125.
- Feng, C. W., Bowles, J., and Koopman, P., 2014. Control of mammalian germ cell entry into meiosis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382 (1), 488-497.

- Field, S. L., Dasgupta, T., Cummings, M., and Orsi, N. M., 2014. Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation. *Molecular Reproduction and Development*, 81 (4), 284-314.
- Folkvord, S., Odegaard, O.A., Sundby, J., 2005. Male infertility in Zimbabwe. *Patient Education Counseling*, 59 (3), 239-43.
- Forman, H. J., Zhang, H., and Rinna, A., 2009. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30 (1-2), 1-12.
- Fujishita, A., Araki, H., Yoshida, S., Hamaguchi, D., Nakayama, D., Tsuda, N., and Khan, K. N., 2015. Outcome of conservative laparoscopic surgery for Adnexal Torsion through one- stage or two- stage operation. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 41 (3), 411-417.
- Gallardo-Williams, M. T., Maronpot, R. R., Turner, C. H., Johnson, C. S., Harris, M. W., Jayo, M. J., and Chapin, R. E., 2003. Effects of boric acid supplementation on bone histomorphometry, metabolism, and biomechanical properties in aged female F-344 rats. *Biological Trace Element Research*, 93 (1-3), 155-169.
- Galvão, A.M., Skarzynski, D., Ferreira-Dias, G., 2018. Luteolysis and the Auto-, Paracrine Role of Cytokines From Tumor Necrosis Factor α and Transforming Growth Factor β Superfamilies. *Vitamins and Hormones*, 107, 287-315.
- Garcia-Mazcorro, J. F., Kawas, J. R., and Marroquin-Cardona, A. G., 2019. Descriptive Bacterial and Fungal Characterization of Propolis Using Ultra-High-Throughput Marker Gene Sequencing. *Insects*, 10 (11), 402.
- Gawriluk, T.R., Rucker, E.B.B.E.C.N.1., 2015. corpus luteum function, and preterm labor. *Autophagy*, 11 (1), 183-4.
- Ge, N., Liang, H., Zhao, Y. Y., Liu, Y., Gong, A. J., and Zhang, W. L., 2018. Aplysin Protects Against Alcohol- Induced Liver Injury Via Alleviating Oxidative Damage and Modulating Endogenous Apoptosis- Related Genes Expression in Rats. *Journal of Food Science*, 83 (10), 2612-2621.
- Geyikoglu, F., Koc, K., Colak, S., Erol, H. S., Cerig, S., Yardimci, B. K., and Ozek, N. S., 2019. Propolis and Its Combination with Boric Acid Protect Against Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting Oxidative Stress, Inflammation, DNA Damage, and Apoptosis in Rats. *Biological Trace element Research*, 1-8.
- Ginath, S., Shalev, A., Keidar, R., Kerner, R., Condrea, A., Golan, A., and Sagiv, R., 2012. Differences between adnexal torsion in pregnant and nonpregnant women. *Journal of minimally invasive gynecology*, 19 (6), 708-714.
- Ginther, O.J., 2019. Intraovarian spatial and vascular harmony between follicles and corpus luteum in monovulatory heifers, mares, and women. *Theriogenology*, 128, 31-39.
- Glorieux, C., and Calderon, P. B., 2017. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biological Chemistry*, 398 (10), 1095-1108.
- Gnoth, C., Godehardt, E., Frank-Herrmann, P., Friol, K., Tigges, J., and Freundl, G., 2005. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Human Reproduction*, 20 (5), 1144-1147.

- Goes, A. T., Jesse, C. R., Antunes, M. S., Ladd, F. V. L., Ladd, A. A. L., Luchese, C., and Boeira, S. P., 2018. Protective role of chrysin on 6-hydroxydopamine-induced neurodegeneration a mouse model of Parkinson's disease: Involvement of neuroinflammation and neurotrophins. *Chemico-Biological Interactions*, 279, 111-120.
- Gorudko, I. V., Grigorieva, D. V., Sokolov, A. V., Shamova, E. V., Kostevich, V. A., Kudryavtsev, I. V., and Panasencko, O. M., 2018. Neutrophil activation in response to monomeric myeloperoxidase. *Biochemistry and Cell Biology*, 96 (5), 592-601.
- Groot, A. C., 2013. Propolis: a review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects. *Dermatitis*, 24 (6), 263-282.
- Grossman, H., Chuderland, D., Ninio-Many, L., Hasky, N., Kaplan-Kraicer, R., and Shalgi, R., 2015. A novel regulatory pathway in granulosa cells, the LH/human chorionic gonadotropin-microRNA-125a-3p-Fyn pathway, is required for ovulation. *The FASEB Journal*, 29 (8), 3206-3216.
- Guan, Y., Zhang, W., Wang, X., Cai, P., Jia, Q., and Zhao, W., 2017. Cell-free DNA induced apoptosis of granulosa cells by oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 473, 213-217.
- Guo, C., Yin, Y., Duan, J., Zhu, Y., Yan, J., Wei, G., and Wen, A., 2015. Neuroprotective effect and underlying mechanism of sodium danshensu [3-(3, 4-dihydroxyphenyl) lactic acid from *Radix* and *Rhizoma Salviae miltiorrhizae*=*Danshen*] against cerebral ischemia and reperfusion injury in rats. *Phytomedicine*, 22 (2), 283-289.
- Güvenç, M., Cellat, M., Uyar, A., Özkan, H., Gokcek, İ., İslar, C. T., and Yakan, A., 2019. Nobiletin Protects from Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats by Suppressing Inflammatory Cytokines and Regulating iNOS-eNOS Expressions. *Inflammation*, 1-11.
- Hajiboland, R., Bahrami-Rad, S., and Bastani, S., 2013. Phenolics metabolism in boron-deficient tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] plants. *Acta Biologica Hungarica*, 64 (2), 196-206.
- Halici, Z., Karaca, M., Keles, O. N., Borekci, B., Odabasoglu, F., Suleyman, H., and Unal, B., 2008. Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertility and Sterility*, 90 (6), 2408-2415.
- Hamilton, K. J., Hewitt, S. C., Arao, Y., and Korach, K. S., 2017. Estrogen hormone biology. In *Current topics in Developmental Biology* (Vol. 125, pp. 109-146). Academic Press.
- Handyside, A.H., 2018. Designer babies' almost thirty years on. *Reproduction*, 156 (1), F75-F79.
- Hazman, Ö., Bozkurt, M. F., Fidan, A. F., Uysal, F. E., and Çelik, S., 2018. The effect of boric acid and borax on oxidative stress, inflammation, ER stress and apoptosis in cisplatin Toxication and nephrotoxicity developing as a result of Toxication. *Inflammation*, 41 (3), 1032-1048.
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., and Ma, X., 2017. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44 (2), 532-553

- Hrycay, E. G., and Bandiera, S. M., 2015. Involvement of cytochrome P450 in reactive oxygen species formation and cancer. In *Advances in Pharmacology*. Vol. 74, pp. 35-84).
- Huang, C., Hong, M. K., and Ding, D. C., 2017. A review of ovary torsion. *Tzu-chi Medical Journal*, 29 (3), 143.
- Huang, H. Y., Helzlsouer, K. J., Appel, L. J., 2000. The effects of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage: results from a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 9 (7), 647-652.
- Huang, X., Wu, X., Yan, S., and Lan, T., 2018. Lipid-lowering effect of propolis in mice with Triton-WR1339-induced hyperlipidemia and its mechanism for regulating lipid metabolism. *Nan fang yi ke da xue xue bao= Journal of Southern Medical University*, 38 (8), 1020-1024.
- Hunt, C. D., 2012. Dietary boron: progress in establishing essential roles in human physiology. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26 (2-3), 157-160.
- Huntriss, J., Gosden, R., Hinkins, M., Oliver, B., Miller, D., Rutherford, A. J., and Picton, H. M., 2002. Isolation, Characterization and Expression of the Human Factor In the Germline alpha (FIGLA) gene in ovarian follicles and oocytes. *Molecular Human Reproduction*, 8 (12), 1087-1095.
- Jaffe, L. A., and Egbert, J. R., 2017. Regulation of mammalian oocyte meiosis by intercellular communication within the ovarian follicle. *Annual Review of Physiology*, 79, 237-260.
- Jeppesen, J. V., Kristensen, S. G., Nielsen, M. E., Humaidan, P., Dal Canto, M., Fadini, R., and Yding Andersen, C., 2012. LH-receptor gene expression in human granulosa and cumulus cells from antral and preovulatory follicles. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97 (8), E1524-E1531.
- Jiang, H. S., Lu, B. X., Ji, Z., Wang, L. X., and Zhang, S. J., 2004. Surgical procedure improvement to produce rat ischemia-reperfusion injury model with intraluminal suture. *Di 1 jun yi da xue xue bao= Academic Journal of the First Medical College of PLA*, 24 (10), 1156-1159.
- Jokinen, E., Heino, A., Karipohja, T., Gissler, M., and Hurskainen, R., 2017. Safety and effectiveness of female tubal sterilisation by hysteroscopy, laparoscopy, or laparotomy: a register based study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 124 (12), 1851-1857.
- Karamese, S. A., Toktay, E., Unal, D., Selli, J., Karamese, M., and Malkoc, I., 2015. The protective effects of beta-carotene against ischemia/reperfusion injury in rat ovarian tissue. *Acta Histochemica*, 117 (8), 790-797.
- Karimvand, S. K., Maeder, M., and Abdollahi, H., 2019. A chemical equilibrium modelling strategy for tuning the apparent equilibrium constants of the chemical systems. *Analytica Chimica Acta*, 1049, 29-37.
- Keskin, M., and Kolaylı, S., 2019. Ticari propolis ekstraktların kalite parametreleri açısından karşılaştırılması propolis karşılaştırılması. *Uludag Bee Journal*, 19 (1).
- Khan, M. S., Dodson, A. R., and Heatley, M. K., 1999. Ki-67, oestrogen receptor, and progesterone receptor proteins in the human rete ovarii and in endometriosis. *Journal of Clinical Pathology*, 52 (7), 517-520.

- Kim, M. O., Kim, S. H., Lee, S. R., Shin, M. J., Min, K. S., Lee, D. B., and Ryoo, Z. Y., 2007. Ectopic expression of tethered human follicle-stimulating hormone (hFSH) gene in transgenic mice. *Transgenic Research*, 16 (1), 65-75.
- Kimoto, T., Koya, S., Hino, K., Yamamoto, Y., Nomura, Y., Micallef, M. J., and Kurimoto, M., 2000. Renal carcinogenesis induced by ferric nitrilotriacetate in mice, and protection from it by Brazilian propolis and artemillin C. *Pathology International*, 50 (9), 679-689.
- Kimoto, T., Koya-Miyata, S., Hino, K., Micallef, M. J., Hanaya, T., Arai, S., and Kurimoto, M., 2001. Pulmonary carcinogenesis induced by ferric nitrilotriacetate in mice and protection from it by Brazilian propolis and artemillin C. *Virchows Archiv*, 438 (3), 259-270.
- Koh, S., Lee, K., Wang, C., Cabot, R. A., and Machaty, Z., 2009. STIM1 regulates store-operated Ca^{2+} entry in oocytes. *Developmental biology*, 330 (2), 368-376.
- Ku, W.W., Chapin, R.E., 1994. Mechanism of the testicular toxicity of boric acid in rats: in vivo and in vitro studies. *Environ Health Perspect*, 7,99-105.
- Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., and Krol, W., 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Kurusu, T., and Kuchitsu, Klants. *Journal of plant research*, 130 (3), 491-499.
- Lakzaei, H., Safari, T., and Komeili, G. R., 2019. Interaction of Sex Hormones and the Renin–Angiotensin System in Ovariectomized Rats Subjected to Ischemia-Reperfusion Induction. *Advanced Biomedical Research*, 8.
- Lan, C. C., Peng, C. K., Tang, S. E., Lin, H. J., Yang, S. S., Wu, C. P., and Huang, K. L., 2017. Inhibition of Na-K-Cl cotransporter isoform 1 reduces lung injury induced by ischemia–reperfusion. *The Journal of THoracic and Cardiovascular Surgery*, 153 (1), 206-215.
- Lensen, S. F., Manders, M., Nastri, C. O., Gibreel, A., Martins, W. P., Templer, G. E., and Farquhar, C., 2016. Endometrial injury for pregnancy following sexual intercourse or intrauterine insemination. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (6).
- Li, S., Fujino, M., Takahara, T., and Li, X. K., 2019. Protective role of heme oxygenase-1 in fatty liver ischemia–reperfusion injury. *Medical Molecular Morphology*, 52 (2), 61-72.
- Li, Y., Chen, Y., Zhang, X., Geng, L., Dai, B., Lv, X., Xu, F., 2018. Protective effect of electro-acupuncture on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Experimental and THERapeutic Medicine*, 16 (2), 1373-1380.
- Lindsay, T.J., Vitrikas, K.R., 2015. Evaluation and treatment of infertility. *American Family Physician*, 1,91 (5), 308-14.
- Ling, M. L., Ching, P., Widadaputra, A., Stewart, A., and Sirijindadirat, N., 2018. APSIC guidelines for disinfection and sterilization of instruments in health care facilities. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 7 (1), 25.

- Lorès, P., Dacheux, D., Kherraf, Z.E., Nsota, Mbango, J.F.1., Coutton, C., Stouvenel, L., Ialy-Radio, C.1., Amiri-Yekta, A., Whitfield, M., Schmitt, A., Cazin, C., Givelet, M., Ferreux, L., Fourati, Ben, Mustapha, S., Halouani, L., Marrakchi, O., Daneshpour, A., E.I., Khouri, E., Do, Cruzeiro, M., Favier, M., Guillonneau, F., Chaudhry, M., Sakheli, Z., Wolf JP, Patrat, C., Gacon, G., Savinov, S.N, Hosseini, S.H., Robinson, D.R., Zouari, R., Ziyat, A., Arnoult, C., Dulioust, E., Bonhivers, M., Ray, P.F., and Touré, A., 2019. Mutations in TTC29, Encoding an Evolutionarily Conserved Axonemal Protein, Result in Asthenozoospermia and Male Infertility. *Human Genetic, Pii, S0002-9297 (19)*, 30395-7.
- Lu, Q., Liu, J., Li, X., Sun, X., Zhang, J., Ren, D., and Li, J., 2020. Empagliflozin attenuates ischemia and reperfusion injury through LKB1/AMPK signaling pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 501, 110642.
- Lyck, R., and Enzmann, G., 2015. The physiological roles of ICAM-1 and ICAM-2 in neutrophil migration into tissues. *Current Opinion in Hematology*, 22 (1), 53-59.
- Mancini, S. J., Boyd, D., Katwan, O. J., Strembitska, A., Almabrouk, T. A., Kennedy, S., and Salt, I. P., 2018. Canagliflozin inhibits interleukin-1 β -stimulated cytokine and chemokine secretion in vascular endothelial cells by AMP-activated protein kinase-dependent and-independent mechanisms. *Scientific Reports*, 8 (1), 5276.
- Marinucci, L., Lilli, C., Guerra, M., Belcastro, S., Becchetti, E., Stabellini, G., and Locci, P., 2003. Biocompatibility of collagen membranes crosslinked with glutaraldehyde or diphenylphosphoryl azide: an in vitro study. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 67 (2), 504-509.
- Marshall, S. A., Senadheera, S. N., Parry, L. J., and Girling, J. E., 2017. The role of relaxin in normal and abnormal uterine function during the menstrual cycle and early pregnancy. *Reproductive Sciences*, 24 (3), 342-354.
- Martel, C., Gagné, D., Couet, J., Labrie, Y., Simard, J., and Labrie, F., 1994. Rapid modulation of ovarian 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ 5- Δ 4 isomerase gene expression by prolactin and human chorionic gonadotropin in the hypophysectomized rat. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 99 (1), 63-71.
- Matozzo, V., Battistara, M., Marisa, I., Bertin, V., and Orsetti, A., 2016. Assessing the effects of amoxicillin on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and protein carbonyl content in the clam *Ruditapes philippinarum* and the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97 (4), 521-527.
- McFadden, D., 2013. A review of pterostilbene antioxidant activity and disease modification. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2, 575- 482.
- McQueen, P., 2017. Autonomy, age and sterilisation requests. *Journal of Medical Ethics*, 43 (5), 310-313.
- Melcer, Y., Maymon, R., Pekar-Zlotin, M., Vaknin, Z., Pansky, M., and Smorgick, N., 2018. Does she have adnexal torsion? Prediction of adnexal torsion in reproductive age women. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 297 (3), 685-690.

- Melo, N. D. O. R., Juanes, C. D. C., Alves, M. F. D. A., Silva, E. T. M., Jamaru, F. V. F., Lemos, T. L. G. D., and Dornelas, C. A., 2018. Effect of red propolis on hamster cheek pouch angiogenesis in a new sponge implant model. *Acta Cirurgica Brasileira*, 33 (5), 420-430.
- Menken, J., Trussell, J., and Larsen, U., 1986. Age and Infertility. *Science*, 233 (4771), 1389-1394.
- Miller, B. A., and Cheung, J. Y., 2016. TRPM2 protects against tissue damage following oxidative stress and ischaemia-reperfusion. *The Journal of Physiology*, 594 (15), 4181-4191.
- Minguini, I. P., Luquetti, C. M., Baracat, M. C. P., Maganhin, C. C., Nunes, C. D. O., Simões, R. S., and Soares Junior, J. M., 2019. Melatonin effects on ovarian follicular cells: a systematic review. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 65 (8), 1122-1127.
- Mito, T., Yoshioka, K., Noguchi, M., Yamashita, S., and Hoshi, H., 2013. Recombinant human follicle- stimulating hormone and transforming growth factor- alpha enhance in vitro maturation of porcine oocytes. *Molecular Reproduction and Development*, 80 (7), 549-560.
- Mogilner, J. G., Lurie, M., Coran, A. G., Nativ, O., Shiloni, E., and Sukhotnik, I., 2006. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatric Surgery International*, 22 (1), 99-105.
- Mohammed, B. T., Sontakke, S. D., Ioannidis, J., Duncan, W. C., and Donadeu, F. X., 2017. The adequate corpus luteum: miR-96 promotes luteal cell survival and progesterone production. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 102 (7), 2188-2198.
- Monte, A. P. O., Barros, V. R. P., Santos, J. M., Menezes, V. G., Cavalcante, A. Y. P., Gouveia, B. B., and Matos, M. H. T., 2019. Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in the sheep ovary and the synergistic effect of IGF-1 and FSH on follicular development in vitro and LH receptor immunostaining. *Theriogenology*, 129, 61-69.
- Mounieb, F., Ramadan, L., Akool, E. S., and Balah, A., 2017. Propolis alleviates concanavalin A-induced hepatitis by modulating cytokine secretion and inhibition of reactive oxygen species. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 390 (11), 1105-1115.
- Murphy, M. P., 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, 417(1), 1-13.
- Najafpour, A., and Azizizadeh, H., 2018. Interaperitoneal Administration of Alpha-Tocopherol Loaded Nanoparticles Improves Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Ovaries Torsion and Detorsion Model. *Bulletin of Emergency & Trauma*, 6 (3), 207.
- Naydenova, E., Wesselinova, D., Staykova, S., Danalev, D., and Dzimbova, T., 2019. Synthesis, in vitro biological activity and docking of new analogs of BIM-23052 containing unnatural amino acids. *Amino Acids*, 51 (9), 1247-1257.
- Nayki, C., Nayki, U., Keskin Cimen, F., Kulhan, M., Yapca, O. E., Kurt, N., and Bilgin Ozbek, A., 2018. The effect of rutin on ovarian ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Gynecological Endocrinology*, 34 (9), 809-814.

- Neri, M., Riezzo, I., Pascale, N., Pomara, C., and Turillazzi, E., 2017. Ischemia/reperfusion injury following acute myocardial infarction: a critical issue for clinicians and forensic pathologists. *Mediators of Inflammation*.
- Nielsen, F.H., Stoecker, B.J., 2009. Boron and fish oil have different beneficial effects on strength and trabecular microarchitecture of bone. *Journal Trace Element Medicine Biology*, 23, 195–203.
- Nishiyama, Y., Fukamizo, T., Yoneda, K., and Araki, T., 2017. Complete amino acid sequence of a copper/zinc-superoxide dismutase from ginger rhizome. *The Protein Journal*, 36 (2), 98-107.
- Ogston, P. L., Mackintosh, V. H., and Myers, B. J., 2011. Hope and worry in mothers of children with an autism spectrum disorder or Down syndrome. *Research in Autism Spectrum Disorders*, 5 (4), 1378-1384.
- Oikonomidis, I. L., Kiosis, E. A., Brozos, C. N., and Kritsepi-Konstantinou, M. G., 2017. Reference intervals for serum reactive oxygen metabolites, biological antioxidant potential, and oxidative stress index in adult rams. *American Journal of Veterinary Research*, 78 (3), 274-278.
- Ortadevevi, A., and Semih, Ö. Z. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Bir Derleme. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 39 (3), 115-124.
- Osés, S. M., Pascual-Maté, A., Fernández-Muiño, M. A., López-Díaz, T. M., and Sancho, M. T., 2016. Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chemistry*, 196, 1215-1223.
- Oudshoorn, S.C., van, Tilborg, T.C., Eijkemans, M.J.C., Oosterhuis, G.J.E., Friederich, J., van. Hooff, M.H.A., van .Santbrink, E.J.P., Brinkhuis, E.A., Smeenk, J.M.J., Kwee, J., de Koning, C.H., Groen, H., Lambalk, C.B., Mol, B.W.J., Broekmans, F.J.M., andTorrance, H.L., 2017. OPTIMIST study group. Individualized versus standard FSH dosing in women starting IVF/ICSI: an RCT. Part 2: The predicted hyper responder. *Human Reproduction*, 32 (12), 2506-2514.
- Owens, L. A., Abbara, A., Lerner, A., O'floinn, S., Christopoulos, G., Khanjani, S., ... and Dhillon, W. S., 2017. The direct and indirect effects of kisspeptin-54 on granulosa lutein cell function. *Human Reproduction*, 33 (2), 292-302.
- Ozlem, K., Birkan, Y., Mustafa, K., and Emin, K., 2018. Protective effect of *Vaccinium myrtillus* on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 57 (6), 836-841.
- Pascolo, L., Sena, G., Gianoncelli, A., Cernogoraz, A., Kourousias, G., Metscher, B. D., and Tromba, G., 2019. Hard and soft X-ray imaging to resolve human ovarian cortical structures. *Journal of Synchrotron Radiation*, 26 (4).
- Peña, F. J., O'Flaherty, C., Ortiz Rodríguez, J. M., Martín Cano, F. E., Gaitskell-Phillips, G. L., Gil, M. C., and Ortega Ferrusola, C., 2019. Redox Regulation and Oxidative Stress: The Particular Case of the Stallion Spermatozoa. *Antioxidants*, 8 (11), 567.
- Peng, J., Yuan, Y., Shen, S., Niu, Z., Du, Y., Wu, J., and Wang, J., 2016. Immunopotential of four natural adjuvants co-administered with a highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus glycoprotein 5 subunit. *Virus Genes*, 52 (2), 261-269.

- Pérez-Rodríguez, M., García-Mendoza, E., Farfán-García, E. D., Das, B. C., Ciprés-Flores, F. J., Trujillo-Ferrara, J. G., and Soriano-Ursúa, M. A., 2017. Not all boronic acids with a five-membered cycle induce tremor, neuronal damage and decreased dopamine. *Neurotoxicology*, 62, 92-99.
- Perović, A., Unić, A., and Dumić, J., 2014. Recreational scuba diving: negative or positive effects of oxidative and cardiovascular stress?. *Biochemia Medica: Biochemia Medica*, 24 (2), 235-247.
- Pham, C. T., Karnon, J. D., Norman, R. J., and Mol, B. W., 2018. Cost-effectiveness modelling of IVF in couples with unexplained infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 37 (5), 555-563.
- Poljicanin, A., Filipovic, N., Pusic, T. V., Soljic, V., Caric, A., Saraga-Babic, M., and Vukojevic, K., 2015. Expression pattern of RAGE and IGF-1 in the human fetal ovary and ovarian serous carcinoma. *Acta Histochemica*, 117 (4-5), 468-476.
- Pressly, J. D., and Park, F., 2016. DNA repair in ischemic acute kidney injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 312 (4), F551-F555.
- Prosser, K. E., Chang, S. W., Saraci, F., Le, P. H., and Walsby, C. J., 2017. Anticancer copper pyridine benzimidazole complexes: ROS generation, biomolecule interactions, and cytotoxicity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 167, 89-99.
- Qian, H., Yuan, T., Tong, J., Sun, W. S., Jin, J., Chen, W. X., and Zhao, J., 2017. Antioxidants attenuate oxidative stress-induced hidden blood loss in rats. *Turkish Journal of Hematology*, 34 (4), 334.
- Raban, O., Zilber, H., Hadar, E., Efrat, Z., Krissi, H., Wiznitzer, A., Bardin, R., 2018. Isolated Fallopian Tube Torsion: A Unique Ultrasound Identity or a Serial Copycat?. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 37 (10), 2387-2393.
- Ramana, K. V., Srivastava, S., and Singhal, S. S., 2017. Lipid peroxidation products in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (21), 63-285.
- Rashad, N. M., Amal, S., Abomandour, H. G., Aboelfath, A. M. K., el sayed Rafeek, M., Badr, M. S., and Fathy, M. A., 2019. Intercellular adhesion molecule-1 expression and serum levels as markers of pre-clinical atherosclerosis in polycystic ovary syndrome. *Journal of Ovarian Research*, 12 (1), 97.
- Raup-Konsavage, W. M., Wang, Y., Wang, W. W., Feliers, D., Ruan, H., and Reeves, W. B., 2018. Neutrophil peptidyl arginine deiminase-4 has a pivotal role in ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Kidney International*, 93 (2), 365-374.
- Richani, D., and Gilchrist, R. B., 2017. The epidermal growth factor network: role in oocyte growth, maturation and developmental competence. *Human Reproduction Update*, 24 (1), 1-14.
- Richards, J. S., Ren, Y. A., Candelaria, N., Adams, J. E., and Rajkovic, A., 2017. Ovarian follicular theca cell recruitment, differentiation, and impact on fertility: 2017 update. *Endocrine Reviews*, 39 (1), 1-20.
- Roach, M.K., Andreotti, R.F., 2017. The Normal Female Pelvis. *Clinical Obstet Gynecology*, 60 (1):3-10.
- Robker, R. L., Hennebold, J. D., and Russell, D. L., 2018. Coordination of ovulation and oocyte maturation: A good egg at the right time. *Endocrinology*, 159 (9), 3209-3218.

- Romero, R., Conde-Agudelo, A., Da Fonseca, E., O'Brien, J. M., Cetingoz, E., Creasy, G. W., and Nicolaides, K. H., 2018. Vaginal progesterone for preventing preterm birth and adverse perinatal outcomes in singleton gestations with a short cervix: a meta-analysis of individual patient data. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 218 (2), 161-180.
- Roth, L. M., 1971. Massive ovarian edema with stromal luteinization: a newly recognized virilizing syndrome apparently related to partial torsion of the mesovarium. *American Journal of Clinical Pathology*, 55 (6), 757-760.
- Sak, M.E., Soydinc, H.E., Sak, S., Evsen, M.S., Alabalik, U., Akdemir, F., and Gul, T., 2013. The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *International Journal Surgery* 11: 967-970.
- Sandeep Varma, R., Shamsia, S., Thiagarajan, O. S., Vidyashankar, S., and Patki, P. S., 2014. Yashada bhasma (Z inc calx) and T ankana (B orax) inhibit *Propionibacterium acne* and suppresses acne induced inflammation in vitro. *International Journal of Cosmetic Science*, 36 (4), 361-368.
- Sasaki, K. J., and Miller, C. E. 2014. Adnexal torsion: review of the literature. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*, 21 (2), 196-202.
- Sasano, H., and Suzuki, T., 1997. Localization of steroidogenesis and steroid receptors in human corpus luteum. Classification of human corpus luteum (CL) into estrogen-producing degenerating CL, and nonsteroid-producing degenerating CL. *Semin Reprod Endocrinol*, 15 (4), 345-51.
- Sayar, I., Bicer, S., Gursul, C., Gürbüz, M., Peker, K., and Işık, A., 2016. Protective effects of ellagic acid and ozone on rat ovaries with an ischemia/reperfusion injury. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 42 (1), 52-58.
- Sayyah-Melli, M., Rashidi, M. R., Kaseb-Ganeh, M., Rashtchizadeh, N., Taghavi, S., Ouladsahebmadarek, E., and Ghojaziadeh, M., 2012. The effect of erythropoietin against oxidative damage associated with reperfusion following ovarian detorsion. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 162 (2), 182-186.
- Schiffner, R., Bischoff, S., Lehmann, T., Rakers, F., Rupprecht, S., Reiche, J., and Schmidt, M., 2017. Redistribution of cerebral blood flow during severe hypovolemia and reperfusion in a sheep model: Critical role of α 1-adrenergic signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (5), 1031.
- Schmidt, K. L. T., Kryger-Baggesen, N., Byskov, A. G., and Andersen, C. Y., 2005. Anti-Müllerian hormone initiates growth of human primordial follicles in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 234 (1-2), 87-93.
- Schubert, G. A., and Thome, C., 2008. Cerebral blood flow changes in acute subarachnoid hemorrhage. *Front Biosci*, 13 (1594), 603.
- Schumer, M., Colombel, M. C., Sawczuk, I. S., Gobe, G., Connor, J., O'toole, K. M., and Buttyan, R., 1992. Morphologic, biochemical, and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods of renal ischemia. *The American Journal of Pathology*, 140 (4), 831.
- Scibior, D., and Cieczot, H. 2006. Katalaza–budowa, właściwości, funkcje [Catalase: structure, properties, functions]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 60, 170-180.
- Sen, A., Kushnir, V. A., Barad, D. H., and Gleicher, N., 2014. Endocrine autoimmune diseases and female infertility. *Nature Reviews Endocrinology*, 10 (1), 37.

- Sharara, F. I., and Nieman, L. K., 1994. Identification and cellular localization of growth hormone receptor gene expression in the human ovary. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 79 (2), 670-672.
- Shi, Y., and Shao, X., 2019. Development of Microfluidic Technology in Reproductive Researches, 37(9), 925-931.
- Shimizu, T., Iijima, K., Miyabayashi, K., Ogawa, Y., Miyazaki, H., Sasada, H., and Sato, E., 2007. Effect of direct ovarian injection of vascular endothelial growth factor gene fragments on follicular development in immature female rats. *Reproduction*, 134 (5), 677-682.
- Silber, S., 2015. Unifying theory of adult resting follicle recruitment and fetal oocyte arrest. *Reproductive Biomedicine Online*, 31 (4), 472-475.
- Silja, A., and Gowri, V., 2008. Torsion of a normal ovary in the third trimester of pregnancy: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 2 (1), 378.
- Soares, M., Sahrari, K., Chiti, M. C., Amorim, C. A., Ambroise, J., Donnez, J., and Dolmans, M. M., 2015. The best source of isolated stromal cells for the artificial ovary: medulla or cortex, cryopreserved or fresh?. *Human Reproduction*, 30 (7), 1589-1598.
- Srivastava, G., and Mehta, J. L., 2009. Currying the heart: curcumin and cardioprotection. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 14 (1), 22-27.
- Stark, K., Eckart, A., Haidari, S., Tirniceriu, A., Lorenz, M., von Brühl, M. L., and Hepper, I., 2013. Capillary and arteriolar pericytes attract innate leukocytes exiting through venules and instruct them with pattern-recognition and motility programs. *Nature Immunology*, 14 (1), 41.
- Strand-Amundsen, R. J., Tronstad, C., Kalvøy, H., Ruud, T. E., Høgetveit, J. O., Martinsen, Ø. G., and Tønnessen, T. I., 2018. Small intestinal ischemia and reperfusion-bioimpedance measurements. *Physiological Measurement*, 39 (2), 025001.
- Şentürk, H., Fatih, K. A. R., Hacıoğlu, C., and Kanbak, G., 2018. Renal İskemi-Reperfüzyon ile İndüklenmiş Oksidatif Stres Hasarının Pankreas Üzerine Etkisi: Doza Bağımlı Borik Asitin Rolü. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 21 (6), 944-949.
- Tang, Z. Y., Loss, G., Carmody, I., and Cohen, A. J., 2006. TIMP-3 ameliorates hepatic ischemia/reperfusion injury through inhibition of tumor necrosis factor- α -converting enzyme activity in rats. *Transplantation*, 82 (11), 1518-1523.
- Tarumi, W., Itoh, M. T., and Suzuki, N., 2014. Effects of 5 α -dihydrotestosterone and 17 β -estradiol on the mouse ovarian follicle development and oocyte maturation. *Plos One*, 9 (6), 99423.
- Taylan, N., Gürbüz, H., and Bulutcu, A. N., 2007. Effects of ultrasound on the reaction step of boric acid production process from colemanite. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14 (5), 633-638.
- Tepedelen, B. E., Soya, E., and Korkmaz, M., 2016. Boric acid reduces the formation of DNA double strand breaks and accelerates wound healing process. *Biological Trace Element Research*, 174 (2), 309-318.
- Turk, H., and Genisel, M., 2019. Melatonin-related mitochondrial respiration responses are associated with growth promotion and cold tolerance in plants. *Cryobiology*.

- Turrens, J. F., 2003. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552 (2), 335-344.
- Ulusik, I., Karakaya, H. C., and Koc, A., 2018. The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 45, 156-162.
- Van Seeters, J.A.H., Chua, S.J., Mol, B.W.J., and Koks, C.A.M., 2017. Tubal anastomosis after previous sterilization: a systematic review. *Human Reproduction Update*. 1;23 (3):358-370.
- Virant-Klun, I., 2015. Postnatal oogenesis in humans: a review of recent findings. *Stem cells and cloning: Advances and Applications*, 8, 49.
- Wang, K., Zhang, J., Ping, S., Ma, Q., Chen, X., Xuan, H., and Hu, F., 2014. Anti-inflammatory effects of ethanol extracts of Chinese propolis and buds from poplar (*Populus× canadensis*). *Journal of Ethnopharmacology*, 155 (1), 300-311.
- Wang, Y., Su, Y., Lai, W., Huang, X., Chu, K., Brown, J., and Hong, G., 2019. Salidroside Restores an Anti-inflammatory Endothelial Phenotype by Selectively Inhibiting Endothelial Complement After Oxidative Stress. *Inflammation*, 1-16.
- Warwar, R. E., and Schmidt, G. E., 2019. Bilateral ovarian torsion with ovarian fusion in the setting of polycystic ovarian syndrome: A case report. *Case Reports in Women's Health*, e00129.
- Wassel, M. O., and Khattab, M. A., 2017. Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and inhibition of bacterial induced enamel demineralization of propolis, miswak, and chitosan nanoparticles based dental varnishes. *Journal of Advanced Research*, 8 (4), 387-392.
- Wekker, V., Karsten, M. D., Painter, R. C., Van De Beek, C., Groen, H., Mol, B. W. J., and Roseboom, T. J., 2018. A lifestyle intervention improves sexual function of women with obesity and infertility: A 5 year follow-up of a RCT. *PloS one*, 13 (10), e0205934.
- Winterhager, E., and Kidder, G. M., 2015. Gap junction connexins in female reproductive organs: implications for women's reproductive health. *Human Reproduction Update*, 21 (3), 340-352.
- Wu, M. Y., Yiang, G. T., Liao, W. T., Tsai, A. P. Y., Cheng, Y. L., Cheng, P. W., and Li, C. J., 2018. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 46(4), 1650-1667.
- Wu, Z. M., Yang, Q., Li, Z. Y., Chen, D., Jiang, L. J., Li, X. D., and Liu, Z. W., 2017. The role of estrogen related-receptor γ and ATP-dependent K (+) channel Kcnj1 in renal ischemia-reperfusion injury. *Zhonghua yi Xue za Zhi*, 97 (38), 3017-3021.
- Xu, B., Zhang, Q., Zhao, J., Wang, Y., Xu, D., and Li, Y., 2017. Pregnancy outcome of in vitro fertilization after Essure and laparoscopic management of hydrosalpinx: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 108 (1), 84-95.
- Xu, J., Zheng, T., Hong, W., Ye, H., Hu, C., and Zheng, Y., 2018. Mechanism for the decision of ovarian surface epithelial stem cells to undergo neo-oogenesis or ovarian tumorigenesis. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 50 (1), 214-232.
- Yang, W., Wu, Z., Huang, Z. Y., and Miao, X., 2017. Preservation of orange juice using propolis. *Journal of food Science and Technology*, 54 (11), 3375-3383.

- Yigiter, M., Halici, Z., Odabasoglu, F., Keles, O. N., Atalay, F., Unal, B., and Salman, A. B., 2011. Growth hormone reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: biochemical and histopathologic evaluation. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 157 (1), 94-100.
- Young, J. M., and McNeilly, A. S., 2010. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction*, 140 (4), 489-504.
- Yu, J., Zuo, T., Deng, W., Shi, Q., Ma, P., Chen, C., and Wang, W., 2016. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition suppresses inflammation and promotes recovery from adrenal injury in a rat model of acute necrotizing pancreatitis. *BMC Gastroenterology*, 16 (1), 81.
- Yuan, Y., Alwis, I., Wu, M. C., Kaplan, Z., Ashworth, K., Bark, D., and Kile, B. T., 2017. Neutrophil macroaggregates promote widespread pulmonary thrombosis after gut ischemia. *Science Translational Medicine*, 9 (409), eaam5861.
- Zancanela, D. C., Funari, C. S., Herculano, R. D., Mello, V. M., Rodrigues, C. M., Borges, F. A., and Guastaldi, A. C., 2019. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours. *Materials Science and Engineering Chemistry*, 97, 576-582.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., and Folz, R.J., 2002. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (3), 337-349.
- Zhang, W., Chen, Q., Yang, Y., Liu, W., Zhang, M., Xia, G., and Wang, C. 2014. Epidermal growth factor- network signaling mediates luteinizing hormone regulation of BNP and CNP and their receptor NPR2 during porcine oocyte meiotic resumption. *Molecular Reproduction and Development*, 81 (11), 1030-1041.

ÖZGEÇMİŞ

1994 yılında Somali'nin GURI-EL şehrinde doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini GURI-EL'de tamamlamıştır. 2013 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2017'de başarıyla mezun olmuştur. 2017 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisans öğrenimine başlamıştır.

