



T. C

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL OVER
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
LUPEOLÜN ETKİLERİ**

TTU-2024-9673

UZMANLIK TEZİ

SONUÇ RAPORU

DR. DENİZ YEŞİLLİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. KAN SÖNMEZ

ANKARA

TEMMUZ 2025

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİ ANABİLİM DALI

RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL OVER
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
LUPEOLÜN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. DENİZ YEŞİLLİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. KAAAN SÖNMEZ

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TTU-2024-9673 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
TEMMUZ 2025

TEŞEKKÜR

Çocuk cerrahisi alanında tecrübe ve bilgilerini bizlere aktaran; en zorlu vakalarda sakin ve saygılı kalmanın önemini gösteren, anne olduğumda izin sürem boyunca arkamda olduklarını hissettiğim, haklarını ödeyemeyeceğim değerli hocalarım; başta tez öğrencisi olmaktan onur duyduğum Prof.Dr.Kaan Sönmez olmak üzere Prof.Dr.Zafer Türkyılmaz, Prof.Dr.Ramazan Karabulut, Prof.Dr.Y. Hakan Çavuşoğlu, Doç.Dr.Cem Kaya, Dr.Öğr.Üye Alparslan Kapısız'a;

Ameliyathanede bizlere cerrahi ekip olmanın ne demek olduğunu öğreten, değerli anestezi hocamız; Prof.Dr.Berrin Işık'a;

Uzman olacakları zamana kadar her biri ayrı yol göstericim olan Op.Dr.Sibel Eryılmaz, Op.Dr.Kıvanç Şeref, Op.Dr.Teysmurha Muradi, Op.Dr.Merve Altın Gülburun, Op.Dr.Hayrunnisa Horozcu'ya;

Uzmanlığa giden yolu her anıyla birlikte kucakladığımız sevgili Op.Dr.Nassim Emaratpardaz ve Op.Dr. Abdurrahman Tartık'a;

İlerledikleri yolda yanlarında olmaya çalıştığım Op.Dr.Gökhan Arkan, Dr. Fatmanur Aracıer Uçaner, Dr. Leyla Nur Türker, Dr. Bensu Şule Bülbül, Dr. Betül Bozkurt'a ve ekibe katılmalarından mutluluk duyduğum Dr.Gonca Güney Keçeli, Dr. EfeDilek, Dr. Özlem Nur Yıldırım ve Dr.Ceren Şimşek'e,

Tez çalışmamda yer alan, histopatolojik incelemelerde beni destekleyen; Prof.Dr. Aylar Poyraz ve Doç.Dr. Betül Öğüt hocalarıma,

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimine TTU-2024-9673 kodlu proje için destek sağladıklarından dolayı,

Cerrahi yoğunluğumuzu çekilir kılan, her biri alanında yetkin sevgili servis, poliklinik, ameliyathane hemşirelerimize, personellerimize ve sekreterlerimize;

Çocukların geleceğimiz demek olduğunu öğreten, hayatta bana hep destek çıkan anneme; hayata farklı açılardan bakıp sıfırdan gelip başarabilmeyi öğreten canımbabama; varlığını her zaman yanımdahissettiğim canım ablama ve ailesine;

Hayatın beklemediğim anında karşıma çıkıp beni geliştiren, en zorlu anlarda beni motive eden canım eşim Mert ve uzmanlığa hazırlık aşamamda bir çocuğun desteğinden çok daha fazlasını hissettiren, gözlerine baktığımda bile enerjim olan canım oğlumAlp'e;

Hayatta özverinin, bilginin, yeniliğe açık olmanın, sevginin ne olduğu hakkındabana ışık olan canım ananem ve dedeme;

Doğum izninden döndüğümde aklımı bir an bile geride bıraktırmayan, özveriyle oğluma sevgisini, ilgisini hissettiren merhametli, candan Çiğdem İpek teyzemize;

Sonsuz saygı, sevgive teşekkürlerimle ...

Dr. Deniz Yeşilli

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 OVER	4
2.1.1 Embriyoloji.....	4
2.1.2 Histoloji	6
2.1.3 Anatomi	6
2.2 OVER TORSİYON	9
2.2.1 Tanımı	9
2.2.2 Tarihçe.....	9
2.2.3. Epidemiyoloji	10
2.2.4 Patogenez ve Risk faktörleri.....	10
2.2.5 OVER TORSİYONUNA TANISAL YAKLAŞIM	12
2.2.6 Tedavi Yaklaşımı	19
2.3 İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI	20
2.3.1.İskemi-Reperfüzyon Hasarının Mekanizması	21
2.3.2 Serbest radikaller	25

2.3.3. ANTIÖKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMASI.....	29
2.4 Overyan İskemi/Reperfüzyon Hasarı	33
2.5 Lupeol.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1 Deneysel Çalışma Modeli	35
3.1.1	36
Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	36
3.1.2	37
Ameliyat aşaması	37
3.2. Histopatolojik İnceleme	40
3.3. Biyokimyasal İncelemeler	41
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	43
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ	66
7. KAYNAKLAR.....	67
8. ÖZET.....	77
9. ABSTRACT	79
10. ÖZGEÇMİŞ.....	81

KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'- azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat
Aβ	: Amiloid beta
ADP	: Adenozin Difosfat
AMH	: Anti Müllarian hormon
AMP	: Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
AFP	: Alfa Fetoprotein
Al	: Alüminyum
As	: Arsenik
Bax	: Bcl-2-associated X protein
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CA	: Karsinojenik Antijen
Ca⁺²	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
Cr	: Krom
CRP	: C Reaktif Protein
Cu	: Bakır
DAB	: 3,3' diaminobenzidine
DNA	: Deoksiribonükleik Asit

E2	: Estradiol
Fe	: Demir
FSH	: Folikül stimulan hormon
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
Hg	: Civa
H2O2	: Hidrojen Peroksit
ICAM	: İntersellüler adhezyon molekül
IL	: İnterlökin
IFN	: İnterferon
K +	: Potasyum
KO	: Ksantin Oksidaz
KDH	: Ksantin Dehidrojenaz
LH	: Lüteinize edici hormon
MDA	: Malondialdehit
Mn	: Mangan
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
MR	: Manyetik Rezonans
Na+	: Sodyum

NAD+	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
Ni	: Nikel
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
Nrf2	: Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör
O2	: Moleküler Oksijen
O2 -	: Süperoksit
OH-	: Hidroksil
OSI	: Oksidatif Stres İndeks
PMNL	: PolimorfNüveli Lökosit
PDS	: Polidiakson Sütür
SOR	: Serbest Oksijen Radikali
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Skor
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
TOS	: Total Oksidan Skor
USG	: Ultrason

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gruplara göre biyokimyasal parametre değerleri.....	45
Tablo 2. Serum TAS değerlendirmelerinde dağılım tablosu.....	46
Tablo 3. Doku TAS değerlendirmelerinde dağılım tablosu	47
Tablo 4. Serum TOS değerlendirmelerinde dağılım tablosu.....	47
Tablo 6. Serum OSİ değerlendirmeleri tablosu.....	49
Tablo 7. Doku OSİ değerlendirmeleri tablosu	49
Tablo 8. Serum kaspaz-3 değerlerine göre dağılım tablosu	50
Tablo 9. Doku kaspaz-3 değerlerine göre dağılım tablosu.....	51
Tablo 10. Serum AMH değerlendirmeleri dağılımı	51
Tablo 11. Doku AMH değerlendirmeleri dağılımı.....	52
Tablo 12. Folliküler dejenerasyon histopatolojik değişikliği açısından grupların karşılaştırılması	53
Tablo 13. Hemoraji histopatolojik değişikliği açısından grupların karşılaştırılması .	54
Tablo 14. Vasküler konjesyon açısından grupların karşılaştırılması	54
Tablo 15. Ödem değişiklikleri açısından grupların değerlendirilmesi	55

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Overin embriyolojik gelişimi	5
Şekil 2. Uterus, fallopi tüpleri ve overlerin anatomisi	8
Şekil 3. Over torsiyonunda tanı şeması	17
Şekil 4. İskemi döneminde oksijen radikali oluşumunda ksantin oksidazın rolü .	23
Şekil 5. Nitrik oksit sentaz yolağının iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü	24
Şekil 6. İskemireperfüzyon hasarı şeması	32

RESİM LİSTESİ

Resim 1. 8 y k hasta; 3 günlük karın ağrısı	16
Resim 2. Over torsiyonunda MR görüntüleme	18
Resim 3. Bilateral adnekslerin 720 derece saat yönü torsiyonundan sonra 4/0 pds (polidiakson) ile batın yan duvarına tespiti	39
Resim 4. Adnekslerin detorsiyone edildikten sonra görünümü	39
Resim 5. İskemi grubundaki adnekslerin sakrifikasyon öncesi görünümü	40
Resim 6. Tedavi grubundaki adnekslerin sakrifikasyon öncesi görünümü.....	40
Resim 7. Patoloji incelemelerinin mikroskop altında görünümü	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Over torsiyonu pediatrik ve adölesan yaş grubunda nadir görülmekle birlikte sıklığı 5:100 000'dir (1). Bu yaş grubu over torsiyonun %52'si 9-14 yaş arasında görülürken ortalama görülme yaşı 11'dir (2). Over torsiyonu normal overlerde %16-49 görülürken geri kalanını ise kitle nedenli torsiyonlar oluşturmaktadır (3). Over torsiyonunda eski yaklaşım ooferektomi iken 1946 yılında Way 2 vakalık serisinde detorsiyon yapıp over fonksiyonunun korunabileceğini göstermiştir (4). Vancaille ise 1987 yılında 19 yaşındaki bir hastanın overinin koyu mavi nekrotik görünümüne rağmen detorsiyone edilip, parsiyel kistektomi ve ooferopeksi yapılmasının ardından kontrol laparoskopisinde detorsiyone edilen overin boyut olarak küçük görünmesine rağmen ultrasonografik değerlendirmesinde normal follüküler fonksiyonuna devam ettiğini göstermiştir (5). Zaman içerisinde literatüre kazandırılan yayınlarla konservatif metodun uygun olan vakalarda güvenilir bir metod olduğu kanıtlanmıştır (6).

Over torsiyonunda önce venöz ve lenfatik dolaşım bozulup süreç uzadığında arteriyel dolaşım bozukluğu da ortaya çıkar. Arteriyel akım bozulduğunda over; kısa sürede nekrotik gangrenöz hale gelir. Bu nedenle erken cerrahi müdahale ve ooferektomi yöntemi detorsiyon tanımlanmadan önce kabul gören bir yöntem olarak uygulanmıştır (7).

Overin kanlanması iki farklı daldan olup mesovariumda bu iki dal anastomoz yapmaktadır. Overyan arter; abdominal aortadan ayrılırken; diğer

arteri ise uterin arterin overyan dalıdır. Over torsiyonunda genelde altında yatan bir patofizyolojik mekanizma overin volüm olarak artışı olup, diğer nedenleri ise tuba ve mesosalpinksin fazla hareketliliği ile uzun overyan ligamenttir (8). Ayrıca overin tek taraflı torsiyonu; iskemi reperfüzyon sürecinde histolojik ve yapısal değişiklikler, karşı overde de meydana gelmektedir (9).

Over detorsiyonundan sonra başlayan reperfüzyon sürecinde proinflamatuvar mediatörlerin indüklediği bir kaskad oluşur. Eğer doku iskemisi sonucunda nekrotik durum varsa reperfüzyonda apoptoz indüklenmektedir. İskemide; doku adenozin tri fosfat (ATP) azalırken; dokuda adenozin, hipoksantin ve ksantin gibi ATP bozunma ürünleri artar ve doku; anaerobik metabolizmaya yönelir. Bozulmuş kan akımının yeniden sağlanması ardından aerobik metabolizma yeniden başlar ve doku hasarına yol açan serbest oksijen radikalleri (SOR) üretilir (10). Over detorsiyonu sonrası reperfüzyon hasarından overi korumak amacıyla çeşitli antioksidan maddelerin over koruyucu etkisi araştırılmaktadır. Antioksidan maddeler; endojen ve ekzojen maddeler olarak da sınıflandırılabilir (11). Bu maddelerden biri olan Lupeol; zeytin, incir, mango, havuç, soya fasülyesi, kavun çekirdeği, üzüm ve Bowdichia virgilioides medikal bitkisinde bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda lupeolün antioksidan, antiinflamatuvar, antihiperglisemik, antidislipidemik, antiartritik, kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve yara iyileştirici etkileri in vivo ve in vitro olarak deney modellerinde gösterilmiştir (12).

Lupeol, hücreleri oksidatif stresin neden olduğu mitokondriyal apoptoza karşı korur. İn vitro çalışmalar, lupeolün SOR oluşumunu engelleme, redoks dengesini koruma, Bcl-2 ekspresyonunu arttırarak, Bax ekspresyonunu inhibe ederek, kaspaz 9 ve 3 aktivasyonunu önleyerek anti-apoptotik etkilerini göstermektedir (13).

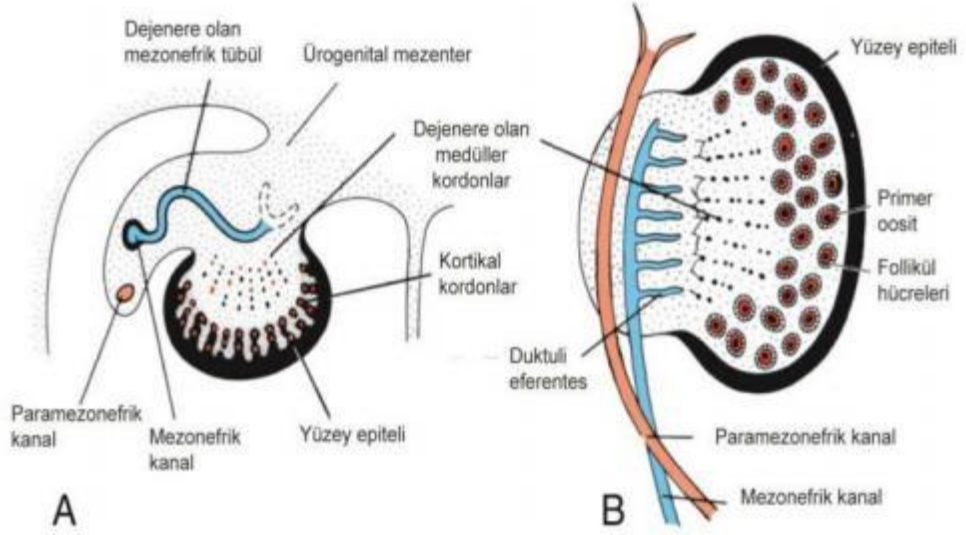
Bu çalışmada antioksidan, antiinflamatuvar etkisi farklı dokularda gösterilen Lupeol'ün deneysel over torsiyonu yapılan ratlarda over iskemi reperfüzyon hasarında etkisinin olup olmadığı incelenecektir. Lupeol'ün anti-Müllerian hormon (AMH) ölçümüyle sağlıklı over hücre rezervine (14), vücut total oksidan skoru (TOS) ve total antioksidan skoru (TAS) ile antioksidan ve kaspaz-3 ile apoptoz üzerine etkisi gösterilerek literatüre katkı sağlaması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 OVER

2.1.1 Embriyoloji

Primitif gonadlar embriyolojik hayatın 5. haftasında mezonefrozun anteromedialinde belirir. Gonadal kabarıklıklar; epitelyum ve alttaki mezenşimin proliferasyonundan oluşur, germ hücreleri 6. haftaya kadar bulunmamaktadır. Germ hücreleri 6-7. haftada son barsağın dorsal mezenterini izleyerek kemotaksisle embriyonik yolk kesesinden gonadal kordonlara göç ederek içini doldurur. Bu zamana kadar farklılaşmamış gonad yapısı mevcuttur. Primordiyal germ hücreleri; gonadların farklılaşmasında uyarıcı etkiye sahiptir (15). Embriyolojik cinsiyet farklılaşmasında ilk aşama; seks kromozomlarının bir araya gelmesidir. Genetik seksin belirlenmesiyle gonadal seksin de ne yönde gelişeceği genel hatlarıyla belirlenmiş olur (16). Testis belirleyici faktör (TDF) yoksa 12. haftaya kadar gonadda kortikal gelişme görülmezken 12. haftada primer seks kordları kaybolur, kortikal kordlar gelişir, primordiyal germ hücreleri bu kordlar tarafından sarılır (Granüloza hücreleri) ve mezenşimden Teka hücrelerini oluşturur. Germ hücreleri 15. haftaya kadar mitozla çoğalır; oogonia ve primer oositlere dönüşür. Aynı zamanda yüzey epitelinden geçip germ hücrelerini çevreleyen epitelde foliküler hücreler meydana gelir. Oogonia ve foliküler hücrelerden primordiyal folliküller oluşur (15).



Şekil 1. Overin embriyolojik gelişimi

A: Kortikal kordun değişimi, medüller primitif sekskordlarının dejenerasyonu (7. hafta) B: Over ve genital kanal gelişimi, medüller kord dejenerasyonu (15)

Östrojen varlığında, testosteron ve AMH yokluğunda paramezonefrik kanallar ana dişi genital kanallara dönüşür. Bu genital kanal; karın boşluğuna açılan kranial dikey kısım, mezonefriği geçen yatay kısım ve kanalla birleşen kaudal dikey kısım olmak üzere 3 yapıdan oluşmaktadır. Gonadların inmesiyle birlikte ilk 2 kısım fallop tüpüne dönüşür. Paramezonefrik kanalların ikinci kısmı orta ve aşağıya doğru hareket ettiğinde ürogenital çıkıntılar enine bir düzlemde uzanmaya başlar. Overlerin inişi tamamlandıktan sonra paramezonefrik kanalın yanlarında uzanan kısımlar Broad ligamentini oluşturur. Uterus ve Broad ligament pelvisi; uterorektal ve uterovezikalpoş olarak ayırır (15).

2.1.2 Histoloji

Overler; basit küboidal epitelle çevrili olup mezotelyumla devamlılık sağlamaktadır. Kapsülü sıkı bağ doku yapısındaki tunika albugenia ile çevrilidir. Overin dış kısmı korteks olarak adlandırılır ve farklı boyutlardaki over foliküllerini içermektedir. İç kısmında damarsal olarak zengin gevşek fibroelastik bağ dokudan oluşan medulla bulunmaktadır. Oositler; primordial germ hücrelerinden farklılaşır. Primordiyal germ hücrelerinin bazıları sekizinci gebelik haftasından itibaren çoğalarak oogonia adını alır. Bu dönemde gonadı; over olarak adlandırmak oldukça güçtür. Overlere ulaşan oogoniumlar mitoz bölünme ile çoğalarak primer oositleri oluşturmak üzere büyürler. Primer oositler, over stromal hücreleri ile çevrilerek, kortekste tek sıralı epitelyum hücreleri ile çevrelenmiş primordial follikülleri oluşturur. Primordiyal foliküller içerisindeki primer oositler, menstrual siklus başlangıcına kadar mayoz bölünmenin I profaz evresinde beklemektedir, sonrasında her menstrual siklusta olgunlaşan oosit, döllenme olmadığı sürece atılmaktadır (17).

2.1.3 Anatomi

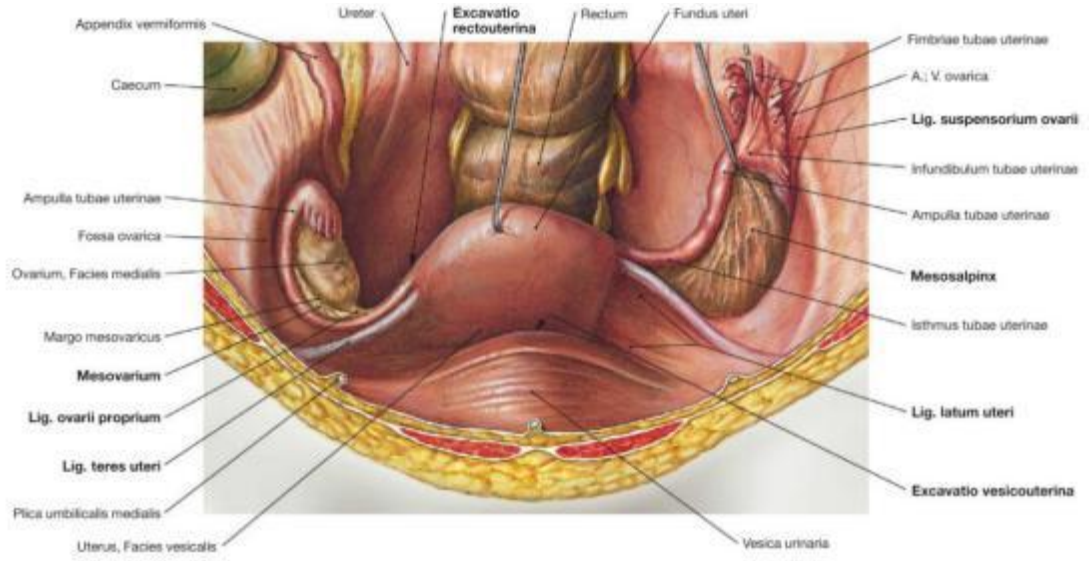
Embriyonik ve erken fetal yaşamda overler; böbrekler yakınındaki lumbar bölgede bulunur. Yavaş yavaş gubernakulum boyunca inerler ve küçük pelviste dururlar.

Overler; uterusun her iki yanında Broad ligament posterior üst sınırına kadar mesovarium ile desteklenmekte olup lateral pelvik duvara yakın olarak yerleşim göstermektedir. Yoğun fibröz doku içerisine gömülü halde bulunan

overlerin boyutu üreme çağında ki kadınlarda 4x2x3 cm iken yenidoğanlarda 1.3x0.6x0.4 cm büyüklüğündedir. Menarş öncesinde over yüzeyi pürüzsüz bir yüzeye sahipken düzenli ovulasyon ve korpus luteum dejenarasyonu ile birlikte yüzeyi giderek skarlı bir görünüme ulaşır (18).

Overlerin lateral yüzeyi, ovaryan fossadaki parietal periton ile ilişki içerisindedir. Ovaryan fossa arkasında; ureter, internal iliak damarlar, obturator damarlar ve sinirler, uterin arterin çıkışı yer almaktadır. Overin medial yüzünde yer alan peritoneal boşluk; ovaryan bursa olarak adlandırılır ve bu bölgede uterus ve Broad ligamanı içerisinde yer alan uterin damarlarlatemas etmektedir.

Overin pozisyonunu; infundibulopelvik, overyan ligaman ve mesovaryum sağlamaktadır. İfundibulopelvik ligaman; over damarlarını ve sinirlerini içeren, overlerin yan yüzeyinin üst kısmına bağlanan bir peritoneal kıvrımdır. Sağ tarafta, infundibulopelvik ligaman; çekum ve appendiksin posterior ve aşağısındaki periton kıvrımına yapışıktır. Sol tarafta, peritoneal bağlanma yeri sağa göre daha yüksektir, inen ve sigmoid kolonların birleşim yerinin lateralindedir (18).



Şekil 2. Uterus, fallopitüplerive overlerin anatomisi (19)

Overin kanlanması; abdominal aorttan köken alan overyan arterler ve uterin arterin overyan dalıyla sağlanmaktadır. Arterleri takip eden ovaryan venler; mezovaryumda pampiniform pleksusu oluşturur. Overyan venler; sağda vena cava, solda ise renal vene dökülmektedir. Genel olarak lenfatik drenajıysa overyan venleri takip ederek renal arterlerin çıkışı seviyesinde paraaortik lenf nodlarına doğrudur. Nadiren Round ligamanı takip ederek inguinal lenf nodlarına da olabilmektedir (18, 19).

Overin üst kısmının innervasyonu; renal ve aortik pleksuslardan, alt kısmınınsa superior ve inferior hipogastrik pleksuslardan sağlanmaktadır. Bu pleksuslar postganglionik sempatik lifleri ve preganglionik parasempatik lifleri içerirler. Efferent preganglionik sempatik lifler 10. ve 11. torasik spinal segmentlerden kaynaklanır (18, 19).

2.2 OVER TORSİYON

2.2.1 Tanımı

Over torsiyonu; overin kendi vasküler eksenini etrafında dönmesiyle oluşan venöz konjesyon, takiben arteriyel yetmezlik ve bunun sonucunda gonadal iske mi, nekroz ve gonad kaybına kadar uzanan bir süreci tanımlamaktadır. Over torsiyonunda bu organın çift kan akımı ve over dokusu dayanıklılığı sayesinde geri dönüşümsüz hasarlanma süresi tam olarak bilinmemekle birlikte prelinik modellerde 36 saat geçtikten sonra irreversible adneksiyal nekroz olduğu gözlemlenmiştir (20).

2.2.2 Tarihçe

Over torsiyonunun tanımı ilk olarak 1890 yılında Sutton'a aittir (21). Over torsiyonunda klasik olarak tanımlanan ilk operasyon şekli; tromboemboli riski nedeniyle adneksotomi prosedürü olup 1946 senesine dek devamlılığını sürdürmüştür. Stanley Way, 1946 senesinde detorsiyon ve kistektomi ile konservatif prosedürü tanımlamıştır. Tromboemboli komplikasyonunun tahmin edilen kadar görülmediği; buna ek olarak detorsiyone edilmesinin kontralateral hasarı önlediği, detorsiyone edilen tarafta doku kanlanmasının postoperatif Doppler ultrason ile gözlemlenmesi ve profilaktik ooferopeksinin rekürrensi önlemesi açısından önemli olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (22).

2.2.3. Epidemiyoloji

Over torsiyonu jinekolojik aciller içerisinde beşinci sırada yer almaktadır. Prevalansı %2.7'dir (23). Pediatrik yaş grubunda insidansı; 4.9:100 000 olan over torsiyonu en sık menarş sonrası 9-14 yaş aralığında meydana gelmektedir (24). Over torsiyonu %64 sıklıkla sağ tarafta görülmekte olup, batın sol alt tarafta sigmoid kolonun bulunmasının over hareketliliğini engellediği düşünülmektedir. Torsiyon; tek başına overi veya fallop tüpünü ya da ikisini de içerebilir. Literatürde 52 hastalık bir retrospektif çalışmada izole tüp torsiyonu intraoperatif bulgular ışığında %29 olarak saptanmıştır (25, 26).

2.2.4 Patogenez ve Risk faktörleri

Over torsiyonuna eşlik eden overe ait patolojiler arasında genellikle benign kistik teratoma, hemorajik/foliküler kist, paratubal kist, hidrosalpinks, kistadenoma bulunmaktadır (6). Over torsiyonlarının sadece % 0.5-1.8'i over maligniteleriyle ilişkili olup kitle etrafındaki inflamasyon ve etrafındaki adhezyon yapılarıyla over torsiyon riskini azalttığı görülmüştür (27).

Torsiyon; genel olarak overyan kistlerin boyut artışına bağlı görülen bir komplikasyon olup, gonadotropin salgınımıyla oluşan fonksiyonel over kist boyut artışı; yaşamın ilk yılı ve premenarş döneminde iki defa pik yapmaktadır. Kistin >5 cm olması torsiyon riskini arttırmaktadır. Over torsiyonunda etkili olduğu düşünülen diğer faktörler arasında anatomik olarak fallop tüp, mezosalpinks ya da mezoovaryum yapısının normalden uzun ve hareketli olması; kusma/öksürme sırasında artan intraabdominal basınç; premenarşial hormonal

aktiviteye bağlı olarak uterusu nazaran over boyutundaki artıştan kaynaklı hareketliliğin artması; kabızlık nedeniyle meydana gelen sigmoid distansiyon sonucu adneksiyal venöz konjesyon yer almaktadır (3, 6).

Overyan kistlerde en sık rastlanan tip; hemorajik korpus luteum kisti olup (%26.4), diğerleri foliküler kist (%17.1), paratubal/paraovaryen kist (%8.6) ve neonatal kisttir (%5.7).

Oltmann ve arkadaşlarının literatürü derlediği toplam 707 pediatrik hastanın yer aldığı over torsiyonu görülen vakalarda over patolojilerinde malignitenin %1.8 oranında olduğu görülmektedir. Bu çalışmaya göre benign neoplazm %33 oranında olup %17'si teratoma, %8 kistadenoma, %9 dermoid kist, %0.3 fibroma ve %0.7 diğerpatolojiler olduğu görülmektedir (28).

Over torsiyonunda altta yatan patolojide benign-malign ayrımını yapmak için β -insan koryonik gonadotropin (β -HCG), alfa fetoprotein (AFP), laktat dehidrogenaz (LDH), karsiyojenik antijen-125 (CA-125) çalışılmalıdır. β -HCG; gebelik, germ-cell tümör, koryokarsinom, embriyonel hücreli karsinomda; AFP, yolk-sac ve embriyonel karsinomda, LDH disgerminomda, CA-125 ise epitelyal over malignitelerinde artmaktadır (27).

Antenatal saptanan over kistleri 1:2000-3000 doğumda bir görülmektedir. Maternal diyabet, Rh(-) uygunsuzluğu, fetal hipotiroidizm ve preeklampsi fetal gonadotropin seviyelerini arttırmakta ve bu nedenle antenal over kistleri görülmektedir (29). Antenatal bilateral over kistleri %5 oranında görülmektedir (30).

Antenatal over torsiyonlarında kompleks kistler yüksek insidansa sahiptir. Kistin boyutu <2cm ise spontan regrese olurken, >4 cm ise torsiyon riski artmaktadır. Ayrıca boyutu >4cm'den büyük antenatal kistlerin bağırsak obstrüksiyonuna, polihidroamniyoza, üriner sistem basısına neden olduğu da gösterilmiştir. Fetal over kistlerinin ayırıcı tanısında, mezenterik kist, urakal kist ve enterik duplikasyon kistleri yer almaktadır (29).

2.2.5 OVER TORSİYONUNA TANISAL YAKLAŞIM

Over torsiyonu tanısına; hastanın şikayetleri, fizik muayene bulguları, laboratuvar değerleri ve görüntüleme yöntemleri birlikte değerlendirilerek ulaşılmaktadır.

2.2.5.1. Anamnez

Over torsiyonu olan hastalar; ağrı, mide bulantısı ve kusma şikayetleriyle acile başvurumaktadırlar. Hepsi karın ağrısına sahiptir; klasik olarak ani başlayan karın ağrısı şikayeti olup sonrasında kalıcı kolik ağrı şikayeti görülmektedir. Bazı makalelerde over torsiyonu ağrısının flank, sırta yayılımı raporlanmıştır. Bu tip ağrısı olan hastalarda ağrı renal kolik, pankreatit ağrısıyla karışabilmektedir. Bu hastalarda ultrason; gerekli görülmesi durumunda ileri görüntüleme tetkikleri ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Bu tip ağrısı olan hastalarda over torsiyonu saptandıktan sonra anamnez dikkatli alındığında tekrarlayan over torsiyonu atakları olduğu görülmektedir (31). Over torsiyonu ağrısının başlangıcı; hastahane başvurusundan birkaç gün önce olabileceği gibi 1 ay öncesinde de başlayabilmektedir. Uzun süreli ağrının olması kısmi over torsiyonunu

desteklemektedir. Hastaların ağrısının temel nedeni; vasküler pedikülün oklüzyonu olup hipoksi kaynaklıdır (32). Over torsiyonu olan hastaların anamnezinde %90 karın ağrısı, %70 bulantı, %45 kusma, bir kısmında yan ağrısı ve ateş şikayetimevcuttur (32).

2.2.5.2. Fizik Muayene

Fizik muayenede hafif taşikardi, subfebril ateş (%18), yükselmiş kan basıncı mevcuttur. Genelde hassasiyet tek taraflı olup %30'unda fizik muayenede ağrı yoktur. Pelvik muayenede adneks yapıları palpabl olabilmekle birlikte, Moore ve arkadaşlarının çalışmasına göre adneksiyal torsiyonu olan %75 hastada palpabl kitle ele gelmemektedir (32).

Fizik muayenede ağrı lokalizasyonu her zaman patolojik bölgede olmayabilir. Bu hastalarda tanıya gitmek her zaman kolay olmazken ağrı başlangıçta epigastrik ya da periumblikal bölgede, klinik oturduğunda ise sağ/sol pelvikbölgeye lokalize olabilmektedir (33).

2.2.5.3 Ayırıcı Tanı

Over torsiyonu ağrısı; over ve tüplerin intraabdominal yerleşimi nedeniyle çocuklarda apandisit, nefrolithiyazis, inkarsere herni, mezenterik adenit, pelvik inflamatuvar hastalık, gastroenterit, ektopik gebelikle karışabilmektedir. Boley ve arkadaşlarının çalışmasında inguinal herni operasyonu planlanan 386 hastanın %4'ünde kese içerisinde over olduğu ve bu hastaların %27'sinde overin torsiyonevenekrotik olduğu görülmüştür (34).

Ağrı lokalizasyonunun benzer olmasının temelinde apandisit, over torsiyonu patolojilerinde visseral ağrı afferent sinirlerinin lokalizasyonunun aynı bölgede olması ve ağrının somatizasyonunun zayıf olması bulunmaktadır. Apandisit olan bir hastada ağrının afferenti olan visseral sinirin T8-T10 spinal kord aralığında, over patolojilerinde sempatik sinir liflerinin T10-T12 spinal kord aralığında bulunmasıdır (33).

2.2.5.3.1 Laboratuvar

Laboratuvar ve görüntüleme bulgularının birlikte değerlendirilmesi sonucunda kesintiyaulaşılmaktadır. Laboratuvar tetkiklerinde over torsiyonunu destekleyici, spesifik belirteçler araştırılmaktadır. Günümüze dek yapılan çalışmalarda IL-6, D-dimer, C-reaktif protein (CRP), beyaz küre sayısı (WBC), nötrofil-lenfosit oranı (NLR) kullanılmaktadır. Bu biyomarkerlar sistemik inflamatuvar reaksiyonlara duyarlı olup over torsiyonunda da over iskemi hasarı ve nekrozuna bağlı yükselmektedir. Bu biyomarkerların transabdominal ultrasonografiyle birlikte yorumlanması over torsiyonu tanısına ulaşılanmasında destekleyicidir. Nötrofil-lenfosit oranının >3 olması; over torsiyonunu destekleyici bir laboratuvar bulgusu olarak bilinmektedir (35). Bir başka çalışmada NLR cut off değerı 2.45 olarak anlamlı bulunmuştur. İskemik dokunun varlığı; lökosit ve nötrofil sayısını arttırmakta, lenfosit sayısını etkilememektedir. Benzer şekilde over torsiyonunu laboratuvar bulgularıyla değerlendirirken platelet-lenfosit oranı (PLR) da kullanılmaktadır (36). Sistemik inflamatuvar süreçte akut faz reaktanı CRP artışı olmasıyla birlikte lenfosit-CRP oranı

düşüklüğü de akut over torsiyonunu destekleyici bir parametre olarak değerlendirilmektedir. CRP yüksekliği; over torsiyonunda yükselmekle birlikte 6 saat içerisinde anlamlı yükselmesi nedeniyle over torsiyonu gibi akut bir olayda apandisit gibi bir akut batın patolojisine göre görece düşük kalmaktadır. Bu belirteçlerin hiçbiri kesin tanıya ulaşmayı sağlamayıp ultrasonografiyle birlikte değerlendirildiğinde anlamlıdır (36).

2.2.5.3.2 Görüntüleme Yöntemleri

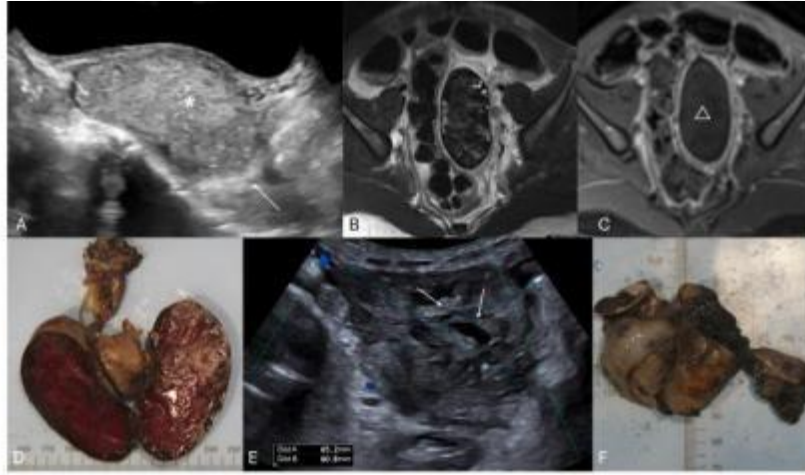
2.2.5.3.2.1 Direkt grafi

Direkt grafi; over torsiyonu veya kitleleri açısından nadiren yardımcı olabilmektedir. Pelvik kalsifikasyon ve kitle bası durumlarında bilgi vermektedir. Karın ağrısı etyolojisinin aydınlatılmasında rutin olarak apandisit, inkarsere inguinal herni, ileus, volvulus, konstipasyon ve üriner taş gibi karın ağrısı sebeplerinin aydınlatılmasına yardımcı olabilmektedir (37).

2.2.5.3.2.2 Ultrasonografi

Over torsiyonu şüphesiyle ultrasonografi (US) yapıldığında görüntüleme; tek taraflı genişlemiş over, adneksiyal kitle kompleksi, Doppler US ile görülen kan akımı kesilmesi ve girdap bulgusu, perifere yer değiştirmiş folliküller, patolojik overin medializasyonu, uterusun orta hattan yer değiştirmesi, pelviste serbest sıvı bulgularının varlığı over torsiyonunu desteklemektedir (38). Perifere yer değiştirmiş folliküller polikistik overde de görülebileceğinden klinikle ultrason bulgularının korelasyonu önemtaşımaktadır.

Over normal boyutunun 4 cm'e kadar ulaşabildiği bilinmektedir. US'de over torsiyonunda tek taraflı over boyutu artışı; tek başına bile yol gösterici bir bulgu olabilmektedir. Oltmann ve arkadaşlarının çalışmasına göre 1 yaş istindeki çocuklarda over boyutunun 5 cm üzerinde olması over torsiyonu aşısından belirleyici bir faktördür (39).

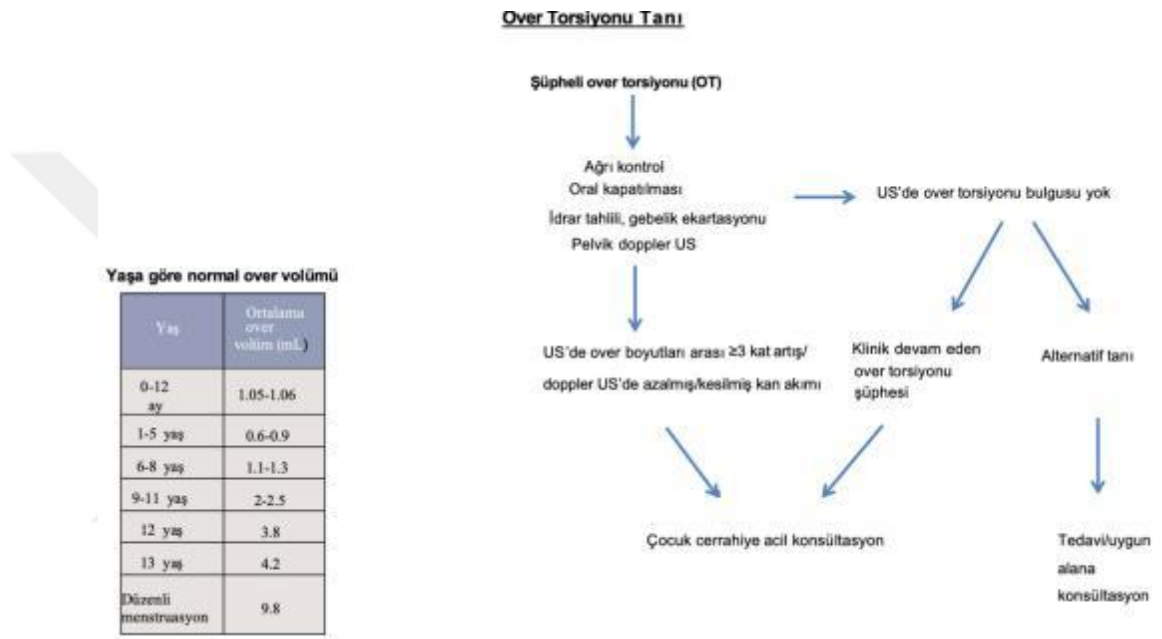


Resim 1. 8 yk hasta; 3 gınlık karın ağrısı.

A: Transabdominal US'de parenkimal heterojenite, hiperekojen görünüm B: T2 ağırlıklı MR kesitlerde sol overde parankim kaybı, genişlemiş sol over C:US'de görilmeyen küçük foliküler yapılar. D: Acil oofektomiye alınan hastanın nekrotize sol over görünümü E-F: 13 y k hasta, 3 gınlık karın ağrısıyla başvuru. E: US'de genişlemiş sağ over, hiper ve hipoekoik alanlar. F: Torsiyone sağ over görünümü (40)

Over volimini over torsiyonu aşısından değerlendiren çalışmalarda over volimi; uzunluk x yükseklik x genişlik x 0.523 formülü kullanılarak hesap edilebildiği gibi gıncel çalışmalarda daha belirleyici oranlar üzerine çalışılmaktadır. Adneksiyal oran kullanılarak over volimi artışından daha anlamlı sonuçlar bulunmuş olup; adneksiyal oran hesaplanmasında ağıllı over/adneks

volümünün etkilenmeyen over/adneks volümüne bölünmesiyle sonuca ulaşılmaktadır. Adneksiyal volümün <20 ml olması negatif prediktör değer olarak bulunmuştur. Adneksiyal volüm oranının >20 olması %70 over torsiyonunu desteklemektedir (41).

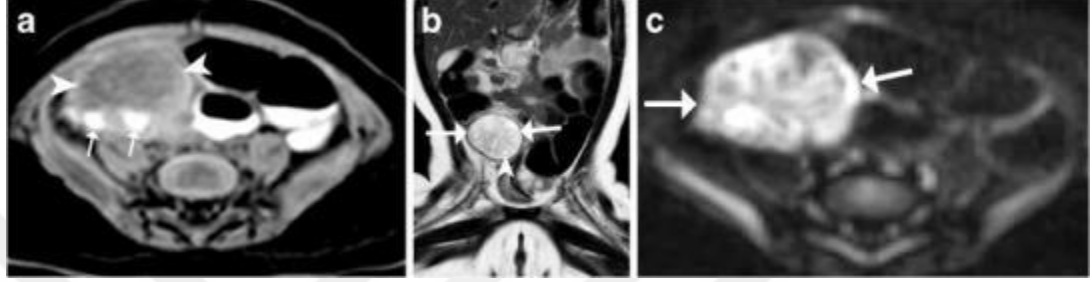


Şekil 3. Over torsiyonundatanı şeması (42)

2.2.5.3.2.3 İleri Görüntüleme Tetkikleri

Over torsiyonu şüphesi olan ancak ultrasonografi bulgularının şikayeti açıklamadığı hastalarda adneksiyal torsiyonu göstermede ileri görüntüleme tetkiklerinden manyetik rezonans (MR) görüntüleme; tanıya ulaşmada %100 oranında sensitivite ve %94 oranında spesifiteye sahiptir. Çocuklarda adneksiyal torsiyonu göstermede ultrason; düşük sensitivite (%51-90) ve spesifite (%68.7) oranına sahiptir. US'nin değişen oranlarda tanıya ulaşmasında over anatomik

lokalizasyonunun çocukların gelişim dönemlerine göre lokalizasyon ve boyut farklılıklarından da kaynaklandığı düşünülmektedir (43).



Resim 2. Over torsiyonunda MR görüntüleme

a.T1 ağırlıklı kesitlerde boyutu artmış sağ over, overde hemorajik alanlar ve perifere itilmiş foliküller b. T2 ağırlıklı görüntülerde perifere itilmiş küçük folliküller c. Sağ torsiyone overin heterojen yapısı (44)

Adneksiyal torsiyonda ultrasonun yetersiz kaldığı durumlarda bilgisayarlı tomografi'ye (BT) göre MRI tercih edilmesi; çocuklarda iyonize radyasyon maruziyetini azalttığı için de önem taşımaktadır. Fakat özellikle adölesan dönemdeki çocukların erişkin acillere gece şartlarında başvurusundan dolayı BT'nin MR'a daha çok tercih edilmesine neden olmaktadır. BT' de adneksiyal torsiyonda; boyut artışı olan adneksin karşı tarafa geçmesi ya da orta hatta yaklaşması, etkilenen over tarafına doğru uterusun deviasyonu, over pedikülünün dönmesi, pelvik yağ doku artımı ve serbest sıvı infiltrasyonu görülür (45). Adneksiyal torsiyonda premenarş (<13 yaş) hastalarda MRI görüntülemeye; girdap bulgusu varlığı torsiyonu destekler. Bunun yanında over boyut artışı, volüm $\geq 30 \text{ cm}^3$, axis uzunluğu $\geq 5 \text{ cm}$ veyüzeyalanı $\geq 14 \text{ cm}^2$ olması adneksiyal torsiyonla yakın ilişki gösterir (43, 44).

2.2.6 Tedavi Yaklaşımı

Over torsiyonunda tanıya ulaşıldıktan sonra tedavisi acil cerrahi olup cerrahi seçenekleri; öncelikli over koruyucu detorsiyon olup gerekli görülmesi durumunda ooferopeksi ya da oofektomi işlemleridir. Laparoskopik cerrahinin gelişmesiyle birlikte over torsiyonunda da öncelikli tedavi minimal invaziv cerrahi yaklaşımdır. Amerika Pediatrik Cerrahi Derneği over görünümüne bağlı olmaksızın over koruyucu detorsiyon önermektedir (46). Over koruyucu cerrahi yapılan over kitlelerinde makroskopik olarak malignite düşünülmesi durumunda geride rezidü doku bırakılması endişesi; total oofektomi yapılmasına neden olmaktadır. Huerta ve arkadaşlarının yaptığı kohort çalışmada over malignitesi düşünülüp rezidü doku ihtimali nedeniyle total oofektomi yapılan hastaların %1'den daha azında rezidü doku kaldığı görülmektedir. Yapılan cerrahi yöntemden bağımsız olarak over torsiyon tekrarlayabilmektedir (46). Maligniteye bağlı over torsiyonu ihtimali düşünülmeğe over torsiyonu olan hastada AFP, beta-HCG, CA-125 gibi spesifik tümör belirteçlerinin çalışılması; operasyon esnasında yol gösterici olabilmektedir (47).

Detorsiyon yapılan vakalarda ikincil bakıda overin zamanla normal görünümüne döndüğü, postoperatif sonografik kontrollerde %88 follikül varlığı görülmektedir. Bu bulgular; overin kanlanması korunduğunu kanıtlar niteliktedir. Detorsiyon esnasında kistektomi ya da aspirasyon gibi ek yapılan işlemlerden de kaçınılması gerektiği belirtilmektedir (47).

Asenkron over torsiyonlarında ooferopeksi işlemi güncel yapılan yayınlarda desteklenmekte olup ooferopeksi işlemine bağlı komplikasyonlar

hakkında uzun süreli izlem çalışmaları bulunmamaktadır. Bununla birlikte over torsiyonuyla tim overin canlılığını kaybetme ihtimali göz önüne alındığında; ooferopeksiyle overin tespitlendiği bölgede doku canlılığının etkilenmesi gözle alınabilir bir risk olarak gözükmektedir (48). Bilateral asenkron over torsiyonu ilk olarak 1934 yılında Baron tarafından tanımlanmış olup Özcan ve arkadaşlarının çalışmasında bilateral asenkron over torsiyonunda hem detorsiyone edilen hem kontralateral over için ooferopeksi önerilmekte; postoperatif izlemde 8.ayda yapılan sonografi kontrolinde kan akımı sağlıklı, estradiol, LH ,FSH kontrolleri hastanın yaşına göre normal aralıklı uyumlu görülmüştür (31).

Over torsiyon/detorsiyonu; iskemi reperfüzyon hasarına neden olmakla birlikte fertilitiyi korumak, doku kanlanması arttırmak, oksidan madde salınımlarıyla ilişkili hücre hasarını mümkün olduğunca en aza indirmek için antioksidan maddelerin uygulanması deneysel iskemi reperfüzyon modeli çalışmalarına temel olmuştur (49, 50). Günümüze kadar pek çok antioksidan madde; etki mekanizması ve günlük hayata uygulanabilirlik açısından araştırılmıştır. Over iskemi reperfüzyon hasarında over dokusunda antioksidan etkileri açısından; vitamin B12 (51), N-asetilsistein (52), hidrojen zengin salin solüsyon (53), metilen mavisi (54), kolşisin (10), ginkgo biloba (55), etanercept (56) gibi pek çok madde çalışılmıştır.

2.3 İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

Dokulara gelen kan akımının kesilmesi sonucu oluşan hipoksiye bağlı, geçen sürede değişen derecelerde iskemi oluşmaktadır. Ana hedef; en erken

sürede kan akımının tekrar sağlanmasıdır. Dokulara kan akımı yeniden sağlandığında reperfüzyon hasarı gerçekleşir (57).

2.3.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Mekanizması

Vücutta çeşitli nedenlerle iskemi görülebilmektedir. Bunun başlıca nedenleri arasında ateroskleroz, akut myokard infarktüsü, organ nakli sayılabilir. Sırayla önce venöz takiben arteriyel kan akımının kesilmesiyle gelişen doku hipoperfüzyonu ve hipoksi sonucunda hücre düzeyinde birtakım olaylar zinciri başlamaktadır.

Hipoperfüzyon; hipoksiye yol açarak mitokondriyal elektron transportu mekanizmasının bozulmasına neden olmaktadır. ATP üretiminin azalmasıyla birlikte anaerobik metabolizmadan enerji ihtiyacı karşılanmaya çalışılır; ancak sodyum-potasyum pompasında bozulma ve ribozomlarda ayrışma gerçekleşir. Anaerobik metabolizma sonucu üretilen laktik asitle metabolik asidoz gelişir. Na^+ - K^+ ve Ca^{+2} -ATPaz pompası; ATP sağlanamaması nedeniyle disfonksiyone olup hücre içerisindeki Na^+ , Ca^{+2} hücre dışındaki K^+ artışına neden olmaktadır. Hücre içerisinde Na^+ birikimi sonucunda Na^+ - H^+ değişim pompası aktivitesi azalmakta; hücre içerisinde H^+ birikmeye başlamaktadır. Endoplazmik retikulumda yer alan kalsiyum pompasının mekanizmasının bozulmasıyla hücre içerisinde biriken sodyum, kalsiyum, hidrojen iyonları hiperozmolariteye neden olarak hücre içine su çekilmesine ve hücre ödemine neden olmaktadır. Hücre içerisinde artan hidrojen iyonu sonucunda hücre pH'sı da düşer. Bu değişiklikler sonucu hücre içerisindeki enzim aktiviteleri azalmakta, kromatinler

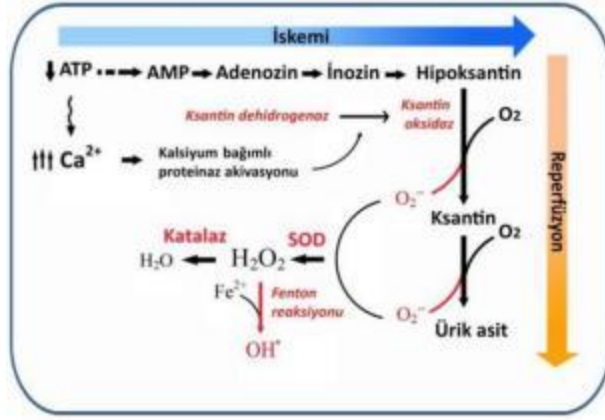
topaklanmaktadır. Hücre içerisinde kalsiyum artışı kalsiyum bağımlı sitozolik proteaz aktivasyonunu sağlamaktadır. Fosfolipaz A2 aktivasyonu ile da membran hasarı giderek kötüleşir (57, 58).

Oksidan maddelerin ve toksik metabolitlerin artışıyla birlikte asıl hasar reperfüzyonda hücreye yeniden oksijen sağlanmasıyla birlikte görülmektedir. Oksijen radikalleri 4 mekanizmayla oluşmaktadır.

1. Ksantin oksidaz aracılı
2. Mitokondriyal transport aracılı
3. Nitrik oksit sentaz aracılı
4. Fagositikhücre aracılı

2.3.1.1 Ksantin oksidaz indüksiyonunun iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü

İskemiyle birlikte ATP yıkımıyla adenozin monofosfat (AMP) ve adenozin oluşmaktadır. Ksantin oksidoredüktaz enzimleri normalde pürin katabolizmasında yer almaktadırlar. Bu yolda pürin defosforilasyonla adenezine dönüşmekte, adenezinden inozin oluşmaktadır. Hücre içerisinde artan proteazlar; hipoksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürmektedir. Bu enzimler; ksantin dehidrogenaz ve ksantin oksidaz olup hipoksantin ksantin ve ardından ksantinin ürik asite dönüşümünü sağlamaktadır (57). İskemi döneminde kullanılan enzim olan ksantin oksidaz, reperfüzyonla gelen oksijeni; oksidan olarak kullanıp hipoksantini önce ksantin sonra ürik asite dönüştürür. Son 2 basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden süperoksit anyonu (O_2^-) oluşmaktadır (57, 58).



Şekil 4. İskemi döneminde oksijen radikali oluşumunda ksantin oksidazınrolü (58)

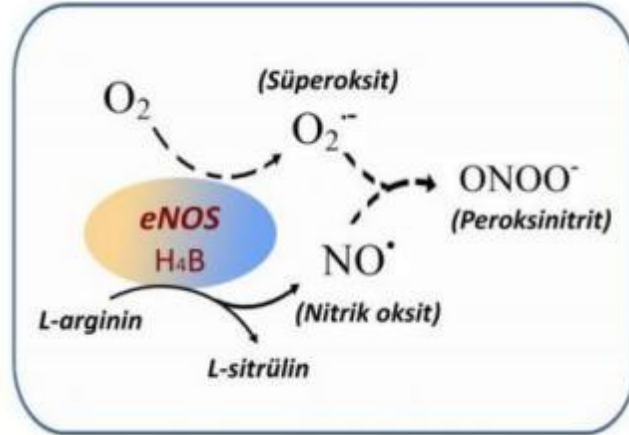
İskeminin reperfüzyon döneminde; oluşan oksijen radikalleri; süperoksit dismutaz ve katalaz ile etkisiz hale getirilir. Ancak artan ksantin oksidaz etkisi nedeniyle oluşan hidrojen peroksit ve süperoksit radikali antioksidan kapasiteyi aşar. Sitokin kaskadını başlatıp P-selektin ve ICAM-1 gibi adhezyon proteinlerinin salımını tetikler (59).

2.3.1.2 Mitokondriyal elektron taşıma sisteminin iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü

Süperoksit radikallerin ana kaynağı mitokondridir. İskemi sırasında elektron taşıma sistemi fonksiyonunda bozulma; reperfüzyon sonrasında daha da artarak mitokondriyal disfonksiyona yol açmaktadır. İskemi sırasında elektron taşıma sistemindeki kompleks I, II, III, IV aktiviteleri azalırken reperfüzyonla birliktebu komplekslerin aktivitelerinin artışı; serbest oksijen radikalleri üretimini arttırmaktadır. Bu durum oksidatif streseve hücre ölümüne yol açmaktadır (60).

2.3.1.3 Nitrik oksit sentaz yolağının iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü

Nitrik oksitin bilinen 3 çeşidi vardır; nöronal (nNOS), indüklenebilir (iNOS) ve endotelial (eNOS) olarak sayılabilir. Nitrik oksit sentaz çeşitlerinin tümü; L-arginin'den L-sitrülin sentezlenmesi sırasında nitrik oksit (NO) üretirler. NO'nun antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri bulunmaktadır ve sinyal iletiminde de rol oynar (61). Nitrik oksit sentaz'ın (NOS) çalışmasında doku kofaktör tetrahidrobiopterin (BH4) seviyesinin önemi büyüktür. İskemi esnasında azalan BH4 seviyeleri, NOS'un eşlenmemiş NOS'a dönüşümüne sebep olur ve bu da oksijen radikallerinin üretimine yol açar (57, 61).



Şekil 5. Nitrik oksit sentazyolağının iskemireperfüzyon hasarındaki rolü (58)

2.3.1.4 Endotel ve fagositik hücrelerin iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü

İskemi-reperfüzyon sırasında dokuda inflamasyon ve endotel hücreleri ile vasküler yatakta bulunan diğer hücrelerce (makrofajlar ve mast hücreleri) salınan pro-inflamatuvar mediyatörler; polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) bölgeye migrasyonuna ve adhezyonuna yol açmaktadır. Normal şartlarda bu fagositik hücreler; inflamasyon esnasında oksidatif patlama yaparak serbest oksijen radikallerini arttırmaktadır. Süperoksit; süperoksit dismutaz ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz yardımıyla hidrojen peroksit dönüşmektedir. Sonrasında miyeloperoksidaz (MPO) yardımıyla hipokloroz asite dönüşüm sağlanır. Bu aşamada Fenton reaksiyonuyla hidroksil radikali (OH^\cdot) oluşabilmektedir (62).

Reperfüzyonda kan akışı yeniden sağlandığında hücreler; fosfolipaz A₂, Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF-alfa), interlökin-1 β (IL-1 β), interferon gama (IFN- γ) ve anjiyotensin II gibi NADPH oksidazı aktive eden birkaç kimyasal aracılığıyla serbest bırakmaktadır. Fosfolipaz A₂'nin salınımı, trombosit aktive edici faktör üretimini indükleyerek, lokal inflamasyonu teşvik eden tromboksan ve lökotrienlerin doku seviyelerinde artışınayol açmaktadır (57, 63).

2.3.2 Serbest radikaller

Serbest radikaller; moleküllerin dış yörüngesindeki eşlenmemiş elektron içermesi durumu olup, molekülün stabilitesini bozar; reaktif hale getirir (11).

2.3.2.1. Serbest radikallerin oluşumu

Endojen olarak üretilen oksijen radikallerinin oluşum kaynakları; oksijen, nitrik oksit (NO), aktive nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazmamembranı olarak sayılabilmektedir. Moleküler oksijen, vücutta çeşitli indirgeme reaksiyonlarına katılmaktadır. Bunlar hiperoksil radikali, süperoksit radikal anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil anyonu ve radikalidir (11).

Süperoksit radikali (O_2^-) : Oksijen molekülüne bir adet elektron eklenmesiyle oluşur. Normal şartlarda mitokondride ATP üretimi esnasında oluşan elektron kaçakları sırasında veya iskemi sonrasında oluşabilir. Serbest radikal olmasına rağmen yüksek derecede reaktif değildir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna substrat oluşturur.

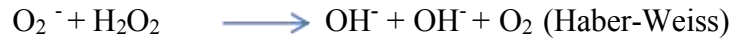
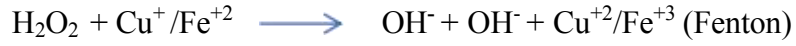


Hidrojen peroksit (H_2O_2) : H_2O_2 ; tek başına bir serbest radikal olmamasına rağmen geçiş metalleriyle reaksiyona girerek veya nötrofiller içerisinde bulunan miyeloperoksidaz vasıtalarıyla radikallere dönüşebilirler. Ayrıca OH^- oluşmasında substrat görevi görür.



Hidroksil radikali (OH^-) : OH^- ; biyomoleküllerle yüksek derecede etkileşime girebilmektedir. Fenton reaksiyonuyla geçiş elementlerinin varlığında

H₂O₂ indirgenmesi sonucu oluşur. O₂⁻ ve H₂O₂; Haber-Weiss reaksiyonuyla etkileşimiyle OH⁻ oluşabilir (11,57).



2.3.2.2. Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikallerin kaynakları endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere 2 başlık altında incelenebilir.

2.3.2.2.1. Endojen kaynaklar

Endojen kaynaklar içerisinde enzimler ve transport molekülleri (Ksantin oksidaz, aldehid oksidaz vb.), biyolojik moleküllerin otooksidasyon reaksiyonları (Flavinler, tioller, katekolaminler, ferrodoksin, hemoglobun ve Cu, Fe, Cd, As, Hg, Cr, Al, Ni gibi metal ionlar) sıklıkla bilinen kaynaklardır (64).

2.3.2.2.2. Eksojen kaynaklar

Eksojen kaynaklar arasında iyonize radyasyon, gamma ışınları, X-ray, virüsler, bakteriler, aşırı alkol, stres, otomobil egzozu kaynaklı O₃ ve NO, ilaçlar (Özellikle kanser ilaçları), kimyasal atıklar (Sigara, pestisidler) sayılabilir (64).

2.3.2.3 Serbest radikallerin etkileri

2.3.2.3.1 Serbest radikallerin yararları

Serbest radikallerin normal şartlarda üretiminin temel hedefi; vücut için önemli olan fizyolojik yanıtların oluşturulmasıdır. Sitokrom p450 tarafından ksenobiyotiklerin zararsızlaştırılması, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonda mitojenik yanıtlara neden olma, fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlara karşı savunma, sitotoksik lenfositler ve makrofajlar tarafından kanser hücrelerini etkisiz hale getirme olarak sayılabilir. Düşük yoğunluklarda hücre içi sinyal iletiminde derol almaktadırlar (64, 65).

2.3.2.3.2 Serbest radikallerin zararları

İskemi-reperfüzyon durumunda olduğu gibi vücutta belli miktarın üzerine çıkan serbest radikal oluşumundaysa zararlı etkilerine yol açacak biyokimyasal yollar aktifleşmektedir. Lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Toksikyan ürünler ikincil haberciler olarak etki göstererek üretildiği yerden daha uzakta da etki göstermektedirler. Ayrıca hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu; hücre membranı akışkan ve geçirgenliğini bozarak hücre membranını etkilemektedir (64, 65) .

Serbest radikaller, enzim aktivitesini ve yapısal proteinlerin fonksiyonunu engelleyerek protein yapısında hasara neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen ürünlerinin protein oksidasyonu neticesinde, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler meydana

gelmektedir. Serbest radikaller; proteinleri doğrudan etkilerken proteinlerin etkilenme derecesini amino asit içerikleri belirler. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikaller ile daha yüksek reaktiviteye sahip olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girmektedir. Bu ürünler ile geçiş metal iyonlarının etkileşimi sonucunda da radikaller oluşmaktadır (64, 66). DNA üzerinde meydana gelen serbest radikal hasarları pirimidin ve pürin yapısını etkilemekle birlikte bazların oksidizasyonu veya serbest radikallerin DNA'nın şeker yapısında yaptığı hidrojen atomu kaybı gibi değişikliklere bağlıdır. Nükleozid bazlarının oksidizasyonu sonucunda transversiyon gelişip kalıcı hasar oluşturmaktadır. Bu hasarlanmakarsinogenezin temelini oluşturmaktadır (66).

2.3.3. ANTIOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMASI

Oksidatif stres sonucunda bu stresin organizmaya vereceği hasarı azaltıcı etki olarak adlandırılabilen antioksidan savunma mekanizması DNA mutasyonlarına, malign transformasyonlara, hücre hasarına neden olabilmektedir. Antioksidan savunma mekanizması; enzimatik ve non enzimatik yanıt olarak ikiye ayrılır. Antioksidan savunma mekanizmasında bir diğer önemli basamak düzeltici tepkimelerdir. Bu düzeltici tepkimeler nükleik asit hasarını proteolitik tepkimelerde okside proteinleri çıkartarak olabileceği gibi fosfolipaz, peroksidaz, transferaz aracılığıyla okside lipitleri tamir edici tepkimeler olarak da görülmektedir. Bu düzeltici tepkime basamaklarında gecikme olması yaşa bağlı görülen hastalıkların zeminini oluşturmaktadır (11).

Hücrenin redoks homeostazı; endojen antioksidan savunma mekanizmalarıyla sağlanmaktadır. Bunlar SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-P_x) gibi endojen enzimatik antioksidan enzimler olabileceği gibi non-enzimatik olarak glutatyon, proteinler (ferritin, transferrin, serüloplazmin, albümin) ve ürik asit, koenzim Q, lipoik asit gibi düşük moleküler ağırlıklı süpürücü özellikte antioksidanlardır (11). Çeşitli meyve ve sebzelerde bulunan antioksidan özellikteki moleküller de endojen antioksidanlarla benzer özellikler göstermektedir (11).

2.3.3.1 Endojen Antioksidanlar

Enzimatik venon-enzimatik olarakkiye ayrılmaktadır.

2.3.3.1.1 Enzimatik Endojen Antioksidanlar

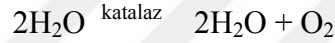
İntrasellüler enzimatik antioksidanlardan en etkililerden biri SOD olup bu enzim süperoksiti (O₂⁻) oksijen molekülüne (O₂) çevirip reaktif ürün olarak H₂O₂ oluşturur. SOD enziminin çeşitli izoformları olup sitozolik Cu, Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD, ekstrasellüler SOD (EC-SOD) olarak üçe ayrılmaktadır. SOD, süperoksiti (O₂⁻) metal iyonu transizyon indirgeme ve başarılı bir oksidasyon tepkimesiyle dönüştürmektedir.

SOD izoformları;

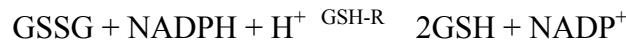
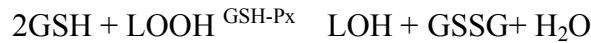
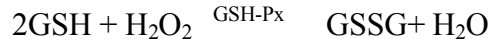
1. Cu, Zn-SOD; süperoksidi oksijen ve suya dönüştürmektedir.

2. Mitokondriyal Mn-SOD Mn(III) Mn(II) dönüşümünde 2 basamaklı süperoksit dismutasyonunu sağlar. Anti-tümör aktivitesi yüksek bir antioksidan enzimdir. Aynı zamanda Mn-SOD overekspresyonu; matriks metalloproteinaz enzimlerini (MMP-1 ve MMP-2) aktifleştirerek süperoksit radikal oluşumu ve hidrojen peroksit bozunumu arasındaki dengesizliğin kanser hücrelerinin metastatik potansiyelini aktive edebildiği düşünülmektedir.

3. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz sekreter, tetramerik bir glikoprotein olup heparin, heparin sülfat gibi glikozaminoglikanlara yüksek affinitelidir (65, 11).



Katalaz; hidroksil oluşumunu engelleyerek hidrojen peroksiti su ve oksijen molekülüne çevirmektedir.



Glutasyon sistemi; metabolizma sırasında oluşan peroksitlerin ortadan kaldırılmasında rol oynamaktadır. Glutasyon redüktaz (GRd); glutasyon (GSH) ve oksitlenmiş glutasyon (GSSG) eşdeğerini düzenler ve GSH/GSSG oranı, oksidatif stresin iyi bilinen bir göstergesidir. Serbest radikal hasarına karşı çok hassas olan beyin; katalaz aktivitesinden yedi kat daha fazla GSH-P_x aktivitesine sahiptir.

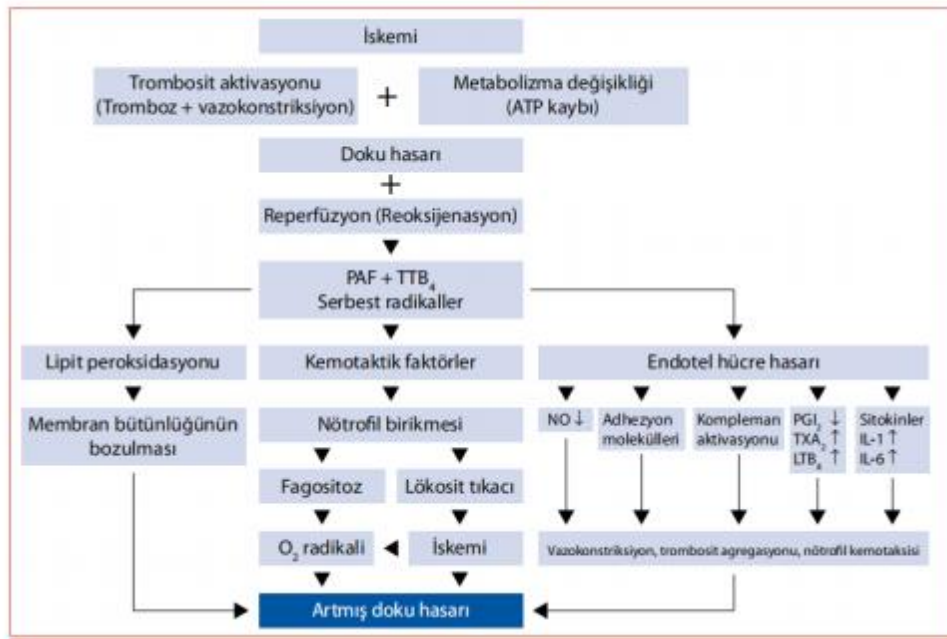
GSH-P_x hücrenin her yerinde bulunurken, katalaz peroksizomlarla sınırlıdır. İnsanlarda, katalazın en yüksek seviyeleri karaciğer, böbrek ve eritrositlerde bulunur ve burada hidrojen peroksidin çoğularçalanmaktadır (67).

2.3.3.1.2. Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

Sistein, metiyonin, melatonin, seruloplazmin, transferrin, GSH, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, urat, laktoferrin, albümin bu grupta yer alan non enzimatik endojen antioksidanlardır (68).

2.3.3.2. Eksojen Antioksidanlar

N-asetilsistein, ginkgo biloba, A,C ve E vitaminleri, β-karoten, folik asit, barbitüratlar, demir şelatörleri bu gruptan sayılmaktadır (68).



Şekil 6. İskemireperfüzyon hasarı şeması (68)

2.4 Overyan İskemi/Reperfüzyon Hasarı

Over torsiyonunda adneks yapılarının kan akımının azalmasıyla birlikte anaerobik yolğun aktiveşmesiyle laktik asit artış gösterilmekte; ATP azalması ve lipit peroksidasyonu ile hipoksantin oluşmaktadır. Over detorsiyone edildiğinde nötrofil infiltrasyonu, serbest oksijen radikalleri üretimi ve nitrik oksit salınımı; membran lipit peroksidasyonu, DNA oksidasyonu ve enzimlerin denatirasyonuna neden olarak reperfüzyon hasarını gerçekleştirilmektedir. Lipit peroksidasyonunun en önemli göstergesi malondialdehid (MDA) seviyesinin artışıdır. SOD ve GSH ise antioksidan sistemin en önemli göstergesi olup reperfüzyonda artış göstermektedir (49, 50).

2.5 Lupeol

Lupeol yenilebilir meyve ve sebzelerde bulunmakta olup; zeytin, kabak, biber, salatalık, domates, havuç, bezelye, soya fasilyesi, siyah şay, incir, şilek, kırmızı izim, dut, mangove guava başlıca kaynaklardır. Aynı zamanda Sheayaglı bitkisi, *Tamarindus indica*, *Celastrus paniculatus* gibi çeşitli bitkilerde bulunur. Lupeol besinlerde değişen miktarlarda bulunmakla birlikte zeytinde 3 µg/g, mango meyvesi içinde 1.80 µg/g Aloe vera yaprağında 280 µg/g, Ginseng yağının ise 100 g'da 15.2 mg bulunmaktadır. Lupeol bir triterpen olup kimyasal formülü; $C_{30}H_{50}O$ olup erime noktası 215—216 °C'dir. Molekül ağırlığı 426.386166 g/mol'dir (69).

Lupeol'in deneysel çalışmalarla hücresel düzeyde kanıtlanmış antioksidan, antikanserojen, antiinflamatuvar etkileri başta olmak üzere koruyucu

faydaları bulunmaktadır. Antikanserojen etkinliği; apoptozu başlatıcı, hücre migrasyonunu inhibe edici mekanizması üzerindedir. Akt/PKB yolağı inhibe olup mitokondriyal apoptoz yolağı aktive edilmektedir. Eş zamanlı Akt/PKB yolağıyla Wnt sinyal yolağı inhibisyonuyla tümoral hücrelerin anjiogenezisi inhibe olmaktadır. Antiinflamatuvar etkinliği; proinflamatuvar mediatörler olan IL-2, TNF- α ve IFN- γ salınımını azaltmasıyla gerçekleşmektedir. Lupeol'un lipit peroksidasyonunu azaltan ve izoproterenole karşı antioksidan SOD ve CAT enzimleri artıran antilitik ve serbest radikal temizleme özellikleri mevcuttur. Lupeol; hücreleri oksidatif stresin neden olduğu mitokondriyal apoptozu karşı korur. İn vitro çalışmalar, Lupeol'un SOR oluşumunu ortadan kaldırma, redoks dengesini koruma ve asetaminofen kaynaklı toksisite sırasında mitokondri aracılı hücre ölümüne karşı önemli koruma sağlamadaki etkinliği gösterilmiştir. Ek olarak, mankozeb ile tedavi edilen kültürlenmiş insan lenfositlerinde lupeol, genotoksisite ve apoptozu karşı koruma sağlamak için oksidatif stresin neden olduğu NF- κ B aktivasyonunu inhibe edebilmektedir. Başka bir çalışmada, Lupeol'un mitokondriyal aracılı endojen apoptotik yolları baskıladığını, Bcl-2 ekspresyonunu teşvik ettiğini, Bax ekspresyonunu inhibe ettiğini ve sitokrom C'nin sitoplazmaya salınmasını ve kaspaz 9/3 aktivasyonunu önlediğini göstermiştir. Moleküler bir çalışma, Lupeol'un Nrf2'yi aktive ettiğini, kaspaz-3 aktivitesini baskıladığını, Bax: Bcl-2 oranını azalttığını ve p38 MAPK'nin fosforilasyonunu inhibe etmektedir. Bu sonuçlar, Lupeol'un nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ve hücre ölüm yollarının inhibisyonu yoluylakoruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır (13).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (E-66332047-604.01-976780) ve Gazi Üniversitesi BAP proje desteği alındıktan sonra (TTU-2024-9673) deney aşaması Ekim 2024'te Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirmeve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapıldı.

Biyokimyasal çalışmalar; Diagen Laboratuvarı'nda dışarıdan hizmet alımıyla yapılırken, histopatolojik incelemeler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Biyokimyasal ve histopatolojik tetkiklerkörörolarak çalışıldı.

3.1 Deneysel Çalışma Modeli

Çalışmamızda ağırlıkları 220-250 gr arasında değişen erişkin gebe olmayan 10- 12 haftalık 24 adet dişi Wistar-Albino cinsi rat kullanıldı. Tüm hayvanlar, 12 saat karanlık/aydınlık siklusunda, 22°C oda ısısında tutuldu. Tüm gruplardaki hayvanlar içerisinde %21 protein bulunan sıçan yemleriyle ad libitum olarak beslendi ve her gün taze içme suyu verildi. Tüm işlemler genel anestezi altında ve steril koşullar altında gerçekleştirildi. Lupeol ve tedavi gruplarında kullanılacak lupeolün intraperitoneal uygulanma şekli; etkisini arttırmakta olup uygulanacak lupeol dozu çalışmalarda kullanılan genel etkin doza göre belirlendi. Oral alım etkin dozu 100 mg/kg olup çalışmalarda intraperitoneal 200 mg/kg uygulandığında da toksik etki görülmemesi nedeniyle çalışmamızda intraperitoneal lupeol uygulama dozu 100 mg/kg olarak belirlendi (70).

3.1.1. Deneý Hayvanlarının Gruplandırılması

Galışmanın başlangış aşamasında hayvanlar tartılarak randomize edildi ve her grupta 6 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı:

Kontrol Grubu (K)

Bu grupta bazal değerlerin oluşturulması ve ameliyat stresinin taklit edilmesi amaşlanmıştır. Bu amaşla hayvanlara anestezi verildi ve laparotomi yapıldıktan sonra bilateral adnekslere ulaşılıp diğer gruplarda yapılanlara benzer over manipilasyonları yapılarak batın kapatıldı ancak torsiyon uygulanmadı. 1 gınlık takibin ardından ratlar sakrifiye edilerek bilateral ooferektomi uygulandı. Kan örnekleri alındı.

Lupeol Grubu (F)

Bu grupta ameliyat stresi durumunda lupeolin bazal etkisini gőrme amacıyla 100mg/kg lupeol solisyonu intraperitoneal yoldan laparatomiden yarım saat őrnce enjekte edildi. Yarım saat sonrasında gruptaki ratlara genel anestezi verilip laparotomi yapıldı. Over ve adneks dokusu gőrildikten sonra kapatılıp 1 gın sonra relaparotomi yapıılıp bilateral ooferektomi uygulanıp kan örnekleri alınarak ratlar sakrifiye edildi.

Over İskemi Grubu (I)

Bu grupta ratlara genel anestezi verildikten sonra bilateral adneksler saat yđninde 720 derece dđndirilip 4/0 polidiakson sutir (PDS) ile abdominal

duvara tespit edildi. 3 saat iskemi süresi beklendikten sonra bilateral adneksler detorsiyone edildi. Ardından 1 gün sonra relaparotomi yapıp bilateral ooferektomi yapıpkan örnekleri alınarakratlar sakrifiye edildi.

Tedavi Grubu (T)

Bu grupta ratlara genel anestezi verildikten sonra laparotomi yapıp bilateral adneksler saat yönünde 720 derece döndürölüp 4/0 PDS ile abdominal duvara tespit edildi. 3 saat iskemi süresi beklendikten sonra bilateral adneksler detorsiyone edildi. Overler detorsiyone edilmeden yarım saat önce de 100 mg/kg lupeol solüsyonu intraperitoneal enjekte edildi. 1 gün sonra relaparotomi yapıp bilateral ooferektomi ve kan örnekleri alınarakratlar sakrifiye edildi.

3.1.2. Ameliyat aşaması

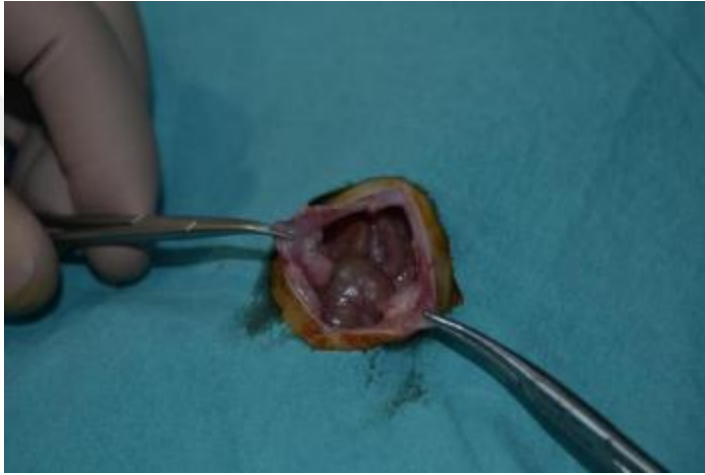
Hayvanlar üzerinde yapılan tüm operasyonlar ve sakrifikasyonlar genel anestezi altında yapıldı. Preanestezik, sedasyon amacıyla ksilazin hidroklorür (Rompun %2, Bayer, Almanya) 45 mg/kg dozunda intramuskuler olarak uygulandı. Ardından genel anestezi uygulaması için ketamin hidroklorür (Ketalor, Eczacıbaşı, Türkiye) 50mg/kg dozunda intramuskuler (im) olarak uygulandı. Ratların karnı tıraş edildikten sonra ratlar; ekstremiteleri flaster ile sabitlenip ameliyat masasına tespit edildi. %10'luk povidon iyot solüsyonu ile asepsi ve antisepsinin sağlanması takiben medyan hatta 2,5-3 cm'lik insizyonla batına girildi. Kontrol ve lupeol grubunda ekartasyon uygulanarak overler ve ovidukt ortaya konularak overler manipüle edildi, batın fasyası sürekli ve cildi ayrı ayrı

olmak üzere 4/0 ipek sütür (16 mm, keskin, Doğsan, Türkiye) kullanılarak kapatıldı.

Diğer gruplarda batın açıldıktan sonra yapılan ekartasyon sonrasında bilateral overler DeBakey penset yardımıyla tutularak saat yönünde 720 derece torsiyone edildi. Batın yan duvarına 4/0 PDS (polidiakson)(16 mm, yuvarlak, Doğsan, Türkiye) ile kıvrımlı ovidukt hizasından tek sütürle tespit edildi. Batın kapatılarak üzerine nemli gaz koyuldu ve hayvanlar ısıtıcı ameliyat masasında beklemeye alındı. 3 saat sonra batın tekrar açılarak batın yan duvarındaki tespit sütürleri kesilip detorsiyon işlemi uygulandı. Overler doğal pozisyonlarına gönderildi. Torsiyon-detorsiyon grubunda herhangi bir ilaç uygulaması yapılmazken, Lupeol grubunda, detorsiyondan yarım saat öncesinde intraperitoneal 100mg/kg dozunda lupeol uygulandı. Ardından batın fasyası sürekli, cildi ayrı ayrı olacak şekilde kapatılarak hayvanlar derlenme sürecine alındı.

Sakrifikasyonun dokular alınmadan önce yapılması farklı iskemi süreleri doğurabileceği için hayvanların dokular alınmadan önce sakrifiye edilmemesine karar verildi. Hayvanlara ameliyatlarının 1.gününde ksilazin-ketamin anestezisi im olarak uygulandı. Laparotomi yapılarak bilateral overler etrafındaki yağlı dokulardan disseke edildive sadece over alınacak şekilde sadeleştirildi. Sağ over histopatolojik incelemeler için %10 formaldehit içeren kaplara konularak 24 saat doku fiksasyonu için beklemeye alındı. Sol over de biyokimyasal incelemeler için ependorf tüplerine herhangi bir sıvı olmadan konuldu ve -80 °C'de inceleme

gününe kadar donduruldu. Kan örnekleri kardiyak ponksiyon yapılarak alındı. Tüm ratlar sakrifiye edildi. Kan örnekleri 3000 rpm hızında 10 dakika santrifüj edilerek serumları AMH, TAS ve TOS bakılmak üzere eppendorf tüplerine konarak -80 °C'de saklandı.



Resim 3. Bilateral adnekslerin 720 derece saat yönü torsiyonundan sonra 4/0 pds (polidiakson) ile batınyan duvarına tespiti



Resim 4. Adnekslerin detorsiyone edildikten sonraki görünümü



Resim 5. İskemi grubundaki adnekslerin sakrifikasyon öncesi görünümü



Resim 6. Tedavi grubundaki adnekslerin sakrifikasyon öncesi görünümü

3.2. Histopatolojik İnceleme

Gönderilen biyopsiler %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edilmiş, tamamı örneklenmiş, klasik doku takip prosedürlerinden geçirilmiş, parafine gömülmüş ve 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler alınarak hematoksilin-eozin

boyalı preparatlar hazırlanmıştır. Bu preparatlar patolog tarafından incelenerek yeterlilikleri değerlendirilmiş ve bir örnek dışında tüm dokular yeterli bulunmuştur. Boyalı kesitler folliküler dejenerasyon, vasküler konjesyon, kanama, ödem açısından tek patolog tarafından yarı kantitatif olarak ışık mikroskopuyla değerlendirilmiştir ve "0:yok, 1:hafif, 2:orta, 3:şiddetli" olarak skorlandı.

3.3. Biyokimyasal İncelemeler

Doku örnekleri çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı. Doku örnekleri çalışma günü çıkarılıp "Rel assay" marka kitler kullanılarak Mindray marka BS300 model tam otomatik biyokimya cihazıyla kalorimetrik olarak Erel tarafından geliştirilen metoda uygun olarak çalışıldı. Vücut total antioksidan kapasite (TAK), serbest radikallerin ölçümünü sağlamaktadır. Bu metot, manuel olarak yapılan spektrofotometrik optimizasyon işlemlerinden sonra geliştirilen otomatik analizle gerçekleştirilmektedir. Bu ölçüm tekniğinde 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS)'in; metmyoglobin ve hidrojen peroksit ile inkübasyonu yapıldığında oksidize ABTS elde edilir. Mavi yeşil bir rengi olup antioksidanlarla etkileşiminde bu konsantrasyon azalır. Trolox solüsyonu eşdeğeri olarak ifade edilir (mmol Trolox eşdeğeri/L) (71). Total oksidan seviye (TOS), Erel O. tarafından geliştirilen bir metot olup numunede bulunan oksidanlar demir ferröz iyonu o-dianisidin kompleksini demir ferrik iyonu haline okside eder. Oksidasyon reaksiyonu gliserol molekülleri tarafından güçlendirilir. Ferrik iyon asidize bir ortamda ksilenol turuncusuyla bir kompleks yapar. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, mevcut oksidanların toplam molekülüyle

ilişkilidir. Test; hidrojen peroksit ile kalibre edilir. Mikromolar hidrojen peroksit ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eşdeğer/L) cinsinden ifade edilir (72). TOS değerinin TAK değerine oranlanmasıyla oksidatif stres indeksi hesaplanmaktadır.

İmmunohistokimyasal olarak AMH ölçümü yapılması için ELISA Calorimetric Assay yöntemiyle çalışıldı. Over dokuları 5 um dilimlere ayrılıp ve rutin laboratuvar yöntemlerinden sonra parafin içinde bloke edildi. Bölümler, 15 dakika boyunca 0.001 M sitrat tamponu içinde alınıp 10 dakika boyunca %1 H_2O_2 içine daldırıldı. Kesitler, spesifik olmayan bağlanmayı ortadan kaldırmak için bloke edici serum (histostatin artı kit geniş spektrum; Invitrogen, California, ABD) ile ön işleme tabi tutuldu. AntiMüllerian hormonuna (AMH) (SC-6886, Santa Cruz Biotechnology, Inc.) karşı keçi poliklonal antikoru, gece boyunca 40°C 'de inkübe edildi. Phosphate buffered salin (PBS) ile yıkandıktan sonra, biyotinlenmiş ikincil antikorlar (fare ve tavşan spesifik HRP artı (ABC) tespit IHC kiti (AB93697; ABCAM) oda sıcaklığında 30 dakika uygulandı. Daha sonra Mayer'in hematoksilin (Thermo Scientific, ABD) karşı boy olarak kullanılıp cam slaytlara monte etmek için Entellan (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanıldı. Foliküler AMH ekspresyonu yarı kantitatif olarak değerlendirildi. Folikül hücrelerinin kahverengi sitoplazmik boyaması AMH ekspresyonu için pozitif olarak kaydedildi. Ekspresyon seviyesi 0-2 olarak değerlendirildi; 0 = leke yok, 1 = zayıf boyama ve 2 = güçlü sitoplazmik boyama. Foliküllerin ortalama ekspresyon seviyesi, her bir hayvanın 3 yumurtalık bölümü için belirlendi (14).

Kaspaz-3 ölçümü için ELISA Calorimetric Assay yöntemiyle çalışıldı. Over dokuları 5 um dilimlere ayrılıp ve rutin laboratuvar yöntemlerinden sonra parafin içinde bloke edildi. Azalan etanol solüsyon konsantrasyonları kullanılarak rehidrate edildi (%100, %95 ve %75 su ile seyreltildi). Antijen geri kazanımı, slaytları sodyum sitrat tamponuna daldırarak ve 95 °C'de 5 dakika ısıtarak gerçekleştirildi. Slaytlar daha sonra %3 hidrojen peroksit solüsyonuyla 10 dakika inkübe edildive oda sıcaklığında 10-15 dakika %10 normal keçi serumunda bloke edildi. Kaspaz-3 için (1:300), slaytlara uygulandı ve slaytlar 4 °C'de bir gece inkübe edildi. Ardından PBS'de her biri 3 dakika olmak üzere üç kez durulandı. Daha sonra, 100 µl biotin etiketli sekonder antikor oda sıcaklığında 15 dakika uygulandı ve ardından slaytlar PBS'de her biri 3 dakika olmak üzere üç kez durulandı. Ayrıca, 100 µl yaban turpu peroksidaz etiketli streptavidin çalışma solüsyonu oda sıcaklığında 15 dakika ve ardından kesitler PBS'de her biri 3 dakika olmak üzere üç kez durulandı. 3,3' diaminobenzidine (DAB) kromojen olarak kullanıldı ve slaytlar oda sıcaklığında 5 dakika boyunca hematoksinin ile karşıt boyandı. Dehidratasyon ve temizlemeden sonra slaytlar, lamellerin üzerine nötr zambak kullanılarak monte edildi. Slaytlar bir ışık mikroskobu altında incelendi ve görüntüler analiz edildi (73).

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın verileri IBM SPSS Version 22.0 istatistik Windows Paket Programı (IBM Corp., Armonk, NY) ile analiz edildi. Shapiro-Wilk test ile verilerin homojen dağılımı test edildi. Homojen dağılımı olan gruplar için fark

yaratan gruplar; ANOVA Tukey post hoc testi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi “ $p<0,05$ ” olarak değerlendirildi. Homojen dağılımı olmayanlarda Kruskal Wallis ve Bonferroni post hoc testleri yapıldı. Post hoc testinde yeni p değeri 0,05’in karşılaştırma sayısına bölünmesiyle bulundu ($p<0,00833$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi).



4. BULGULAR

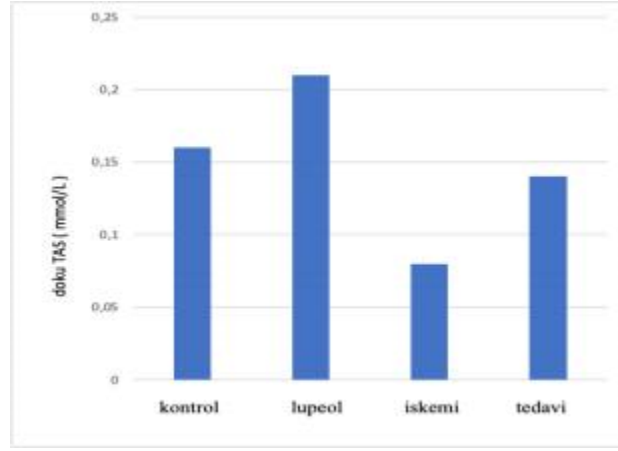
TAS, TOS, OSİ, AMH vekaspaz-3 değerlendirmelerinde gruplar arasında serum TAS; doku TOS, serum OSİ, serum kaspaz-3 ve doku AMH grup karşılaştırmaları anlamlı farklılıkla göstermektedir.

Gruplara göre biyokimyasal inceleme ortalama değerlerine aşağıdaki tablodayerverilmiştir.

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	Lupeol	İskemi	Tedavi	p
Serum TAS (mmol/L)	1,42±0,14	1,53±0,13	1,17±0,07	1,34±0,05	<0,001
Doku TAS (mmol/L)	0,16±0,07	0,21±0,07	0,08±0,04	0,14±0,04	0,019
Serum TOS (µmol/L)	2,17±0,56	2,14±0,59	4,09±1,93	2,55±0,73	0,02
Doku TOS (µmol/L)	0,42±0,27	0,49±0,37	2,41±0,28	0,8±0,41	<0,001
Serum OSİ	0,15±0,04	0,13±0,03	0,35±0,17	0,19±0,05	0,003
Doku OSİ	0,33±0,30	0,26±0,24	3,40±1,67	0,62±0,45	0,002
Serum Kaspaz-3 (ng/ml)	0,46±0,04	0,44±0,02	0,51±0,02	0,48±0,04	0,023
Doku Kaspaz-3 (ng/ml)	0,56±0,08	0,53±0,07	0,58±0,04	0,56±0,07	0,72
Serum AMH (ng/ml)	2,70±0,11	2,58±0,22	2,72±0,12	2,72±0,06	0,290
Doku AMH (ng/ml)	2,44±0,22	2,5±0,28	1,85±0,31	2,4±0,29	0,002

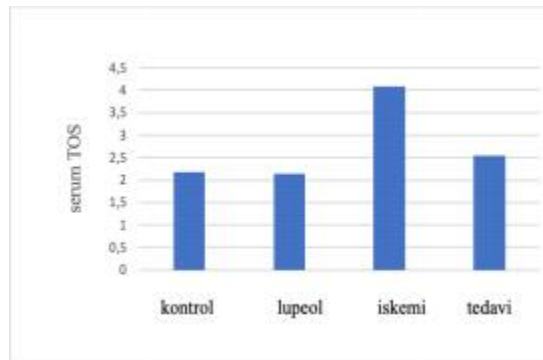
Tablo 1. Gruplara göre biyokimyasal parametre değerleri

Kan örneklerinden elde edilen serum TAS (mmol/L) değerlendirmelerinde; 1,53±0,13 mmol/L ile en yüksek değer lupeol grubunda bulunmuştur. Tedavi grubunda 1,34±0,05 mmol/L, kontrol grubunda 1,42±0,14 mmol/L ve en düşük olarak iskemi grubunda 1,17±0,07 mmol/L olarak saptanmıştır. İskemi grubu ile kontrol ve lupeol grupları arasında istatistiksel olarak



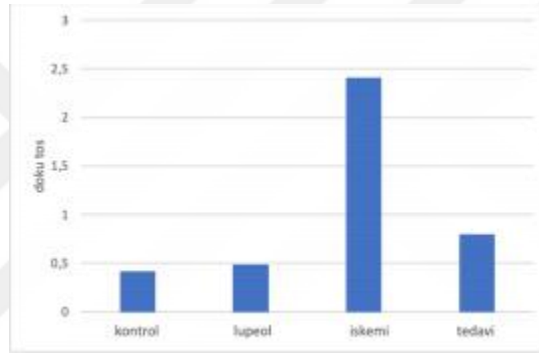
Tablo 3. Doku TAS degerlendirmelerinde dag111mtablosu

Serum  rnekerinden elde edilen serum TOS ($\mu\text{mol/L}$) degerlendirmelerinde; en yiksek deger $4,09\pm 1,93 \mu\text{mol/L}$ ile iskemi grubunda bulunmuştur. Tedavi grubunda $2,55\pm 0,73 \mu\text{mol/L}$, kontrol grubunda $2,17\pm 0,56 \mu\text{mol/L}$ ve en dişik deger; lupeol grubunda $2,14\pm 0,59 \mu\text{mol/L}$ olarak bulunmuştur. iskemi grubuyla kontrol ve lupeol gruplar1 aras1nda istatistiksel olarak anlaml1 farkl111k bulunmaktadı1r ($p=0,03$). iskemi grubuyla tedavi grubu aras1nda istatistiksel olarak anlaml1 farkl111k bulunmamas1na ragmen tedavi grubunun degerleri iskemi grubuna göre dişiş göstermiştir.



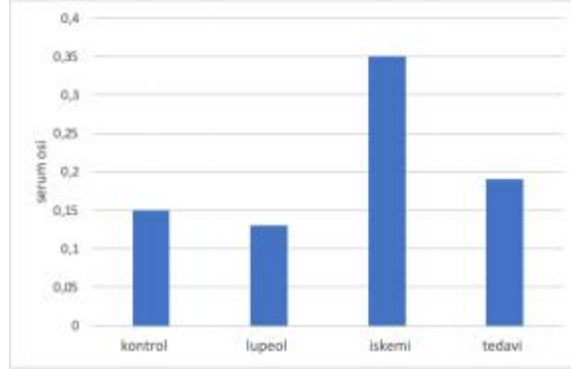
Tablo 4. Serum TOS degerlendirmelerinde dag111mtablosu

Doku örneklerinden elde edilen doku TOS ($\mu\text{mol/L}$) değerlendirmelerinde; $2,41\pm 0,28$ $\mu\text{mol/L}$ ile en yüksek değer; iskemi grubunda bulunmuştur. Tedavi grubunda $0,8\pm 0,41$ $\mu\text{mol/L}$, lupeol grubunda $0,49\pm 0,37$ $\mu\text{mol/L}$, kontrol grubunda en düşük olarak $0,42\pm 0,27$ $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır. İskemi grubu ile tedavi, lupeol ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p<0,001$).



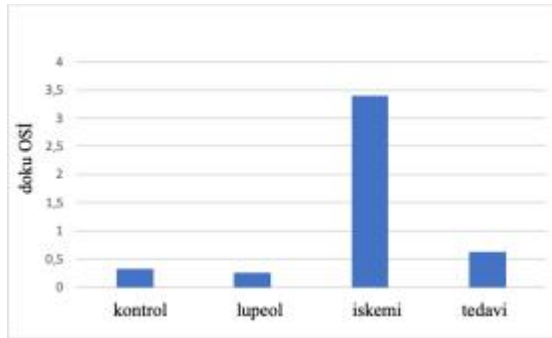
Tablo 5. Doku TOS değerlendirmelerinde dağılımtablosu

Serum örneklerinden elde edilen serum OSİ değerlendirmelerinde en yüksek değer iskemi grubunda ($0,35\pm 0,17$) olup tedavi grubunda $0,19\pm 0,05$; kontrol grubunda $0,15\pm 0,04$ ve en düşük değer; $0,13\pm 0$ olarak lupeol grubunda bulunmuştur. İskemi grubuyla kontrol, lupeol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla $p=0,008$; $0,004$; $0,033$).



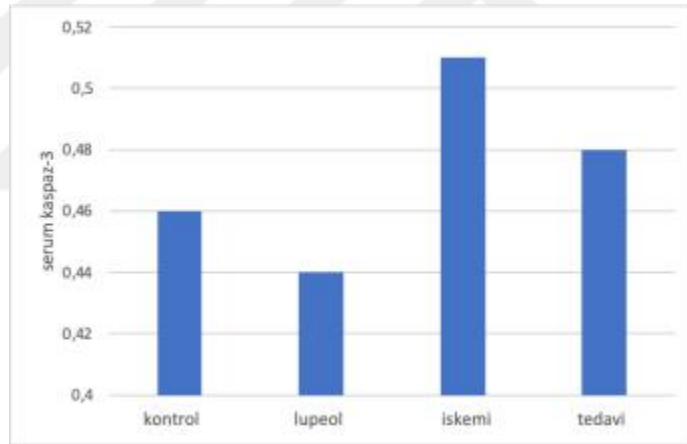
Tablo 6. Serum OSI değerlendirmeleri tablosu

Doku örneklerinden elde edilen doku OSI değerlendirmelerinde enyüksek değer; $3,40 \pm 1,67$ ile iskemi grubunda olup tedavi grubunda $0,62 \pm 0,45$; kontrol grubunda $0,33 \pm 0,30$; en düşük değer lupeol grubunda $0,26 \pm 0,24$ olarak bulunmuştur. İskemi grubuyla kontrol ve lupeol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken (sırasıyla $p=0,001$; $< 0,001$) iskemi grubuyla tedavi grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunamamıştır. Ancak iskemi grubuna oranlatedavi grubu değerlerinde belirgin düşüş görülmektedir.



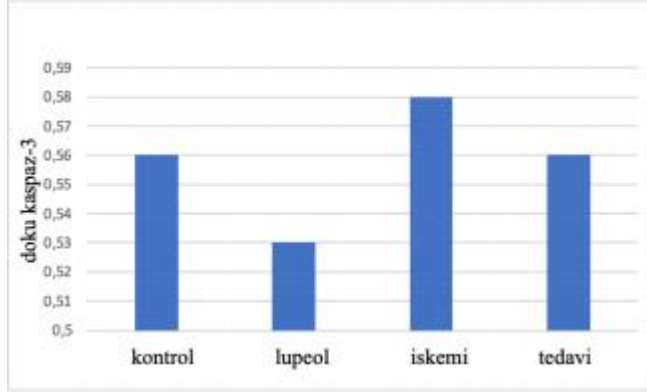
Tablo 7. Doku OSI değerlendirmeleri tablosu

Serum örneklerinden elde edilen serum kaspaz-3 (ng/ml) değerlendirmelerinde en yüksek değer; $0,51\pm0,02$ ng/ml ile iskemi grubunda olup tedavi grubunda $0,48\pm0,04$ ng/ml, kontrol grubunda $0,46\pm0,04$ ng/ml ve lupeol grubunda $0,44\pm0,02$ ng/ml ile en düşük degerdedir. iskemi grubuyla tedavi, kontrol grupları karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamasına karşın tedavi grubu serum kaspaz-3 degeri; iskemi grubuna göre azalma göstermektedir. iskemi ile lupeol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir ($p=0,018$).



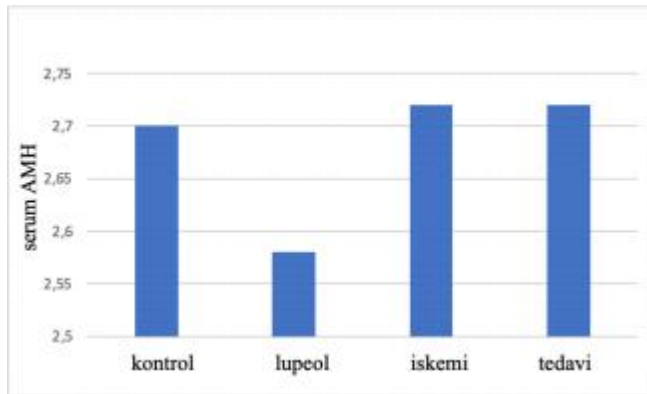
Tablo 8. Serum kaspaz-3 degerlerine göre dagılım tablosu

Doku örneklerinden alınan dokukaspaz-3 (ng/ml) değerlendirmelerinde en yüksek deger; $0,58\pm0,04$ ng/ml ile iskemi grubunda olup tedavi grubunda $0,56\pm0,07$ ng/ml; kontrol grubunda $0,56\pm0,08$ ng/ml; lupeol grubunda en düşük deger olup $0,53\pm0,07$ ng/ml'dir. iskemi grubu ile tedavi, kontrol ve lupeol grubu karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamasına ($p=0,722$) karşın tedavi grubunda iskemi grubuna oranla artış görülmektedir.



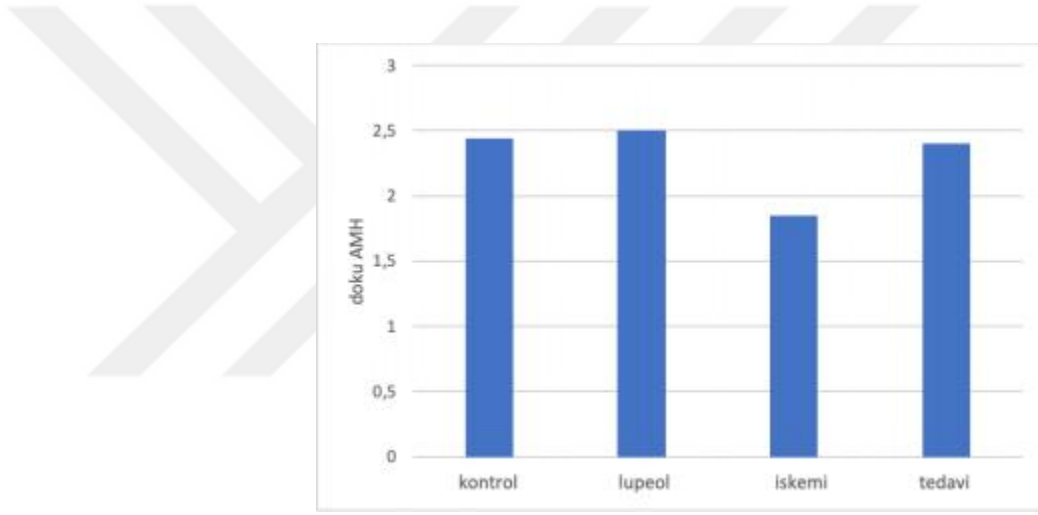
Tablo 9. Doku kaspaz-3 değerlerine göre dağılımtablosu

Serum örneklerinden alınan serum AMH (ng/ml) değerlendirmelerinde; en yüksek değer iskemi grubunda olup $2,72 \pm 0,12$ ng/ml; tedavi grubunda $2,72 \pm 0,06$ ng/ml; kontrol grubunda $2,70 \pm 0,11$ ng/ml; lupeol grubunda $2,58 \pm 0,22$ ng/ml olup en düşük değerdedir. İskemi grubuyla tedavi, kontrol ve lupeol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmayıp iskemiyle tedavi grubu aynı değerdedir.



Tablo 10. Serum AMH değerlendirmeleri dağılımı

Doku örneklerinden alınan doku AMH (ng/ml) değerlendirmelerinde en yüksek değer; $2,5\pm0,28$ ng/ml ile lupeol grubunda olup tedavi grubunun sonuçları $2,4\pm0,29$ ng/ml; kontrol grubunda $2,44\pm0,22$ ng/ml ve en düşük değer; iskemi grubunda olup $1,85\pm0,31$ ng/ml'dir. İskemi grubuyla kontrol, lupeol ve tedavi grupları arasında hepsi istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (sırasıyla $p=0,009$; $0,004$; $0,014$).

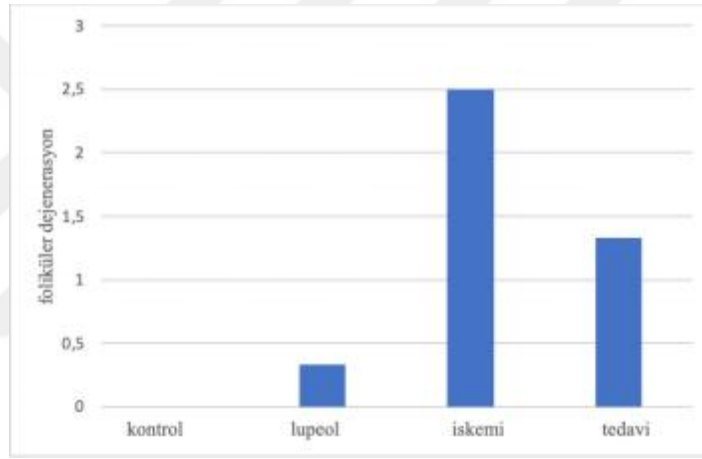


Tablo 11. Doku AMH değerlendirmeleri dağılımı

Histopatolojik skorlamaların sonucuna göre elde edilen değerler aşağıda verilentablodaki gibidir.

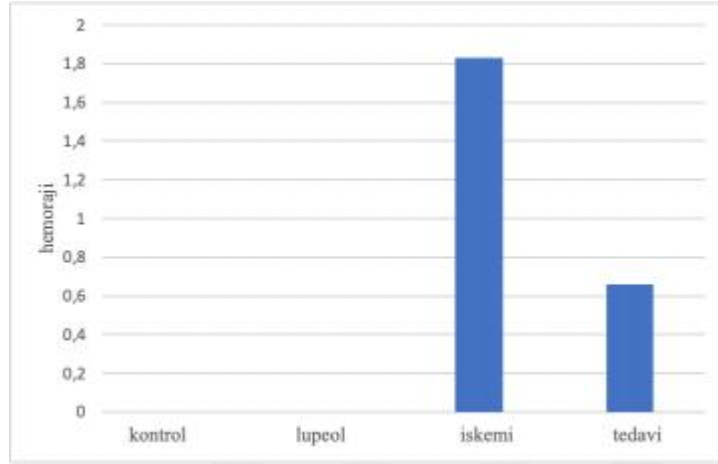
Patolojik Değişiklikler	Kontrol	Lupeol	İskemi	Tedavi	p
Foliküler Dejenerasyon	0	0,33±0,51	2,5±0,54	1,33±0,81	<0,001
Hemoraji	0	0	1,83±0,75	0,66±0,81	<0,001
Vasküler Konjesyon	0,33±0,81	0,5±0,83	2,66±0,51	1,33±0,81	<0,001
Ödem	0,33±0,51	0,5±0,54	1,66±0,51	0,66±0,51	<0,001

Histopatolojik karşılaştırmalarda folliküler dejenerasyon değerlendirmesinde en yüksek skor iskemi grubunda olup ($2,5 \pm 0,54$) tedavi grubunda skorda düşüş ($1,33 \pm 0,81$) görülmektedir. İstatiksel olarak anlamlı fark iskemi ile lupeol ve kontrol grupları arasında tespit edilirken (sırasıyla $p=0,001$; $<0,001$), tedavi grubuyla arasında anlamlı fark olmasa da iyileşme olduğu görülmüştür.



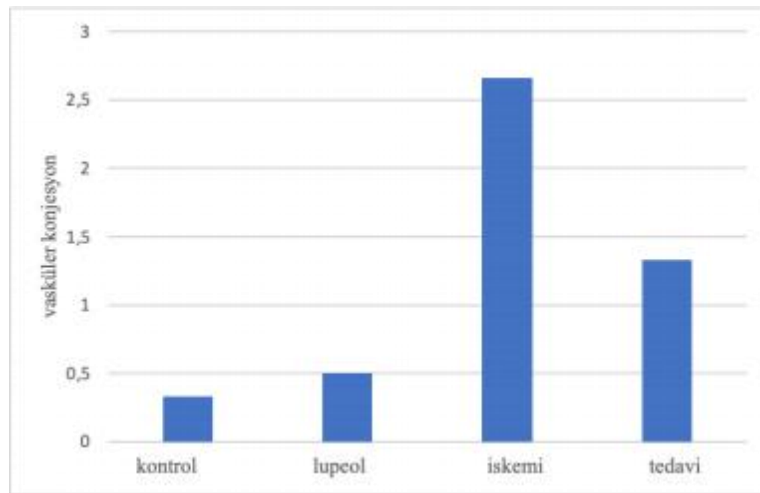
Tablo 12. Folliküler dejenerasyon histopatolojik değişikliği açısından grupların karşılaştırılması

Hemoraji değerlendirmesinde en yüksek skor iskemi grubunda olup ($1,83 \pm 0,75$) tedavi grubunda skorda düşüş ($0,66 \pm 0,81$) görülmektedir. Folliküler dejenerasyon'la benzer şekilde hemoraji değerlendirmesinde iskemi ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir.



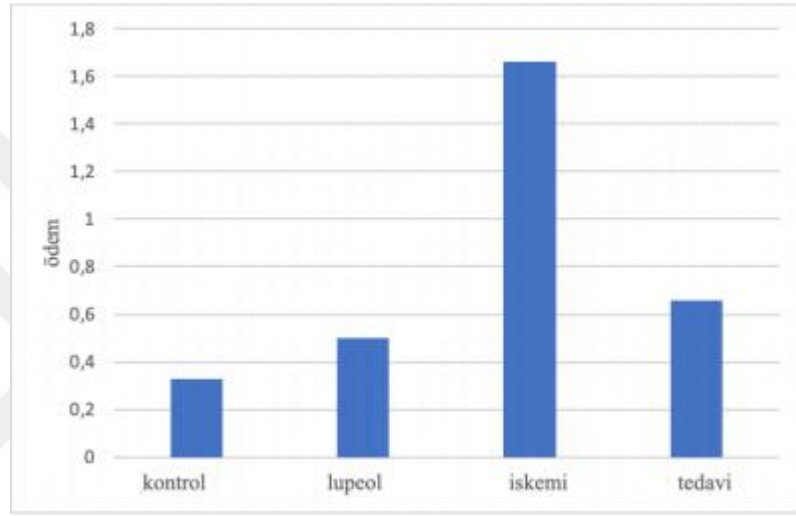
Tablo 13. Hemoraji histopatolojik değişikligi ağıslından grupların karđılađtırılması

Vaskiler konjesyon bakıslında en yüksek skor iskemi grubunda ($2,66 \pm 0,51$) olup tedavi grubunda skorda diğiğ ($1,33 \pm 0,81$) gđrilmektedir. Vaskiler konjesyon ağıslından iskemi grubuyla karđılađtırıldıęında kontrol, lupeol ve tedavi grupları arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu bulunmuğtur (sırasıyla $p < 0,001$; $< 0,001$; $= 0,03$).

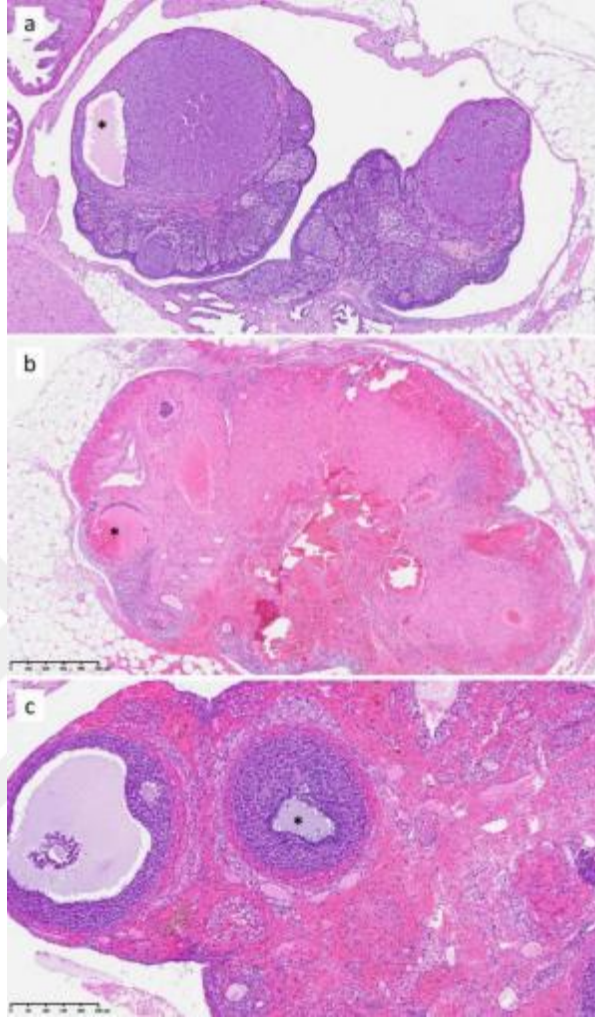


Tablo 14. Vaskilerkonjesyon ağıslından grupların karđılađtırılması

Ödem skorlamasında en yüksek değer iskemi grubunda ($1,66\pm 0,51$) olup tedavi grubunda ($0,66\pm 0,51$) skor düşüş göstermektedir. İskemi grubuyla kontrol, lupeol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (sırasıyla $p=0,001$; $0,005$; $0,017$) .



Tablo 15. Ödem değışiklikleri açısından grupları değerlendirilmesi



Resim 7. Patoloji incelemelerinin mikroskop altında görünümü

- a. Folliküler dejenerasyon (*) dışında patoloji içermeyen over parankimi (Hematoksiler & eozin, x50). b. Konjesyon ve kanama alanları içeren overparankimi (Hematoksiler & eozin, x50). c. Foliküler dejenerasyon, kanama ve konjesyon içeren over parankimi (Hematoksiler & eozin, x100)

5. TARTIŞMA

Dokulara gelen kan akımının kesilmesi sonucu oluşan hipoksiye bağlı, geçen serede değişen derecelerde iskemi oluşmaktadır. Dokulara kan akımı yeniden sağlandığında iskemi sırasında oluşan SOR'lara bağlı olarak reperfüzyon hasarı gerçekleşir. İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak, olası koruyucu etkilerini araştırmak için over torsiyon deney modeli çalışmalarında günümüze dek çeşitli antioksidan maddeler araştırılmaktadır. Bromelain (74), vitamin B12 (51), N-asetilsistein (52), curcumin (75), melatonin (76), hidrojenden zengin salin (53), metilen mavisi (54), kolşisin (10), kolşisin-sesamol (77), ginkgo biloba (55), etanercept (56), hipotermik ortam (78) bunların başlıcalarıdır. Çalışmamızda deneysel over iskemireperfzyon hasarını önlemek için lupeol; literatürde ilk kez kullanılmıştır.

Over iskemi reperfüzyon hasarını inceleyen deneysel modellerde genelde 720 derece torsiyonla 3 saatlik iskemi süresi uygulanıp sonrasında detorsiyon yapılan modeller kullanılmıştır. Reperfüzyon hasarının ve antioksidan maddelerin etkilerinin incelenmesi için doku örnekleme; detorsiyondan 6-24 saat sonra yapılmıştır (53, 79). Çalışmamızda; 3 saatlik over torsiyonu vereperfzyondan 24 saat sonra alınan histopatolojik ve biyokimyasal örnek sonuçlarında, iskemi grubunda kontrol grubuna göre istatiksels anlamlı histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklerin olması ($p<0,05$) yapılan deney modelinin yeterli olduğunu göstermektedir. Ayrıca tedavi grubunda 100mg/kg lupeol verildiğinde hem biyokimyasal hem de histopatolojik parametrelerin istatiksels olarak düzelmesiyle

lupeolün antioksidan, antiapoptotik, doku iyileştirici etkileriyle birlikte AMH değerlerinin yükselmesiyle over rezervinikoruğu, gösterilmiştir.

Literatür incelendiğinde deneysel rat over torsiyon modellerinde 3 saatlik iskemi süresinin hipoksi için yeterli olduğu görülmektedir (79, 80). Biyokimyasal ve histopatolojik olarak meydana gelen değişikliklerde reperfüzyon süre artışının daha etkili olduğu görülmüştür. Bir çalışmada 3 saat iskemi takiben 24 saat reperfüzyon süresi belirlenmiştir (81). Sak ve arkadaşlarının curcumin maddesinin antioksidan etkisini gösterdiği çalışmada 3 saat reperfüzyon uygulanmış; vitamin E'nin reperfüzyon döneminde antioksidan etkilerini gösterdiği bir başka çalışmada reperfüzyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir (82, 83). Türköz ve arkadaşlarının çalışmalarında gösterdikleri sonuçlar dahilinde reperfüzyon süresinin 3-4 saat olması meydana gelecek histopatolojik değişiklikler için yeterlidir (84). Deneysel çalışma modellerinde overlerin fikse edilme yöntemlerinde yapılacak değişikliklerin overde meydana getireceği hasarı etkilediği gösterilmektedir. Çalışmamızda adneksler torsiyone edildikten sonra batın lateral duvara süturla fikse edildi. Şahin ve arkadaşları (85), Çelik ve arkadaşları (86) yaptıkları çalışmalarda kendi etrafında döndürülen adneksi lateral abdominal duvara süturla fikse ederek torsiyon oluşturmuşlardır.

Over torsiyonunda, adneks yapısının kan akımının azalmasıyla hücre içerisinde ATP yokluğunda anaerobik yolak aktifleşmektedir. Bu durum hücre içerisinde laktik asit artışıyla sonuçlanmaktadır. Hipoksik hücrede ATPaz pompalarının çalışmaması; hücre içi kalsiyum artışına ve buna bağlı olarak

proteaz ve fosfolipaz A aktivasyonuylabirlikte serbest oksijen radikali oluşumuna yol açar. Reperfüzyon sırasında kompleman sistemi ve lökosit aktivasyonu, inflamatuvar yanıtı artırır. SOR'lar lökosit kemotaksisini tetiklerken, aktive lökositler daha fazla SOR üretir. SOR'lar hücre zarındaki doymamış yağ asitleriyle etkileşerek lipit peroksidasyonuna ve bunun ürünü olan MDA oluşumuna neden olur. SOD ve GSH ise antioksidan sistemin en temel göstergesi olup reperfüzyonda artış göstermektedir (49, 58, 59). Bazı çalışmalar bu oksidan ve antioksidan parametereleri MDA, GSH, SOD ve katalaz gibi ölçümler yaparak gösterirken bazı çalışmalarda bizim bu deneysel çalışmada yaptığımız gibi TAS, TOS ve OSİ (TOS/TAS) değerlendirmeleriyle göstermiştir (74-76, 87). Literatürde yapılan over iskemi reperfüzyon hasarı çalışmalarında biyokimyasal parametre olarak TAS, TOS ve OSİ ölçümü kullananlar incelendiğinde serum TOS ve serum OSİ sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir. Örneğin Karateke ve arkadaşlarının mannitol ve vitamin D kullanımıyla over iskemi reperfüzyon hasarıyla yaptıkları çalışmada TAS değerlerinin iskemi-reperfüzyon grubuna göre düştüğü ve anlamlı olmadığı; serum TOS ve OSİ değerlerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (87). Kalyoncu ve arkadaşlarının çalışmasında over iskemi reperfüzyonunu takiben 1 haftalık melatonin tedavisiyle serum TAS, TOS, OSİ değerlerinde istatistiksel anlamlı farklılık görülmüştür (76). Sak ve arkadaşlarının over iskemi reperfüzyonunda curcumin uygulamasıyla yaptıkları çalışmada iskemi ve reperfüzyon süreleri 3 saat olup istatistiksel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde doku TAS, TOS ve OSİ değerleri hepsi anlamlılık taşımaktadır (82).

Çalışmamızda Lupeol verilen tedavi grubunda doku ve serum TOS değerlendirmelerinde; iskemi grubuna göre belirgin düşüş görülmekle birlikte sadece doku TOS için istatistiksel anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$) görülmektedir. Yine tedavi grubunda doku ve serum OSİ değerlendirmelerinde; iskemi grubuna göre belirgin düşüş görülmekle birlikte sadece serum OSİ için istatistiksel anlamlı bulunmuştur ($p < 0,003$). Tedavi grubunda doku ve serum TAS değerlendirmelerinde; iskemi grubuna göre artış görülmekle birlikte istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Fakat tedavi grubundaki özellikle doku TAS değerleri kontrol grubu değerlerine yaklaşmaktadır. Üsteki sonuçlar total olarak değerlendirildiğinde lupeol tedavisi ile oksidasyon ürünlerinin azaldığı ve antioksidan ürünlerin ise arttığı gösterilmiştir.

Literatürde lupeolün antioksidan etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada; diyabetik hastalarda lupeol uygulanmasıyla antioksidan etki artışı ve serbest radikallerin azalması sonucunda lipid peroksidaz ve nitrik oksit ürünlerinin azaldığı ölçülmüştür (88). Alzheimer hastalığında inflamatuvar süreçlerin yanında oksidatif stresin etkisiyle serbest radikallerin artmasıyla lipid peroksidasyonu, protein oksidatif hasarı, glikoksidasyon olayları gelişmektedir. Buna eşlik eden anormal Amiloid β birikimi, glial hücre aktivasyonu, besinlerin homeostatik dengesizliği, değişmiş hücresel sinyal yolları ve anormal nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör (Nrf2) sinyalleme mevcuttur. Lupeol'un 2 hafta süreyle oral olarak 50 mg/kg uygulanması oksidatif hasarın azaldığını gösterilmiştir (89, 90). Selenit uygulanması sonucunda deneysel kataraktın hayvan modelinde geliştirilen kataraktın lupeol uygulanmasıyla ilerlemesinin değişiminin incelendiği çalışmada

lupeol; 10, 25 ve 50 µg/g dozlarında uygulanmıştır. Çalışma sonucunda lupeol uygulanması; lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonunu azaltmış, antioksidan enzimler SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz miktarını selenit sonucu gelişen katarakt grubuna göre tedavi grubunda arttırmıştır (91). Ayrıca kadmiyum uygulanmasıyla oluşturulan hepatotoksite (92), myokardiyal iskemi (93), intestinal, renal ve testiküler iskemi reperfüzyon hasarında (94, 95, 96) lupeolün uygulandığı tedavi grubunda MDA, kaspaz-3 ve IL-6 azalmış; glutatyon artış göstermiş olup Lupeol'ün bu dokular üzerindeki antioksidan etkisini kanıtlamaktadır.

Over iskemi reperfüzyon hasarında histopatolojik değişiklikler ödem, folliküler dejenerasyon, vasküler konjesyon, hemoraji, nötrofil infiltrasyonu gibi parametreler açısından değerlendirilirken bu parametreler ılımlı, orta, ciddi değişiklik olarak skorlandırılmıştır (53, 74, 97-99). Taşkın ve arkadaşlarının değişen iskemi-reperfüzyon sürelerine göre over dokusunda yaptığı çalışmada iskemi-reperfüzyon süresi uzadıkça meydana gelen histopatolojik değişikliklerin belirgin olduğu gösterilmiştir. 4-8 saatlik süreyle yapılan over iskemi-reperfüzyonunda normal over korteks ve folikül yapıları görülmüştür. İskemi süresi 12-24 saate kadar uzatıldıkça konjesyon, hemoraji, parenkimal hücre ayrılması meydana gelmektedir (100). Çalışmamızda lupeol maddesinin iskemi reperfüzyon hasarında doku koruyucu etkilerini araştırma amacıyla yapılan histopatolojik değişikliklerin değerlendirmesinde; foliküler dejenerasyon, hemoraji, vasküler konjesyon ve ödem skorunun tedavi grubunda iskemi grubuna göre azaldığı görülmektedir. İkili karşılaştırma yapıldığında; foliküler

dejenerasyon ve hemoraji açısından iskemiyle kontrol ve iskemiyle lupeol grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0,001$). Vasküler konjesyon ve ödem değişikliklerinin ikili karşılaştırmasında iskemi-tedavi başta olmak üzere tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösterdiği görüldü ($p<0,001$). Literatürde over torsiyonu üzerine Lupeolun etkilerinin araştırıldığı çalışma olmayıp, Azzam ve arkadaşlarının testiküler torsiyon modelinde yaptığı çalışmada, lupeol, seminifer tübüllerdeki hasarı azaltarak tübüler fonksiyonu korumuş ve spermatogenik hücre olgunlaşmasını artırarak fertilitenin korunmasına katkı sağlamıştır. Lupeolun bu koruyucu etkileri proinflamatuvar sitokinleri (IL-6, TNF-alfa) ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınımını baskılayarak, redoks dengesini koruyarak, hücre hasarını azaltarak hem antiinflamatuvar hem de antioksidan etkiler göstererek testis dokusu üzerinde kanıtlanmıştır. Bu over torsiyon modelinde de over dokusu üzerinde benzer şekilde fertilité üzerindeki koruyucu bir etki sağladığı görülmektedir.

Biyokimyasal olarak apoptoz değerlendirmesinde kullanılan parametrelerden biri olan kaspaz-3; iskemi reperfüzyon hasarının nekroz ve apoptozla ilerleyen geç dönemini yansıtmaktadır. Literatürde daha önceden yapılan çalışmaların yansıttığı üzere; hücre ölümünün erken aşaması nekroz olup 24 saatlik reperfüzyonu takiben hücreler apoptoza gitmektedir (101). Apoptoz/programlı hücre ölümü normal dokuların gelişimi, yayılması ve zamanında yenilenmesi için hayati önem taşıyan sürekli bir süreçtir (102, 103). Apoptotik süreci doğru bir şekilde değerlendirmek için çeşitli biyobelirteçler tanımlanmıştır. Bax, bcl-2, kaspaz-3 ve p-53 proteini apoptotik yolaktaki önemli

rollerinden dolayı en sık değerlendirilen belirteçlerdir. Lipid peroksidasyonundan kaynaklanan membran destabilizasyonu, mitokondriyal sitokrom c'nin sitoplazmaya salınmasına neden olur. Açığa çıkan sitokrom c apoptozom oluşumunu kolaylaştırır. Bu apoptozom, başlatıcı kaspaz-9'u ve ardından efektör kaspaz-3'ü aktive eder ve apoptoz meydana gelir (60). Literatürde deneysel serebral I/R modelinde kaspaz-3'ün lupeol tarafından PI3K/Akt sinyal yolu yoluyla downregüle edildiği gösterilmiştir (104). Çalışmamızda iskemi reperfüzyon hasarı sonucu serum ve doku kaspaz-3 değerlendirmelerinde iskemi grubuyla tedavi, kontrol grupları karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamasına karşın tedavi grubu serum kaspaz-3 değeri; iskemi grubuna göre azalma göstermektedir. . Serum ve doku örneklerinde kaspaz-3 değerlerinde tedavi grubunda daha düşük değerlere rağmen istatistiksel anlamlı çıkmamasının çalışmamızın reperfüzyon süresinin 24 saat olması sonucu süre ve deney hayvanı sayısının kısıtlılığı nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Topçu ve arkadaşlarının çalışmamızla aynı iskemi reperfüzyon süresinde farklı miktarlarda metformin kullanarak over iskemi reperfüzyon hasarında meydana gelen istatistiksel anlamlı kaspaz-3 düzeyi azalmasının nedeni over dokusu üzerinde ekspresyon seviyesinin ölçülmesi olduğu düşünülmektedir (105).

AMH; over rezervini göstermek için FSH ve E2 değerlerine göre daha anlamlı olup menstrual siklus dönemine göre değişken değildir. Bu nedenle siklusun herhangi bir döneminde bakılabilmektedir (106). Karaman ve arkadaşlarının over iskemi-reperfüzyonunda borik asidin over üzerindeki koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada iskemi reperfüzyon grubundaki AMH

seviyesinde en çok azalma görülmekle birlikte borik asit uygulanmasıyla AMH seviyesi iskemi-reperfüzyon grubuna göre daha fazla ölçülmüş olup borik asidin over folikülleri üzerindeki koruyucu etkileri gösterilmiştir (107). Özler ve arkadaşlarının over iskemi reperfüzyon durumunda AMH seviyesindeki değişimi göstermek amacıyla yaptıkları çalışmada; AMH seviyesi detorsiyon grubunda da düşüş göstermiş olup antiinflamatuvar, antioksidan tedavi olmadan over torsiyonunda konservatif tedavi yapılmasının over rezervini korumada etkili olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (79). Çalışmamızda doku AMH seviyeleri iskemi grubuyla karşılaştırmalı kontrol, lupeol ve tedavi gruplarının hepsi anlamlıdır ($p=0,002$). Tedavi grubunda lupeolün over rezervinikorumada etkili olduğu AMH seviyesi artışıyla görülmektedir. Çalışma sonuçları; literatürdeki sonuçlarla uyumludur. Over detorsiyonunda antioksidan etkili madde uygulanmasını destekler niteliktedir. Serum AMH değerlendirmesinde iskemi grubuyla tedavi, kontrol ve lupeol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmayıp iskemiyle tedavi grubu aynı değerdedir. Serum AMH değerinde tedavi grubunda iskemi grubuna göre daha yüksek bir değer beklenirken aynı ölçülmesinin nedenleri arasında; AMH değerinin polikistik over kisti gibi farklı nedenlerle artış göstermesiyle değişkenliği, deney hayvanı sayısının kısıtlılığı, serum AMH yarılanma süresinin 36 saat olması bulunmaktadır (106, 108).

Lupeol; bu deneysel over torsiyon modelinde antioksidan, antiapoptotik etkileri yanında histopatolojik olarak doku koruyucu etkileri ve AMH artışıyla over rezervine katkılarıyla etkisini göstermektedir. Lupeol; bitkisel olması, toksik etkilerinin literatürde görülmemesi, kolay ulaşılması ve maliyetinin düşüklüğü

nedeniyle klinik olarak over detorsiyonu öncesinde ve sonrasında güvenle uygulanabilir bir madde olup over detorsiyonu sonrasında meydana gelecek reperfüzyon hasarında olumsuz etkileri azaltıcı, over rezervinikoruycudur.



6. SONUÇ

Deneysel olarak ratlarda oluşturulan over iskemi-reperfüzyon modelinde lupeol uygulanmasının etkileri aşağıdaki gibidir:

1. Torsiyon-detorsiyon grubunda foliküler dejenerasyon, vasküler konjesyon, hemorajive ödem skorları, TOS düzeyi, OSİ vekaspaz-3 değeri sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, AMH düzeyleri sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktür ($p<0,05$).

2. Lupeol; intraperitoneal uygulanması sonrası doku TOS, serum OSİ değerini azaltarak ve serum TAS değeriyle doku AMH seviyesini arttırarak over dokusu üzerinde antioksidan, doku koruyucu etki göstermiştir. Serum TAS, doku TAS değeri; iskemi grubuna göre tedavi grubunda artmış ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı şekilde Serum TOS, doku OSİ değerleri tedavi grubunda azalmış olup iskemi grubuyla karşılaştırması istatistiksel olarak anlamlı değildir.

3. Histopatolojik olarak ödem, vasküler konjesyon parametreleri lupeol tedavisi ile azalmış ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Foliküler dejenerasyon ve hemoraji parametreleri tedavi grubunda iskemiye oranla azalmış; ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

4. Tedavi grubunda serum ve doku örneklerinde kaspaz-3 değeri; iskemi reperfüzyon süresinebağlı olarak istatistiksel anlamlı çıkmayan ancak sayısal olarak iskemi grubuna göre kaspaz-3 değerinde azalmayla etkisini gösteren lupeolün antiapoptotik etkisi mevcuttur.

7. KAYNAKLAR

1. Walker SK, Lal DR, Boyd KP, Sato TT. Management of pediatric ovarian torsion: evidence of follicular development after ovarian preservation. *Surgery*. 2018 Mar;163(3):547-552.
2. Childress KJ, Dietrich JE. Pediatric Ovarian Torsion. *Surg Clin North Am*. 2017 Feb;97(1):209-221.
3. Bertozzi M, Esposito C, Vella C, Briganti V, Zampieri N, Codrich D et. al Pediatric Ovarian Torsion and its Recurrence: A Multicenter Study. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2017 Jun;30(3):413-417.
4. Way S. Ovarian cystectomy of twisted cysts. *Lancet* 1946;2:47.
5. Vancaillie T, Schmidt EH. Recovery of ovarian function after laparoscopic treatment of acute adnexal torsion. A case report. *J Reprod Med* 1987;32:561-562.
6. Cass DL. Ovarian torsion. *Semin Pediatr Surg*. 2005 May;14(2):86-92.
7. Kokoska ER, Keller MS, Weber TR. Acute ovarian torsion in children. *Am J Surg* 2000;180:462-465.
8. Laganà AS, Sofò V, Salmeri FM, Palmara VI, Triolo O, Terzić MM et al. Oxidative Stress during Ovarian Torsion in Pediatric and Adolescent Patients: Changing The Perspective of The Disease. *Int J Fertil Steril*. 2016 Jan-Mar;9(4):416-423.
9. Akgür FM, Kiliç K, Tanyel FC, BüyükpamukçuN, Hiçsönmez A. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology*. 1994 Sep;44(3):413-418.
10. Kurt RK, Dogan AC, Dogan M, Albayrak A, Kurt SN, Eren F et al. Protective effect of colchicine on ovarian ischemia-reperfusion injury: an experimental study. *Reprod Sci*. 2015 May;22(5):545-550.
11. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*. 2015 Jun 5;97:55-74.
12. Pereira Beserra F, Sérgio Gushiken LF, Vieira AJ, Augusto Bérçamo D, Luísa Bérçamo P, Oliveira de Souza M et al. From Inflammation to Cutaneous Repair: Topical Application of Lupeol Improves Skin Wound

Healing in Rats by Modulating the Cytokine Levels, NF- κ B, Ki-67, Growth Factor Expression, and Distribution of Collagen Fibers. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 13;21(14):49-52.

13. Liu K, Zhang X, Xie L, Deng M, Chen H, Song J et al. Lupeol and its derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents: Molecular mechanisms and therapeutic efficacy. *Pharmacol Res.* 2021 Feb;164:105373.
14. Erimsah S, Cetinkaya A. The effect of protocatechuic acid on ovarian histopathology and reserve in rat ovarian torsion model. *Bratisl Lek Listy.* 2023;124(11):842-847.
15. Sadler T.W., Langman's Medical Embryology , In: Taylor C., Vosburg A., editors. Urogenital system, Wilkins Kluwer, Philadelphia 14th ed. 2019, s. 267-273
16. Koopman P, Münsterberg A, Capel B, Vivian N, Lovell-Badge R. Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation. *Nature.* 1990 Nov 29;348(6300):450-452.
17. Mescher AL. eds. Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, The Female Reproductive System, McGraw-Hill Education; . 17th ed. 2024,s. 1961-1972
18. Standring, S., Gray's anatomy e-book: the anatomical basis of clinical practice Female Reproductive System Elsevier Health Sciences 41th ed. 2020,s. 1296-1304
19. Sobotta, Atlas of human anatomy, Paulsen F. and Waschke J. editors Internal Female Genitalia, Elsevier, Germany 16th ed. 2013,s.289-291
20. Lee WG, Ourshalimian S, Keane OA, O'Guinn M, Odegard MN, Sparks SS et al. Sex-based Disparities in the Management of Pediatric Gonadal Torsion. *J Pediatr Surg.* 2024 Jul;59(7):1355-1361.
21. Eilbert W., Nguyen H.Premenarchal ovarian torsion, *Pediatr Emerg Med J.* 2023;10 (2): 49-53.
22. McGovern PG, Noah R, Koenigsberg R, Little AB. Adnexal torsion and pulmonary embolism: case report and review of the literature. *Obstet Gynecol Surv.* 1999 Sep;54(9):601-608.
23. Parelkar SV, Mundada D, Sanghvi BV, Joshi PB, Oak SN, Kapadnis SP et al. Should the ovary always be conserved in torsion? A tertiary care institute experience. *J Pediatr Surg.* 2014 Mar;49(3):465-468.

24. Guthrie BD, Adler MD, Powell EC. Incidence and trends of pediatric ovarian torsion hospitalizations in the United States, 2000-2006. *Pediatrics*. 2010 Mar;125(3):532-538.
25. Henry MC, R.K., Riggle KM. Ovarian Torsion. In: Hirschl RR, Powell DD, Waldhausen JJ. *Ovarian Torsion*. 2020 [cited 2021; Available from:[https://www.pedsurglibrary.com/apsa/view/Pediatric-Surgery NaT/829147/all/Ovarian_Torsion](https://www.pedsurglibrary.com/apsa/view/Pediatric-Surgery%20NaT/829147/all/Ovarian_Torsion).
26. Casey RK, Damle LF, Gomez-Lobo V. Isolated fallopian tube torsion in pediatric and adolescent females: a retrospective review of 15 cases at a single institution. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2013 Jun;26(3):189-192.
27. Kelleher, Cassandra M. MD; Goldstein, Allan M. MD. Adnexal Masses in Children and Adolescents. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2015 Mar; 58(1):p 76-92.
28. Oltmann SC, Fischer A, Barber R, Huang R, Hicks B, Garcia N. Pediatric ovarian malignancy presenting as ovarian torsion: incidence and relevance. *J Pediatr Surg*. 2010 Jan;45(1):135-139.
29. Nitta H, Kinjo T, Kinjyo Y, Yamada H, Masamoto H, Aoki Y. Fetal ovarian cyst with prenatal torsion of the pedicle diagnosed in the third trimester: A case report. *Case Rep Womens Health*. 2022 Aug 18;36:e00443.
30. Cass DL. Fetal abdominal tumors and cysts. *Transl Pediatr*. 2021 May;10(5):1530-1541.
31. Ozcan C, Celik A, Ozok G, Erdener A, Balik E. Adnexal torsion in children may have a catastrophic sequel: asynchronous bilateral torsion. *J Pediatr Surg*. 2002 Nov;37(11):1617-1620.
32. Sasaki KJ, Miller CE. Adnexal torsion: review of the literature. *J Minim Invasive Gynecol*. 2014 Mar-Apr;21(2):196-202.
33. Aoyagi R., Ishihara S., Hosoi K., Tomita H., Kumagai T., Ovarian torsion presenting with epigastric pain in a pediatric patient: A case report, *Journal of Pediatric Surgery Case Reports*, Volume 102,2024
34. Boley SJ, Cahn D, Lauer T, Weinberg G, Kleinhaus S. The irreducible ovary: a true emergency. *J Pediatr Surg*. 1991 Sep;26(9):1035-1038.
35. Chen S, Gao Z, Qian Y, Chen Q. Key clinical predictors in the diagnosis of ovarian torsion in children. *J Pediatr (Rio J)*. 2024 Jul-Aug;100(4):399-405.

36. Nissen M, Sander V, Rogge P, Alrefai M, Tröbs RB. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio Might Predict Pediatric Ovarian Torsion: A Single-Institution Experience and Review of the Literature. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2021 Jun;34(3):334-340.
37. DeJohn LM, Choudhary AK, Boal DK. Acute ovarian torsion in an infant: diagnostic clues on supine and decubitus abdominal radiographs confirmed by ultrasound. *Emerg Radiol*. 2010 Jul;17(4):335-338.
38. Ngo AV, Otjen JP, Parisi MT, Ferguson MR, Otto RK, Stanescu AL. Pediatric ovarian torsion: a pictorial review. *Pediatr Radiol*. 2015 Nov;45(12):1845-1855
39. Oltmann SC, Fischer A, Barber R, Huang R, Hicks B, Garcia N. Cannot exclude torsion--a 15-year review. *J Pediatr Surg*. 2009 Jun;44(6):1212-1216
40. Freitas I, Soares-Aquino C, Sá P, Silva AC, Ključevšek D, Dias SC. Pediatric gonadal torsion in radiology: A comprehensive literature and pictorial review using surgically proven cases. *Eur J Radiol Open*. 2025 Mar 20;14:100644.
41. Linam LE, Darolia R, Naffaa LN, Breech LL, O'hara SM, Hillard PJ et al. US findings of adnexal torsion in children and adolescents: size really does matter. *Pediatr Radiol*. 2007 Oct;37(10):1013-1019.
42. Sims MJ, Price AB, Hirsig LE, Collins HR, Hill JG, Titus MO. Pediatric Ovarian Torsion: Should You Go With the Flow? *Pediatr Emerg Care*. 2022 Jun 1;38(6):e1332-e1335.
43. Rougier E, Mar W, Della Valle V, Morel B, Irtan S, Audureau E et al. Added value of MRI for the diagnosis of adnexal torsion in children and adolescents after inconclusive ultrasound examination. *Diagn Interv Imaging*. 2020 Nov;101(11):747-756.
44. Riccabona M, Lobo ML, Ording-Muller LS, Thomas Augdal A, Fred Avni E, Blickman J et al. European Society of Paediatric Radiology abdominal imaging task force recommendations in paediatric uro-radiology, part IX: Imaging in anorectal and cloacal malformation, imaging in childhood ovarian torsion, and efforts in standardising paediatric uro-radiology terminology. *Pediatr Radiol*. 2017 Sep;47(10):1369-1380.
45. Ssi-Yan-Kai G, Rivain AL, Trichot C, Morcelet MC, Prevot S, Deffieux X et al. What every radiologist should know about adnexal torsion. *Emerg Radiol*. 2018 Feb;25(1):51-59.
46. Huerta CT, Rodriguez C, Parreco J, Thorson CM, Sola JE, Perez EA. Contemporary Trends in Laparoscopy and Ovarian Sparing Surgery for

Ovarian Torsion in the Pediatric Population. *J Pediatr Surg.* 2024 Mar;59(3):393-399.

47. Nur Azurah AG, Zainol ZW, Zainuddin AA, Lim PS, Sulaiman AS, Ng BK. Update on the management of ovarian torsion in children and adolescents. *World J Pediatr.* 2015 Feb;11(1):35-40.
48. Geimanaite L, Trainavicius K. Pediatric ovarian torsion: Follow-up after preservation of ovarian tissue. *J Pediatr Surg.* 2019 Jul;54(7):1453-1456.
49. Türk E, Karaca İ, Ozcinar E, Celebiler A, Aybek H, Ortac R et al. The effect of hypothermia on adnexal torsion/detorsion injury in a rat ovary model. *J Pediatr Surg.* 2015 Aug;50(8):1378-1381.
50. Bozkurt S, Arikan DC, Kurutas EB, Sayar H, Okumus M, Coskun A, Bakan V. Selenium has a protective effect on ischemia/reperfusion injury in a rat ovary model: biochemical and histopathologic evaluation. *J Pediatr Surg.* 2012 Sep;47(9):1735-1741.
51. Deniz E, Topcu A, Ozturk A, Ozturk SD, Arpa M, Atak M. The effects of vitamin B12 on the TLR-4/NF- κ B signaling pathway in ovarian ischemia-reperfusion injury-related inflammation. *Int Immunopharmacol.* 2022 Jun;107:108676.
52. Olesen HØ, Pors SE, Jensen LB, Grønning AP, Lemser CE, Nguyen Heimbürger MTH et al. N-acetylcysteine protects ovarian follicles from ischemia-reperfusion injury in xenotransplanted human ovarian tissue. *Hum Reprod.* 2021 Jan 25;36(2):429-443.
53. Gokalp N, Basaklar AC, Sonmez K, Turkyilmaz Z, Karabulut R, Poyraz A et al. Protective effect of hydrogen rich saline solution on experimental ovarian ischemia reperfusion model in rats. *J Pediatr Surg.* 2017 Mar;52(3):492-497.
54. Ilgen O, Hortu I, Ozcelik G, Yigitturk G, Erbas O, Karadadas N. Effects of Methylene Blue on Ovarian Torsion-Detorsion Injury in a Rat Model. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2020 Oct;33(5):506-510.
55. Yildirim N, Simsek D, Kose S, Yildirim AGS, Guven C, Yigitturk G et al. The protective effect of Ginkgo biloba in a rat model of ovarian ischemia/reperfusion injury: Improvement in histological and biochemical parameters. *Adv ClinExp Med.* 2018 May;27(5):591-597.
56. Eken MK, Ersoy GS, Kaygusuz EI, Devranoğlu B, Takır M, Çilingir ÖT et al. Etanercept protects ovarian reserve against ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Arch Med Sci.* 2019 Jul;15(4):1104-1112.

57. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, Cheng PW et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(4):1650-1667.
58. Ozcan, O., H. Erdal, and Z. Yonden, *İskemi-reperfüzyon hasari ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış*. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi 2015 6(23): p. 27-33
59. Lee MC, Velayutham M, Komatsu T, Hille R, Zweier JL. Measurement and characterization of superoxide generation from xanthine dehydrogenase: a redox-regulated pathway of radical generation in ischemic tissues. *Biochemistry*. 2014 Oct 21;53(41):6615-23.
60. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radic Biol Med*. 2018 Mar;117:76-89.
61. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(7):829-37, 837a-837d.
62. Serracino-Inglott F, Habib NA, and Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001;181:160–166.
63. Carden, D.L. and D.N. Granger, Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury. *The Journal of pathology*, 2000; 190(3): p. 255-266.
64. Karabulut, H. and M.Ş. Gülay, Serbest radikaller. Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute, 2016. 4(1).
65. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006 Mar 10;160(1):1-40.
66. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. 2004 Oct;52:794-804.
67. Lü JM, Lin PH, Yao Q, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*. 2010 Apr;14(4):840-860.
68. Şener, G. and Y. Bç, İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*, 2009 22(3): p. 5-14.
69. Siddique HR, Saleem M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. *Life Sci*. 2011 Feb 14;88(7-8):285-293.

70. Kim MJ, Bae GS, Choi SB, Jo IJ, Kim DG, Shin JY et al. Lupeol Protects Against Cerulein-Induced Acute Pancreatitis in Mice. *Phytother Res.* 2015 Oct;29(10):1634-1639.
71. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.* 2004 Apr; 37(4):277-285.
72. Erel O. A new automated colorimetric method measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.* 2005 Dec; 38(12):1103-1111.
73. Chen J, Cheng Y, Cui H, Li S, Duan L, Jiao Z. N-acetyl-L-cysteine protects rat lungs and RLE-6TN cells from cigarette smoke-induced oxidative stress. *Mol Med Rep.* 2025 Apr;31(4):97.
74. Ulusoy Tanguel S, Onat T, Aydoğan Kirmizi D, Doganyigit Z, Kaymak E, Oflamaz A et al. Effect of bromelain on ischemia-reperfusion injury in the torsion model created in polycystic and normal ovarian tissues. *Front Pharmacol.* 2025 Jan 3;15:1451592.
75. Eser A, Hizli D, Haltas H, Namuslu M, Kosus A, Kosus N et al. Effects of curcumin on ovarian ischemia-reperfusion injury in rat model. *Biomed Rep.* 2015 Nov;3(6):807-813.
76. Kalyoncu S, Yilmaz B, Demir M, Tuncer M, Bozdog Z, Ince O et al. (2020) "Melatonin attenuates ovarian ischemia reperfusion injury in rats by decreasing oxidative stress index and peroxynitrite," *Turkish Journal of Medical Sciences*: 50(6).
77. Unal A, " Kolşisin ve sesamol'ün deneysel sıçan over torsiyonu modelinde over iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerinin araştırılması" *Tıpta Uzmanlık Tezi.* İstanbul: Şişli Hamidiye Etfal Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, 2021
78. Erdem AO, Ozkisacik S, Coskun OD, Dogan S, Culhaci N, Yazici M. The long-term protective effect of hypothermia and gradual detorsion on ovarian tissue in adnexal torsion/detorsion model in rats. *J Pediatr Surg.* 2020 Aug;55(8):1639-1644.
79. Ozler A, Turgut A, Soydinç HE, Sak ME, Evsen MS, Alabalik U et al. The biochemical and histologic effects of adnexal torsion and early surgical intervention to unwind detorsion on ovarian reserve: an experimental study. *Reprod Sci.* 2013 Nov;20(11):1349-1355.

80. Kaleli B, Aktan E, Gezer S, Kirkali G. Reperfusion injury after detorsion of unilateral ovarian torsion in rabbits. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110(1):99-101
81. Sahin Ersoy G, Eken M, Tal R, Oztekin D, Devranoglu B, Isik Kaygusuz E et al. N-acetylcysteine leads to greater ovarian protection than enoxaparin sodium in a rat ovarian torsion model. *Reprod Biomed Online.* 2016 Jul;33(1):93-101.
82. Sak ME, Soydinc HE, Sak S, Evsen MS, Alabalik U, Akdemir F et al. The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Int J Surg.* 2013;11(9):967-970.
83. Sapmaz-Metin M, Topcu-Tarlacalisir Y, Uz YH, Inan M, Omurlu IK, Cerkezayabekir A et al. Vitamin E modulates apoptosis and c-jun N-terminal kinase activation in ovarian torsion-detorsion injury. *Exp Mol Pathol.* 2013 Oct;95(2):213-219.
84. Turkoz Y, Celik O, Hascalik S, Cigremis Y, Hascalik M, Mizrak B et al. Melatonin reduces torsion-detorsion injury in rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *J Pineal Res.* 2004 Sep;37(2):137-141.
85. Sahin FK, Cosar E, Koken G, Toy H, Basarali K, Buyukbas S. Protective effect of aprotinin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *J Obstet Gynaecol Res.* 2008 Oct;34(5):794-800.
86. Celik O, Turkoz Y, Hascalik S, Hascalik M, Cigremis Y, Mizrak B et al. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Dec 1;117(2):183-188.
87. Karateke F, Karateke A, Topdagi B, Atilgan M, Dokuyucu R. The Role of Mannitol and Vitamin D in Ovarian Ischemia/Reperfusion Injury in Rats with Acute Abdominal. *Curr Issues Mol Biol.* 2024 Aug 15;46(8):8903-8913.
88. Gupta R, Sharma AK, Sharma MC, Dobhal MP, Gupta RS. Evaluation of antidiabetic and antioxidant potential of lupeol in experimental hyperglycaemia. *Nat Prod Res.* 2012;26(12):1125-1129.
89. Ahmad, R.; Khan, A.; Lee, H.J.; Ur Rehman, I.; Khan, I.; Alam et al. Lupeol, a Plant-Derived Triterpenoid, Protects Mice Brains against Abeta-Induced Oxidative Stress and Neurodegeneration. *Biomedicines* 2020, 8, 380.
90. Park JS, Rehman IU, Choe K, Ahmad R, Lee HJ, Kim MO. A Triterpenoid Lupeol as an Antioxidant and Anti-Neuroinflammatory Agent: Impacts on Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Nutrients.* 2023 Jul 7;15(13):3059.

91. Asha R, Gayathri Devi V, Abraham A. Lupeol, a pentacyclic triterpenoid isolated from *Vernonia cinerea* attenuate selenite induced cataract formation in Sprague Dawley rat pups. *Chem Biol Interact.* 2016 Feb 5;245:20-29.
92. Sunitha S, Nagaraj M, Varalakshmi P. Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia.* 2001 Jun;72(5):516-523.
93. Li J, Ma X, Yang J, Wang L, Huang Y, Zhu Y. Lupeol Alleviates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats by Regulating NF- κ B and Nrf2 Pathways. *Am J Chin Med.* 2022;50(5):1269-1280.
94. Kaya C, Kapisiz A, Eryilmaz S, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Inan MA et al. Effects of Lupeol on Intestinal Anastomosis After Experimental Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Drug Des Devel Ther.* 2025 Jan 23;19:479-490.
95. Kapisiz A, Kaya C, Eryilmaz S, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Inan MA et al. Protective effects of lupeol in rats with renal ischemia-reperfusion injury. *Exp Ther Med.* 2024 Jun 7;28(2):313.
96. Azzam A, Karabulut R, Kaya C, Eryilmaz S, Kapisiz A, Turkyilmaz Z et al. Effects of lupeol on experimental testicular ischemiareperfusion damage in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2025 Feb;31(2):95-102.
97. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, Kurt RK, Ozcan O, Ozturk S et al. Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014 Dec;183:23-27.
98. Aktepe R, Ucuncu Y, Tumkaya L, Mercantepe T, Topcu A, Uydu HA et al. Long-term protective effects of lamotrigine in a rat ovarian ischemia-reperfusion model. *Tissue Cell.* 2024 Feb;86:102297.
99. Uzel K, Lakhno I, Turkler C, Kuzucu M, Yazici GN, Mammadov R et al. Tocilizumab is effective in preventing ovarian injury induced by ischemia-reperfusion in rats. *An Acad Bras Cienc.* 2023 May 15;95(1):e20220442.
100. Taskin O, Birincioglu M, Aydin A, Buhur A, Burak F, Yilmaz I et al. The effects of twisted ischaemic adnexa managed by detorsion on ovarian viability and histology: an ischaemia-reperfusion rodent model. *Hum Reprod.* 1998 Oct;13(10):2823-2827.
101. Eum HA, Cha YN, Lee SM. Necrosis and apoptosis: sequence of liver damage following reperfusion after 60 min ischemia in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 358: 500–505.

102. Anwar S, Ambros RA, Jennings TA, Ross JS, Beza A, Mian B et al. Expression of cysteine protease protein 32 in prostatic adenocarcinoma correlates with tumor grade. *Arch Pathol Lab Med.* 2004 Jun;128(6):649-652.
103. Freitas SH, Dória RGS, Bueno RS, Rocha WB, Filho JRE, Moraes JRE et al. Evaluation of potential changes in liver and lung tissue of rats in an ischemia-reperfusion injury model (modified pringle maneuver). *PLoS One.* 2017 Jun 12;12(6):e0178665.
104. Wang Z, Han Y, Tian S, Bao J, Wang Y, Jiao J. Lupeol Alleviates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Correlation with Modulation of PI3K/Akt Pathway. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2020 Jun 2;16:1381-1390.
105. Topcu A, Balik G, Atak M, Mercantepe T, Uydu HA, Tumkaya L. An investigation of the effects of metformin on ovarian ischemia-reperfusion injury in rats. *Eur J Pharmacol.* 2019 Dec 15;865:172790.
106. Cedars MI. Evaluation of Female Fertility-AMH and Ovarian Reserve Testing. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022 May 17;107(6):1510-1519.
107. Karaman E, Onder GO, Goktepe O, Karakas E, Mat OC, Bolat D et al. Protective Effects of Boric Acid Taken in Different Ways on Experimental Ovarian Ischemia and Reperfusion. *Biol Trace Elem Res.* 2024 Jun;202(6):2730-2743.
108. Griesinger G, Dafopoulos K, Buendgen N, Cascorbi I, Georgoulas P, Zavos A, Messini CI, Messinis IE. Elimination half-life of anti-Müllerian hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jun;97(6):2160-2163.

8. ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; deneysel over torsiyonu yapılan ratlarda antioksidan, antiapoptotik, doku koruyucu etkileri farklı dokularda gösterilen Lupeol maddesinin over iskemi reperfüzyon hasarında histopatolojik ve biyokimyasal etkilerinin gösterilmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve yöntem: Çalışmada 24 Wistar Albino rat; 4 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol, lupeol, iskemi ve tedavi olarak adlandırıldı. Lupeol grubunda intraperitoneal 100mg/kg'dan lupeol verildi. Her iki over saat yönünde 720 derece döndürülüp 3 saat bekletilerek over torsiyon modeli oluşturuldu. Torsiyon grubunda sadece over torsiyon-detorsiyonu yapılırken tedavi grubunda over; detorsiyone edilmeden yarım saat önce, intraperitoneal 100mg/kg'dan lupeol verildi. Reperfüzyon süresi olarak 24 saat uygulanıp biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme için hem dokuhem serumdan örnekler alındı .

Bulgular: Biyokimyasal değerlendirme için Total Antioksidan Skor (TAS) , Total Oksidan Skor (TOS) , Oksidatif Stres İndeks (OSİ), Kaspaz-3 ve Anti-Müllerian Hormon (AMH); histopatolojik değerlendirme için foliküler dejenerasyon, hemoraji, vasküler konjesyon ve ödem skorlama her grup için yapıldı. Çalışmanın verileri IBM SPSS Version 22.0 istatistik Windows Paket Programı (IBM Corp., Armonk, NY) ile analiz edildi. Histopatolojik değerlendirmelerde, doku TOS, serum OSİ, serum ve dokukaspaz-3 değerlerinde tedavi grubunda iskemi grubuna göre azalma; serum TAS ve doku AMH

değerlendirmelerinde; tedavi grubunda iskemi grubuna oranla artış görülmektedir (sırasıyla $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,033$, $p = 0,002$).

Sonuç: Lupeol'ün over iskemi-reperfüzyon hasarında; antioksidan, antiapoptotik, doku koruyucu etkileri ve AMH artışıyla over rezervine katkısı literatürde ilk defa gösterilmiştir. Lupeol; bitkisel olması, toksik etkilerinin literatürde görülmemesi, kolay ulaşılması ve maliyetinin düşüklüğü nedeniyle klinik olarak over detorsiyonu öncesinde ve sonrasında güvenle uygulanabilmesi açısından geleceğe ışık tutmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Deneysel, İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Over Torsiyonu, Lupeol

9. ABSTRACT

Aim: In this study, we aim to investigate the histopathological and biochemical effects of lupeol, which has antioxidant, antiapoptotic and tissue protective effects in different tissues, during ovary ischemia reperfusion injury in a rat model of experimental ovarian torsion.

Material and methods: In the study, 24 Wistar Albino rats were divided into 4 groups. The groups were named as; control, lupeol, ischemia and treatment. In the lupeol group, 100 mg/kg lupeol was given intraperitoneally. A bilateral ovarian torsion model was created by rotating both of ovaries 720 degrees clockwise and maintaining torsion for 3 hours. In the Torsion group, only torsion-detorsion was performed, whereas the Treatment group received intraperitoneal 100 mg/kg lupeol 30 minutes before detorsion. A 24-hour reperfusion period was allowed before collecting tissue and serum samples for biochemical and histopathological evaluation.

Results: Biochemical analysis included measurements of Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS), Oxidative Stress Index (OSI), Caspase-3, Anti-Müllerian Hormone (AMH); histopathological changes evaluated as follicular degeneration, hemorrhage, vascular congestion and edema which was scored for each group. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY). In histopathological evaluations, tissue TOS, serum OSI, serum and tissue caspase-3 scores decrease in the treatment group compared to the ischemia group; in serum TAS and tissue

AMH evaluations' scores increase in the treatment group compared to the ischemia group (in order $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,033$, $p = 0,002$).

Conclusion: This study is the first in the literature to demonstrate that lupeol exerts antioxidant, anti-apoptotic, and tissue-protective effects in ovarian ischemia-reperfusion injury, while also enhancing ovarian reserve via increased AMH levels. Due to its plant-derived origin, absence of reported toxicity in the literature, accessibility, and low cost, lupeol holds promising clinical potential as a safe adjunctive therapy before and after ovarian detorsion.

Keywords: Experimental, Ischemia/Reperfusion Injury, Ovarian Torsion, Lupeol

