



**ANTIÖKSİDANLARIN UTERUS TRANSPLANTASYONUNDA
ANGİOGENEZİSE ETKİLERİ**

Tuğba UĞURLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2017

TUĞBA UĞURLU tarafından hazırlanan "ANTİOKSİDANLARIN UTERUS TRANSPLANTASYONUNDA ANGIOGENEZİSE ETKİLERİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan (Danışman): Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

Histoloji-Embriyoloji Abd., Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



İkinci Danışman: Doç. Dr. Seren Gülşen GÜRGEN

Histoloji-Embriyoloji Abd., Celal Bayar Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

Histoloji-Embriyoloji Abd., Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU

Histoloji-Embriyoloji Abd., Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç Dr. Ayten TÜRKKANI

Histoloji-Embriyoloji Abd., TOBB ETÜ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 11/05/2017

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Tuğba UĞURLU

11/05/2017

ANTİOKSİDANLARIN UTERUS TRANSPLANTASYONUNDA ANJİOGENEZİSE ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Tuğba UĞURLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2017

ÖZET

Bu çalışmada uterus transplantasyonunda antioksidanların angiogeneze etkileri araştırıldı. Kullanılan 24 dişi rat dört eşit gruba ayrıldı: Grup 1'deki uteruslar 4°C HTK (Histidin-Triptofan- Ketoglutarat) solüsyonunda 4 saat soğuk depolama sürecinde bekletildi. Grup 2 uterus dokuları Asetil-L-karnitin (10^{-8} M) eklenen HTK solüsyonunda +4°C'de 4 saat bekletildi. Grup 1 ve 2'ye uygulanan prosedürün aynısı 24 saat olmak üzere Grup 3 ve 4'e uygulandı. Histolojik incelemeler ve immünohistokimyasal analizler yapıldı. Donör uterusların HTK solüsyonunda +4°C'de 24 saat bekletilmesi sonucunda istenmeyen histolojik değişikliklerin ortaya çıktığı görüldü. Grup 2'deki rat uteruslarının üç tabakasındaki VEGFR-2 immünreaktivitesinin Grup 1'e göre daha zayıf olduğu ve Grup 4'teki uteruslarda VEGFR-2 ekspresyonun Grup 3'e göre daha zayıf olduğu belirlendi. Sonuç olarak, bir antioksidan olan Asetil-L-karnitin organ koruma solüsyonu HTK'ya eklenmesi ile serbest radikal oluşumunu engellediği ve kısa ve uzun soğuk depolama periyodlarında bekletilen uterusu koruduğu belirlendi.

Bilim Kodu : 1061.4

Anahtar Kelimeler : HTK solüsyonu; Asetil-L-Karnitin; Angiogeneze; Uterus; Uterus Transplantasyonu

Sayfa Adedi : 113

Danışman : Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

İkinci Danışman : Doç. Dr. Seren Gülşen Gürgen

THE EFFECT OF ANTIOXIDANTS TO ANGIOGENESIS ON UTERINE
TRANSPLANTATIONS

(M. Sc. Thesis)

Tuğba UĞURLU

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

May 2017

ABSTRACT

The aim of study was to investigate the effect of antioxidants on angiogenesis in uterine transplantation. We used 24 female rats equally divided into four groups: Group 1 had the uterus stored in HTK (Histidine- Tryptophan-Ketoglutarate) solution at 4°C cold storage for 4 h. Group 2 had the uterine tissue stored in HTK solution combined with Acetyl-L-carnitine (10^{-8} M) for 4 h at +4°C. The same procedure with Group 1 and 2 were repeated for 24 hour for Group 3 and 4, respectively. Histological investigation and immunohistochemical analysis were performed. Histological findings showed that storing donor uterus in HTK solution at +4°C for 24 h results in histological alteration in uterus. We also found that immunoreactivity of VEGFR-2 in all layers of rat uterus in Group 2 was lower than that in Group 1, and the expression of the uterus in Group 4 was lower than that in Group 3. We could conclude that antioxidant Acetyl-L-carnitine, which was added to the organ preservation solution HTK, had prevented the formation of free radicals, and thus protected the uterus that was stored in short and long cold storage periods.

Science Code : 1061.4

Key Words : HTK solution; Acetyl-L-Carnitine; Angiogenesis; Uterus; Uterine transplantations

Page Number : 113

Advisor : Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

Co-Advisor : Doç. Dr. Seren Gülşen Gürgen

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, her zaman desteğini hissettiğim Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız ve değerli danışman hocam Candan ÖZOĞUL' a,

Eğitim sürecimde bilgi birikimi ve hayat tecrübesiyle bana yol gösteren ikinci danışmanım Doç. Dr. Seren Gülşen GÜRGEN'e ve değerli hocalarım; Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU' na, Prof. Dr. Çiğdem ELMAS' a, Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU' na ve Uzm. Dr. Seda Nur AKYOL'a

Bu çalışmamın oluşturulması ve tezimin yazımı sırasında tecrübeleri ile sağladığı destek ve yardımları için Sanem SARIBAŞ ve Erdinç BEŞİKÇİOĞLU' na,

Bugünü yaşamamda en büyük katkısı olan, maddi ve manevi desteğini yaşamımın her anında hissettiğim sevgili Anneciğim Hatice UĞURLU ve biricik kardeşlerim Burak UĞURLU ve Elif Nur Uğurlu' ya sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2014-7 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Uterus Gelişimi	7
2.2. Uterus Anatomisi	10
2.2.1. Korpus uteri (Corpus uteri)	11
2.2.2. Serviks uteri (Cervix uteri)	12
2.3. Uterus Histolojisi	17
2.3.1. Perimetrium	17
2.3.2. Miyometrium	18
2.3.3. Endometrium	18
2.4. Uterus Fizyolojisi	22
2.5. Organ Transplantasyonu	25
2.5.1. Uterus transplantasyonu	25

	Sayfa
2.6. Organ Koruma Solüsyonları	28
2.7. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	29
2.7.1. Karnitin	37
2.7.2. Karnitin kullanıldığı alanlar	40
2.7.3. Karnitin eksikliği	40
2.7.4. Karnitin eksikliğinde ortaya çıkan metabolik bozukluklar	41
2.7.5. Asetil-L-Karnitin	42
2.8. Damar Sisteminin Oluşması	43
2.8.1. Vaskülogenezis	43
2.8.2. Angiogenesis	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM	65
3.1. Histokimyasal Yöntem	65
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem	67
3.3. İstatiksel Yöntem	68
4. BULGULAR	69
4.1. Histokimyasal bulgular	69
4.2. İmmünohistokimyasal bulgular	73
4.3. İstatiksel bulgular	81
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	93
KAYNAKLAR	95

	Sayfa
EKLER	109
Ek-1. Etik Kurul	110
Ek-2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası	111
ÖZGEÇMİŞ	113



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Önemli fizyolojik antioksidanlar.....	37
Çizelge 2.2. Proangiogenik ve anti-angiogenik faktörler	45
Çizelge 4.1. Gruplara ait tanımlayıcı immunohistokimyasal datalar. İstatistiksel anlamlı olan veriler koyu karakter ile vurgulanmıştır, $p<0,05$. * Kruskal-Wallis ve post-hoc analiz	81



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Konjenital ve sonradan edinilmiş uterus faktörlü infertilite nedenleri.....	26
Resim 2.2. Hücre içinde gerçekleşen antioksidan mekanizması.....	32
Resim 2.3. L-Carnitin ve diğer kimyasal formlarının yapısı.....	38
Resim 2.4. VEGF ve VEGFR çeşitleri.....	63
Resim 4.1. Grup 1'e ait histolojik inceleme. Normal mikroskopik görünüm (H&E, X100).....	69
Resim 4.2. Grup 2'ye ait histolojik incelemeler. Normal mikroskopik görünüm. (H&E, X100).....	70
Resim 4.3. Grup 3'e ait histolojik incelemeler. Epitel-bazal membran yapısında bozulmalar (siyah ok) ve uterus lümeninde hücrel debrisler (yıldız) (H&E, X100).....	71
Resim 4.4. Grup 4'e ait histolojik incelemeler. Normal mikroskopik görünüm. (H&E, X100)	72
Resim 4.5. Küçük büyültmede grup 1'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40)....	73
Resim 4.6. Büyük büyültmede grup 1'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100).....	74
Resim 4.7. Küçük büyültmede grup 2'ye ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40).....	75
Resim 4.8. Büyük büyültmede grup 2'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100).....	76
Resim 4.9. Küçük büyültmede grup 3'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40).....	77

Resim	Sayfa
Resim 4.10. Büyük büyültmede grup 3'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100)	78
Resim 4.11. Küçük büyültmede grup 4'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40).....	79
Resim 4.12. Büyük büyültmede grup 4'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100).....	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
kg	Kilogram
m	Metre
μ	Mikro
mg	Miligram
mm	Milimetre
°C	Santigrat derece
~	Yaklaşık değer
%	Yüzde

Kısaltmalar	Açıklamalar
a.	Arteria
aa.	Arteriol
AaAt	Antithrombin III kısmı
ACV	Acyclovir
ADC	Adenokarsinom
ALI	Akut akciğer hasarı
Ang	Angiopietin

Kısaltmalar**Açıklamalar**

APS	Astragalus polisakkarit
ARDS	Akut solunum sıkıntısı sendromu
ATP	Adenozin trifosfat
av.	Arteriyo-venöz
B3	Niasin
B6	Piroksidin
BCAA	Dallı amio asit zincirleri
bFGF	Bazik fibroblast büyüme faktörü
Cl	Klor
c-Met	Hepatosit büyüme faktörü reseptörü
COH	Kontrollü ovarian hiperstimulasyonu
Cu	Bakır
d	Gün
DAB	Diaminobenzedin
DNA	Deoksiribonükleik asit
E.Coli	Escherichia coli
ECFCs	Endotelial koloni formu hücreleri
ECM	Ekstraselüler matriks
EGCG	Epigallocatechin 3-gallate
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EGFR	Epidermal büyüme faktör reseptörü
EMF	Elektromanyetik alan
EPC	Endotelial progenitör hücreler
ER	Östrojen
FDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
Fe	Demir

Kısaltmalar**Açıklamalar**

FGF	Fibroblast büyüme faktörü
Flk-1/KDR	VEGFR-2
Flt-1	VEGFR-1
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GDP	Guanosin difosfat
GnRH	Gonadotropik serbestleştirici hormon
GSHPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
GTPaz	Guanozin trifosfataz
h	Saat
HCC	Hepatoselüler karsinom
H&E	Hematoksilen Eozin
HIF-1α	Hipoksi indüklü faktör 1 α
HMEC-1	İnsan mikrovasküler endothelial hücreleri
Hpbmnbc	İnsan periferel mononükleer kan hücre
HRE	Hipoksi responsive element
HTK	Histidin Triptofan Ketoglutarat
HUVEC	İnsan umbilikal ven endotelial hücreleri
H₂O	Su
H₂O₂	Hidrojen peroksit
Ig	İmmünoglobulin
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
IMC-IC 11	Imclone
IVF	In Vitro Fertilizasyon

Kısaltmalar**Açıklamalar**

K	Potasyum
KBP	Kallistatin ya da kallikrein bağlayan protein
kDa	Kilodalton
KDR	Kinaz insert domaini içeren reseptör
KoA	Kolin A
LH	Luteinize edici hormon
Lig.	Ligamentum
Mn	Manganez
MRKH	Mayer-Rokitansky-Kuster- Hauser
Na	Sodyum
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NHL	Non-Hodgkin lenfoma
NRP	Nörofilin
NSCLC	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
O₂	Oksijen
PA	Plazminojen aktivatör
PF 4	Platelet faktör 4
PAR	Proteaz aktiviteli reseptör
PBS	Phosphate Buffer Saline
PCAS	Post kardiyak arrest sendromu
PDGF	Platelet-kökenli büyüme faktörü
PEDF	Pigment epitelial hücre faktörü
PIGF	Plasental büyüme faktörü
SF/HGF	Scatter faktör/ Hepatosit büyüme faktörü
SH-SS	Tiol-Disülfid
SOD	Süperoksit dismutaz

Kısaltmalar**Açıklamalar**

str.	Stratum
sVEGFR	Soluble vasküler endotelial faktör reseptörü
TDF	Testis belirleyici faktör
TGF- β	Tümör büyüme faktörü β
TIMP	Metalloproteinaz doku inhibitörleri
TNBC	Üçlü negatif meme kanseri
TNF-α	Tümör nekrozis faktör
TSP	Thrombospoidin
UFI	Uterus faktörlü infertilite
UW	Wisconsin Üniversitesi
v.	Vena
VEGF	Vasküler endotelial faktör
VEGFR	Vasküler endotelial faktör reseptörü
VPF	Vasküler permeabilite faktörü
Zn	Çinko

1.GİRİŞ

Tedavisi olmayan hastalıklar sonucunda görevini yerine getiremeyecek şekilde hasar gören organların yerine, canlı ya da ölüden alınan sağlıklı organın nakledilmesine organ transplantasyonu denir [1].

Günümüzde birçok organ ve doku transplantasyonu yapılmaktadır. Karaciğer, böbrek, kornea, akciğer, kalp, kemik iliği, el/kol ve yüz nakilleri gerçekleştirilmektedir. Organ transplantasyonunda nakil sonrası doku reddini önlemek için kişiye immunosupresif tedaviler uygulanmaktadır [2].

In vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi sonucunda ilk bebek 1978 yılında doğmuştur. Son 30 yılda yardımcı üreme tekniklerinde önemli gelişmeler olmuştur. Çoğu infertil bireyler IVF/ICSI tedavisi ile bebek sahibi olmuştur. Ancak bazı durumlarda gelişen bu yöntemler de çare olamamaktadır.

Örneğin uterus faktörlü infertilite (UFI) durumlarında IVF tedavisi yeterli olamamaktadır. UFI nedenleri; arkuat uterus, septalı uterus, bikorni uterus, unikorni uterus, didelphic uterus, uterus hipoplazisi ve Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH/uterus agenesis/yokluğu) , leiomyoma, leiomyoma sonucu histerektomi, intrauterine adhezyonlar, peripartum histerektomisi ve servikal kanser sonucu oluşan histerektomidir [2-5].

Bu hastaların bir kısmında ovaryum fonksiyonları yeterlidir. Bu nedenle bazı ülkelerde ovaryum fonksiyonları yeterli ancak UFI'li kadınların bebek sahibi olabilmeleri için taşıyıcı annelik yasal olarak uygulanmaktadır. Buna karşın bazı ülkelerde bu uygulama etik bulunmadığı için kabul edilmemektedir [5-7] .

Uterus nakli, uterus faktörlü infertil kadınların kendi çocuklarına sahip olmalarını sağlayabilir.

1960'lı yıllardan beri fare, rat, koyun, köpek, domuz, baboon, rhesus macaque ve cynomolgus macaque üzerinde uterus transplantasyonu çalışmaları yapılmaktadır [3].

Dünyada bir insandan başka bir insana uterus nakli ilk kez 2000 yılının Nisan ayında Suudi Arabistan'da gerçekleştirilmiştir. Nakilden 99 gün sonra uterusu doku ölümü gerçekleşmiş ve çıkartılmıştır [8].

İnsana yapılan ikinci uterus transplantasyonu 2011 yılında Türkiye'de Akdeniz Üniversitesi Tıp fakültesinden gerçekleştirilmiştir. Dondurulmuş embriyolar nakledilmiş ve Nisan 2013'te gebelik gerçekleşmiştir. Fakat gestasyonun 5.haftasında abortusla sonuçlanmıştır [9,10].

Donörden alınan dokunun alıcıya nakledilene kadar; organın canlılığını ve metabolizmasını korumak, hücrede osmozisi engellemek ve nakilden sonra iskemi-reperfüzyon hasarını en az düzeye indirgeyerek en iyi organ fonksiyonunu sağlamak için kullanılan sıvılara organ koruma solüsyonları denir [11].

Euro-Collins Solüsyonu, Ross-Marshall Sitrat Solusyonu, Wisconsin Üniversitesi (UW) Solüsyonu, Celsior Solüsyonu ve Histidin Triptofan Ketoglutarat(HTK) Solüsyonu sık kullanılan organ koruma solüsyonlarındandır.

HTK solüsyonu, ilk olarak kardiyojenik bir solüsyon olarak geliştirilmiştir. Triptofan ve ketoglutarat amino asidinden oluşan kuvvetli bir tampondur. Ketoglutarat; anaerobik metabolizma için substrat olarak görev alır. Triptofan, organın korunması sırasında ketoglutarat ile birlikte membran dengeleyici olarak görev yapar. Sodyum, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonu ve vizkozitesi düşüktür. Elektrolit konsantrasyonu, hücre içi elektrolit konsantrasyonuna benzemektedir [12].

İnsan vücudunda serbest radikallerin oluşmasında ve olası etkilerinin önlenmesi arasında bir denge vardır. Bu denge bozulduğunda, ortaya çıkan biyokimyasal tepkimeler sonucunda hücre hasarı, apoptozis veya DNA fragmantasyonu gerçekleşebilir ve bunların sonucunda kanser hücrelerine dönüşüm görülebilir [13].

Hücrelerde oksidasyon sonucunda ortaya çıkacak olan serbest radikallerin oluşumunu engelleyen ve bunların meydana getireceği oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlara “antioksidan savunma sistemleri” veya “antioksidanlar” denir [14].

Karnitin ilk kez 1905 yılında Gulewitsch ve Krimberg isimli iki Rus bilim adamı tarafından hayvan kaslarından izole edilen bir bileşik olarak keşfedilmiştir ve 1927 yılında kimyasal yapısı belirlenmiştir. Bu keşiften sonra latince et anlamına gelen “carnis” ismi verilmiştir. Karnitin, amino asitlere benzeyen ancak hiçbir protein yapısına girmediği için gerçek bir amino asit olarak kabul edilmeyen vitamin benzeri bir amindir [15-17].

Karnitin suda çözünebilir yapıdadır. Bir asimetric karbona sahip olduğu için D ve L formuna sahiptir. L formu metabolik olarak aktif olduğu için hücrelerde sadece bu hali sentez edilir. D formu sadece kimyasal olarak elde edilir [15-17].

Asetil-L-karnitin, L-karnitinin kısa zincirli ester türevlerinden biri olup vücutta en fazla bulunan açilkarnitin türüdür. Asetil-L-karnitin, L-karnitinin fizyolojik özelliklerini taşır. Ayrıca asetil grubu içermesi nedeniyle yüksek enerji metabolizması sırasında önemli bir asetil grubu vericisi olarak görev almaktadır. Mitokondriyal işlevlerde önemli bir rol üstlenir [18].

Asetil-L-karnitin oluşumu sitoplazmik tiokinaz enzimi ile başlar. Tiokinaz enzimi yağ asitleri, ATP ve KoA kullanılarak açıl KoA sentezler. Açıl KoA, karnitin ile karnitin palmitoil transferaz-I yoluyla birleşerek açıl karnitin oluşturur. Bu bileşik, mitokondriyal matrikse karnitin-açilkarnitin translokaz sistemiyle taşınır. İç mitokondriyal membrandan geçen her açıl karnitin molekülü için bir karnitin dışarı atılır. İç mitokondriyal membrandaki karnitin palmitoil transferaz-II, açıl karnitini karnitine çevirerek açıl KoA'yı serbest bırakır. Son olarak, mitokondriyal matrikste bulunan karnitin asetil transferaz enzimi, karnitin ve asetil KoA'dan Asetil-L-karnitin ve KoA üretir. Asetil-L-karnitin, yağ asidi oksidasyonu sırasında asetil KoA'nın mitokondriye girişini hızlandırır. Beyin de asetilkolin sentezine katkıda bulunur. Protein ve fosfolipid sentezini uyarır [19,20].

Angiogenez, hem embriyo hem de yetişkinlerde gözlenen, önceden var olan bir damardan başlayan bir süreçtir. Neovaskülarizasyon olarak da adlandırılır. Angiogenez; fizyolojik ve tümör angiogenezi olmak üzere iki çeşittir. Angiogenezin gerçekleşmesinde; büyüme faktörleri, sitokinler ve bunların reseptörleri görev alır. Yetişkinlerde angiogenez, uterusun menstruel siklusu, plasenta büyümesi, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, kollateral dolaşımın gelişmesi ve yangısal yanıtlarda ortaya çıkar [21].

Angiogenez; bazal membran ve ekstraselüler matriks (ECM)'in proteolitik enzimlerle yıkılması, endotel migrasyonu, endotel proliferasyonu, lümen oluşumu, maturasyon, angiogenezin inhibisyonu basamaklarından geçerek gerçekleşir [21-24].

Fizyolojik ve tümöral angiogenezi birbirinden farklıdır. Fizyolojik angiogenez gelişmekte olan fetüste başlar, doğumdan sonra yetişkin dokularındaki kan damarlarını oluşturacak şekilde devam eder. Fizyolojik angiogenez ile oluşmuş bir kapillerde lümen başına 1-2 endotel hücresi bulunur. Normal kan damarları birbirinden düzenli ve belirli aralıklarla ayrılmıştır. Normal dokularda arter, arteriol, kapiller, postkapiller venül ve ven şeklinde bir düzenlenme vardır [22,23].

Tümör angiogenezi hipoksi sonucunda oluşmaktadır. Tümör büyüdükçe tekrar hipoksi olur ve angiogenez uyarılır. Tümör kapillerlerinde lümen başına daha fazla endotel hücresi düşmektedir. Düzensiz şekilde dağılır ve dallanırlar ve arteriyo-venöz (AV) şantlar görülür. Angiogenik aktive heterojendir. Değişken ve farklı şekilde fenestrasyon gösterirler. Plasma ve plasma proteinlerine geçirgendirler [22,23].

Deride deride geçirgenliğini arttıran tümör vasküler permeabilite faktörünü (VPF) Senger ve arkadaşları 1983 yılında keşfetmişlerdir. 1989 yılında Ferrara ve Henzel endotel hücre mitojeni olarak tanımladıkları faktörü VEGF olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda bu iki faktörün aynı olduğu bulunmuştur [24].

İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21,3 üzerinde yerleşmiş, 45-46 KD büyüklüğünde, glikoprotein yapısında heparin bağlayan büyüme faktörüdür. Kodlayıcı bölge ~14 kb'lık bir alan kaplamaktadır ve 8 exon'dan oluşmaktadır. Tek bir pre-mRNA'nın alternatif birleştirilmesi çok sayıda farklı VEGF türünü oluşturur. VEGF, platelet-kökenli büyüme faktörü (PDGF) ailesine mensuptur [23,24].

VEGF, ovulasyondan önce ovaryum foliküllerinden, ovulasyondan sonra korpus luteumdan salgılanır. İmplantasyonun erken dönemlerinde trofoblastlar tarafından VEGF salgılanır. Yapılan çalışmalarda yetişkin bireyde VEGF, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde, akciğer alveolar hücrelerinde, hepatositlerde ve beyinde gösterilmiştir [25-27].

VEGF angiogenezde; nitrik oksit salınımını indükleyerek damar permeabilitesini artırır, bazal membran ve matriks yıkımını artırır ve angiopoietinler sayesinde endotel hücrelerinin farklılaşmasında ve maturasyonunda rol oynar [23].

Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ailesi ilk olarak 1980'lerde bulunmuştur. Bu aile; VEGF-A (Human-VEGF) , VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, yılan zehiri VEGF'si (svVEGF, VEGF-F) ve Plasental büyüme faktörü (PIGF) olmak üzere yedi üyeden oluşmaktadır [23,24,27-32].

VEGF ailesi üyeleri; vücutta angiogenez, vaskülogenez ve kemotaksi gibi fizyolojik kanser, neovasküler hastalıklar ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi patolojik olaylarda rol oynarlar [23-28,36].

VEGF'ler endotel hücrelerinde kendilerine özgün reseptörlere bağlandıkları zaman etki gösterirler. VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 olmak üzere 5 tane reseptör bulunmaktadır [24,27,28].

VEGFR-1(flt-1) ve VEGFR-2 (flk-1,KDR) ilk bulunan VEGF reseptörleridir. Hücre içinde kalan tirozin kinaz etkinlik alanı ve hücre dışı ligand bağlama bölgeleri içeren 7 adet immünoglobülin benzeri bölüm olmak üzere iki bölümden oluşur. sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 ise hücre dışında bulunan 6 immünoglobulin benzeri domainden oluşmaktadır. Bu reseptörler kanda serbest olarak dolaşabilmektedirler [28,29,36].

VEGFR-2 geni, kromozomun 4q11-q12 bölgesinde bulunmaktadır. VEGFR-2 (kinaz-insertdomaini-içeren reseptör; KDR) 230 kDa'luk yüksek affiniteli bir VEGF reseptörüdür. VEGFR-2 yaklaşık 1433 amino asitten oluşur. Bu reseptörler; hücre içinde kalan bir tirozin kinaz domaini ve hücre dışında kalan ligand bağlama bölgeleri içeren 7 adet immünoglobulin (Ig) benzeri domain ve membran katedici bir bölge olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. VEGFR-2, fare fetal karaciğer kinazı-I (flk-1) ile %85 oranında ortak bir sekans kimliğine sahiptir [24,34,35].

VEGFR-2'ye, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve svVEGF bağlanarak etki gösterirler [24,27,28].

VEGFR-2; angiogenez, endotel hücrelerinin kemotaksisi, proliferasyonu ve migrasyonunda görevlidirler [27,28,35-37].

Bu çalışmanın amacı; farklı soğuk depolama periyodlarında HTK+Asetil-L-Karnitin solüsyonunda bekletilen donör uteruslarda histolojik değişimleri ve VEGF reseptörlerinden VEGFR-2'nin immünohistokimyasal dağılımlarını araştırmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti, genetik olarak fertilizasyon sırasında belirlenir. Embriyonun erkek ve dişi yapısal özellikleri ise, embriyonik gelişimin 7. haftasında belirginleşmeye başlar. 7. haftadan önceki daha erken dönemde her iki cinsiyette birbirine benzer. Bu yüzden genital sistem gelişiminin bu evresine “seksüel gelişimin farklanmamış evresi” denmektedir [38].

Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu gereklidir. Ancak bu kromozomun yalnızca kısa kolu seks tayini için son derece önemlidir. Testis belirleyici faktör (TDF) için gerekli olan SRY geninin, Y kromozomuna cinsiyet belirleyici bölgesinde yerleştiği saptanmıştır. Dişi fenotipinin gelişmesi için iki X kromozomuna gerek vardır. X kromozomunda yer alan bir seri gen ve bölgenin seksin belirlenmesinde özel rolleri bulunmaktadır [39].

Primitif gonadın ovaryuma dönüşebilmesi için bazı genler gereklidir. Dişilerin cinsiyet için gerekli olan WNT-4 sinyal molekülü gestasyonun erken evrelerinde gonadal sırtta eksprese edilir ve bir over belirleyici gendir. Fakat erkeklerde bu faktör baskılanır. WNT-4, X kromozomunun kısa kolunda bulunan DAX1'i uyarıp erkeklerdeki SOX9 ekspresyonunu inhibe ederek SF1 ve diğer genlerin aktivitesini düzenler. Böylece Sertoli ve Leydig hücrelerinin oluşumu engellenir. WNT4, DAX 1 ile birlikte diğer genleri (TAFII 105) de uyatarak over diferensiyasyonu tamamlanır. Wnt-4 mutasyonlu erkeklerde gelişim normal olarak gözlenir. Fakat Wnt-4 mutasyonlu dişilerde erkek özellikleri gözlenir [39].

5.-6. haftalarda genital sistem farklanmamış evrededir. Dişi ve erkek embriyoların her ikisi de başlangıçta mezonefrik kanal (Wolffian kanalı) ve paramezonefrik kanal (Müller kanalı) olmak üzere iki çift genital kanala sahiptir. Mezonefrik kanal erkek üreme sisteminin gelişmesinde, Paramezonefrik kanal ise dişi üreme sisteminin gelişmesinde rol oynamaktadır [38-40].

XY kromozomu içeren erkek embriyolarda testis yönünde farklı gonadlarda bulunan Leydig hücreleri tarafından sentezlenen testosteron dişi embriyolarda bulunmaz ve mezonefrik kanallar geriler. XX kromozomu taşıyan dişi embriyolarda, Sertoli hücreleri

bulunmadığı için “ Müller Baskılayıcı Madde “ salgılanmaz. Bu yüzden paramezonefrik kanallar gelişir ve ileri farklanır [38,39].

Erkek cinsiyet gelişiminin uyarılabilmesi için testosteron gereklidir. Dişi cinsiyet gelişimi hormonlara bağlı değildir. Overlerin yokluğunda bile, dişilik oluşmaktadır. Paramezonefrik kanal 6. hafta sonunda, ürogenital sırtın anterolateral yüzeyindeki epitelin uzunlamasına bir invaginasyonu şeklinde ortaya çıkar. İnvaginasyonların kenarları birbiriyle kaynaşır ve paramezonefrik kanallar meydana gelirler. Kanal, karın boşluğuna kranial ucundan huni benzeri bir yapıyla açılır [38,39].

Paramezonefrik kanallar, embriyonun gelecekteki pelvik bölgesine ulaşana kadar, mezonefrik kanallara paralel olarak, kaudal yönde seyrederek. Pelvik bölgeye ulaştıklarında, mezonefrik duktusları ventralde çaprazladıktan sonra kaudomedial yönde büyümeye devam eder. Orta hatta, karşı tarafın paramezonefrik kanalıyla birleşirler ve Y şekilli, uterovaginal primordium'u oluştururlar. Paramezonefrik kanallar başlangıçta bir septum ile ayrılmıştır. Daha sonra birleşerek uterus kanalını oluştururlar. Birleşen kanalların kaudal ucu, ürogenital sinusun arka duvarına doğru ilerleyerek paramezonefrik (müllerian) tüberkül denen küçük bir şişlik oluştururlar. Mezonefrik kanallar, ürogenital sinusa müllerian tüberkülünün iki yanından açılırlar [39-41].

Paramezonefrik kanal 3 kısımdır:

1-Karın boşluğuna açılan kranial vertikal parça

2- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal parça

3- Karşı taraftan gelen eşiyle birleşen kaudal vertikal parça [38,39].

Ovaryumların aşağı inmesiyle kaudal vertikal parça ve horizontal parçadan tuba uterinalar (fallop tüpleri) gelişir. Bunların kaudal bölümleri de kaynaşarak uterus kanalını ve vajinanın 2/3'lük üst bölümünü oluştururlar. Ürogenital sinus da vajinanın 1/3'lük alt bölümünü oluşturur. Paramezonefrik kanalların ikinci kısımlarının mediokaudal yönde yer değiştirmesi sonucunda ürogenital sırtlar giderek daha transvers bir düzleme otururlar. Kanallar orta hatta birleştikten sonra, pelvis içinde kalın transvers kıvrım oluşur. Birleşmiş paramezonefrik

kanalların lateralinden, pelvis duvarına kadar uzanan bu kıvrıma uterusun sınırlayıcı (broad) ligamenti denir. Bu ligamentin üst kısmında tuba uterinalar, arka yüzünde de ovaryumlar bulunur. Uterus ve sınırlayıcı ligamentler; pelvisi, ürorektal ve uterovesikal boşluk (poş) olarak ikiye böler [38,39].

Kaynaşan paramezonefrik kanallardan uterusun korusu ve serviksi gelişir. Bunların etrafı, kas katmanı miyometrium ve peritoneal örtüsü perimetriumu meydana getiren bir mezenşim tabakası ile sarılmıştır [38,39].

Paramezonefrik kanalların kranial vertikal parçalarının açık üst uçları tuba uterinaların fimbriyalarını oluşturur. Bu parçadan ayrıca tuba uterinaların infundibulum ve ampulla kısımları oluşur. Horizontal parça isthmusu oluşturur [38,39].

Tuba uterinalar başlangıçta vertikal yerleşim gösterirler. Uterusun gelişimi sırasında karın boşluğunun iç kısmına doğru hareket ederek horizontal olarak yerleşirler. Tuba uterinalar intrauterin gelişimin 16.-20.haftaları arasında belirginleşirken 4. ve 5. aylarda belirgin olarak büyürler. Tüplerin boyu uzar, mukoza ve kas katmanı farklanır. Fimbriyalar gelişirken infundibulum, isthmus ve ampulla bölgeleri belirginleşir [39].

Paramezonefrik kanalların uzunlukları boyunca ya da herhangi bir bölgesinde kaynaşamamaları sonucunda uterus duplikasyonları oluşur. Uterus didelfis en şiddetlisidir. Bu durumda iki uterus vardır. Uterus arkuatus ise en hafifi ve en sık görülen durumdur. Uterus arkuatus durumunda, uterus korusunun ortasından lümen içine doğru hafif bir çıkıntı bulunur. Sık görülen uterus anomalilerinden biri olan uterus bikorniste ise uterus ortak bir vajinaya iki boynuz şeklinde açılır [39].

Paramezonefrik kanallar son halini alırken bazı kısımları kalıntı yapılar olarak kalabilir. Kranial ucunun bir kısmı, infundibulumun oluşumuna katılmaz ve Morgagni hidatiği adı verilen yapı olarak kalır [38,39].

Mezonefrik kanalın kranial ucu, appendiks vesiküloza adı verilen bir yapı olarak kalıcı olabilir [38,39].

Epoophoron, birkaç kör sonlanan tübül ve kanaldan oluşur. Ovaryum ve tuba uterina arasındaki mezovaryum içerisinde kalır. Paraophoron, uterusu yakın yerleşimli bazı artık tübüllerin oluşturduğu yapılardır [38,39].

Mezonefrik kanalın, duktus deferens ve ejakulatuar kanala karşılık gelen bazı bölümleri, vajina duvarı içerisinde ya da uterusun yan duvarları boyunca kalın ligament katmanları arasında Gartner kanalı olarak kalıcı olabilir. Bu kanal kalıntılarından Gartner kisti oluşabilir [38,39].

2.2. Uterus Anatomisi

Uterus, pelvis minörün ortasına yerleşmiş rectumun önünde, vesika urinarianın arkasında ve vaginanın üstünde bulunan, kalın duvarlı, muskular, ters armut şeklinde, içi boş bir organdır. Üstten ince bağırsak ile komşudur. Uterusun üst kısmı tuba uterina, pelvis içindeki bölümü vagina ile devam eder. Uterus önden ve arkadan basıktır [42-50].

Hiç doğum yapmamış bir kadınla (nullipara) doğum yapmış bir kadının (primipara veya multipara) uterusunun boyutları farklıdır. Hamilelik döneminde uterusun hacmi, şekli ve pozisyonu değişir. Doğumdan sonra eski haline dönse bile uterusun boyutları biraz büyük kalır. Doğum yapmamış bir kadında uterusun boyu 6-7 cm, eni korpus uteride 4 cm, cervix uteride ise 2,5 cm'dir. Ön-arka kalınlığı 2,5-3 cm, ağırlığı 40-45 gr'dır. Doğum yapmış bir kadında ise uterusun boyu 8cm, eni korpus uteride 5cm, serviks uteride 3cm, kalınlığı 3-3,5 cm ve ağırlığı 55-65 gr'dır. Ancak menopoza sonrasında uterus tekrar küçülerek doğum yapmamış kadın uterusu boyutlarına geriler ve hatta daha da küçülebilir. Bu olay menopoza döneminde dişi cinsiyet hormonlarının yetersizliği ile açıklanabilir [42-50].

Kadınların çoğunda uterusun uzun eksenini ile vaginanın uzun eksenini arasında, açıklığı öne bakan 90 derecelik bir açı oluşur. Bu konum anteversio uteri olarak adlandırılır. Ayrıca korpus uterinin uzun eksenini ile isthmus uteri bölümünde, açıklığı öne bakan serviksin uzun eksenini ile 100-170 derecelik bir açı oluşturur. Bu konumda antefleksio uteri olarak tanımlanır [42,45].

Uterusun korpus uteri ve serviks uteri olarak iki bölümü bulunur. Bazı anatomistler bu iki kısım arasında isthmus uteri denilen bir bölümü de tanımlarlar. Organın dış yüzünden pek

ayırt edilemeyen isthmus uteri, iç yuzde canalis servikalis ve kavitas uterinin birleşim yerine uyar [42-50].

Korpus uteri, uterusun daha geniş olan üst bölümüdür. Serviks uteri ise, ince ve dar bölüm olup vaginaya acılır. Uterusun bu şekilde olması doğumda önemlidir. Fötüsün gelişimi korpus uteride olur ve bu evrede serviks uteri kapalıdır. Böylece fötüsün düşmesi engellenir. Serviks uteri doğum olayı başladığında açılır [42-50].

2.2.1. Korpus uteri (Corpus uteri)

Uterusun 2/3'lük üst kısmını oluşturan tabanı yukarıda tepesi aşağıda bir üçgene benzeyen geniş bölümüdür. Korpus uteri önden arkaya basıktır. İki yüzü, üç kenarı ve üç köşesi vardır. Tuba uterinaların uterusu bağlandığı yere kornu uteri denir. Kornu uterilerin üst kısmında kalan korpus uteri kısmına fundus uteri denir. Fundus uterinin yüzeyi tamamen peritonla çevrilidir ve incebağırsak kıvrımları ve kolon sigmoideum ile komşudur. Korpus uteri aşağı doğru indikçe daralır ve alt kısımda serviks uteri ile birleşir [42,45,48-50].

Korpus uterinin içindeki yaklaşık 6cm uzunluğundaki boşluğa kavitas uteri denir. Uterus duvarının kalın olması nedeniyle organın büyüklüğüne oranla daha küçük bir boşluktur. Kavitas uterinin ön ve arka duvarları sürekli birbirleri ile değindikleri için sagittal kesitlerde bir yarık, koronal kesitlerde ise üçgen şeklinde görülür. Üçgenin tepe kısmı kavitas uteriyi, kanalis servisis uteriye bağlar [44,49,50].

Korpus uterinin fasies anterior (vesicalis) ve fasies posterior (intestinalis) olmak üzere iki yüzü bulunur.

Fasies anterior (facies vesicalis): Uterusun ön yüzü yassı olup vesica urinarianın üst yüzü ile komşuluk yapar. Korpus uteriyi örten periton, mesanenin üst yüzünden atlayarak ekskavasio vesikouterina adı verilen çıkmazı yapar. Bu çıkmaz genelde boştur ancak bazen ince bağırsaklar tarafından doldurulabilir [42,45,48,49].

Fasies posterior (facies intestinalis): Organın arka üst yüzü olup daha konveks ve geniştir. Korpus uterinin bu yüzü rektuma bakar. Ancak rektum ile arasında incebağırsaklar ve kolon sigmoideum bulunmaktadır. Fasies intestinalisi örten periton arkaya ve aşağıya uzanıp

vaginanın üst kısmını örtüp sonra rektuma atlar. Peritonun uterusun alt ve vaginanın üst arka kısmı ile rektum arasında oluşturduğu çıkmaza ekskavasio rektouterina (Douglas çıkmazı), bu çıkmazı oluşturan kıvrıma plica rectouterina (Douglas plikası) adı verilir. Uterusun yan kenarlarını Margo uteri dekster ve margo uteri sinister oluşturur. Uterusu örten ligamentum latum uteri ile birleşerek dış tarafa doğru uzanır. Bu kenarların üst kenarla birleştiği yerde birer boynuzumsu çıkıntı vardır. Bu çıkıntılara kornu uteri dekster ve kornu uteri sinister adı verilir. Tuba uterinalar bu çıkıntılara ligamentum teres uteri'ler ile tutunur. Korpus uterinin yan kenarlarında arteria uterina ve vena uterina yer alır [42,45,48,49].

2.2.2. Serviks uteri (Cervix uteri)

Uterusun korpus uteri'ye göre daha dar ve daha yuvarlak olan 1/3'lük alt kısmıdır. Serviks uteri önden arkaya doğru basılmış bir silindire benzer. Korpus uteri'den daha az hareketlidir. Mesane ve rektum arasında yer alır. Uzunluğu yaklaşık 2,5cm'dir. Serviks uteri'deki kas dokusunun yoğunluğu korpus uteri'dekine göre oldukça azdır. Servix daha çok fibröz yapıda olup az miktarda düz kas lifleri ile elastinden ama esas olarak da kollajenden oluşmuştur [42,44,49].

Servix uteri'nin içinde, yukarıda canalis uteri, aşağıda vagina ile devamlı bir kanal vardır. Bu kanala canalis serviks uteri denir. Kanalin vaginaya açılan ağzına ostium uteri adı verilir. Bu kanalın mukozasında plika palmate denilen küçük eğik plikalar bulunur. Bu plikalar lateralden ağaç dalları şeklinde gözlendiği için arbor vitae uteri olarak isimlendirilir. Serviks uteri'nin alt kısmı vaginanın içine doğru uzanmıştır. Bu yüzden serviks uterinin vagina içindeki kısmına portio vaginalis servisis (exocervix), vaginanın üstündeki kısmına supravaginalis servisis (endocervix) denir [42,44,49].

Portio supravaginalis servisis (cervix): Serviks uteri'nin vagina'nın üstünde kalan 2/3'lük üst kısmıdır. Ön ve arka olmak üzere iki yüzü ve iki yan kenarı vardır. Önde lig.latum uteri'nin yaprakları arasında yer alan ve parametium adı verilen bağ dokusu ile vesica urinaria'dan ayrılır. Bu yüzde periton bulunmamaktadır. Parametrium adı verilen bağ dokusu yapısının içinde a. uterina üreter'i çaprazlayarak serviks uterinin 2cm ön tarafına kadar uzanır [42,45,48-50].

Serviks uteri'nin arka yüzüne musculus rektouterinus adı verilen kas lifleri tutunur. Bu kas lifleri arka ve dış yan tarafa doğru rektum ve sakruma uzanır ve burada sonlanır. Bu kasların üstünü örten periton sağ ve solda iki katlantı yapar. Plika rektouterina adı verilen bu katlantılar arasında ekskavasio rektouterina (Douglas çıkmazı) bulunur. Yan kenarlar ise yaklaşık 1,5cm uzağındaki üreterler ile komşuluk yapar [42,45,49].

Porsio vaginalis servisis: Serviks uterinin vagina içinde kalan 1/3'lük bölümünü oluşturur. Porsio vaginalisin tam ortasında ostium uteri denilen delik bulunur. Bu delik kanalis servisis uteri'nin vagina'ya açıldığı deliktir. Vaginanın arka duvarına doğru bakan bu delik hiç doğum yapmayan kadınlarda küçük ve yuvarlak, doğum yapanlarda ise enine bir yarık şeklindedir. Ostium uteri, labium anterius ve labium posterius denilen iki dudak ile sınırlıdır. Porsio vaginalis ile vaginanın üst duvarı arasında daire şeklinde bir çıkmaz bulunur. Bu çıkmaza fornix vagina adı verilir [42,45,49].

Pelvis minor içerisinde bulunan uterus, herhangi bir kemik oluşumuna dayanmaz. Bu nedenle konumunu kolayca değiştirebilir. Uterus'un normal konumu anteversio ve antefleksio durumundadır. Ön ve alt kısmında yerleşmiş olan mesane üzerine yaslanır. Uterusun özellikle serviks uteri bölümünde bulunan bağ ve kas lifleri pelvis duvarlarına, sakrum, rektum, diaphragma urogenitale ve diaphragma pelvise tutunmuştur. Uterus bir grup bağlar ile çevresindeki organ ve kemiklere bağlanır. Uterusu taşıyan en önemli yapılar m. levator ani, ligamentum transversum serviks, ligamentum puboservikale ve ligamentum sakroservikalistir [42].

Musculus (M.) levator ani: Pelvis çıkımının büyük bölümünü örttüğünden uterusun konumunu koruyan en önemli yapıdır. M.levator ani kasıldığında artmış karın içi basınca karşı koyar. M.levator aninin parçasını oluşturan kas lifleri, bu kası örten fasia aracılığı ile serviks uteriye tutunur. Böylece uterusun aşağıya doğru yer değiştirmesini önlemiş olur [42].

Ligamentum (Lig.) transversum serviks (lig.cardinale, Mackenrodt bağı): Vaginanın üst ve serviks uterinin alt kısımlarından bu yapıları önden ve arkadan sararak vagina ve serviks uterinin yan bölümlerinde bir araya gelerek pelvis yan duvarlarına doğru uzanırlar. Böylece pelvis döşemesi içinde bir yelpaze gibi uzanan bağ dokusu lifleri pelvis yan duvarlarına tutunur. Lig.transversum serviks içindeki uterusu ait damarlar ile birlikte serviks desteklenir.

Özellikle retroversio uteri konumunda lig.transversum servikslerin tutucu etkileri daha belirginleşir. Lig.transversum serviksin ön tarafa uzanan lifleri lig.pubovesikale, arka tarafa uzanan lifleri ise lig.sakroservikale ile devam eder. Lig.transversum serviks içinde a.vaginalis bulunur [42,48-50].

Lig. puboservikale: Pubisin arka yüzünü serviks uteriye bağlayan şerit şeklindeki bağlardır. Bu bağ mesanenin yanından geçerken mesaneye de tutunur. Bu liflere lig.pubovesikale adı verilir [42].

Lig. sakrovesikale: Serviks uteriye sakruma bağlar. Lig. transversum serviksin arka bölümünden meydana gelir. Lig. Sakrovesikalenin içinde m.rektouterinus denilen düz kas lifleri vardır. Bu bağ, ekskavasio rektouterinaların yanlarındaki sınırları plika rektouterinaları meydana getirir [42].

Lig. latum uteri : uterusun üst ve alt yüzlerini örten peritoneum, uterusun yan taraflarında birleşir ve pelvisin yan duvarına uzanarak buradaki periton ile devam eder. Bu bağ uterusun pelvis'in yan duvarlarına tutunmasını sağlar. Uterusun en geniş bağı olan lig.latum uteri, ovarium, tuba uterina, uterus ile mesane ve rektum arasında enine konumlanır [42,45,48-50].

Lig. Latum uteri'nin iki yüzü dört kenarı vardır. Üst kenarının tuba uterinaları sardığı kısmına mesosalpinks denir. Dış yan kenarlarının üst tarafı ovaryuma yakın olup mesovariumu oluştururken, alt tarafı pelvis yan duvarındaki peritoneum ile devam eder. Uterusa yakın bu kısmına da mesometrium adı verilir. Lig.latum uteri'nin geniş taban kısmıdır. Mesometrium içinde gevşek bağ dokusu, uterus'a ait damarlar ve sinirler geçer. Damarlardan en önemlisi arteria uterina'dır. Lig. latum uterinin serviks uteride tabandan başlayıp ışınsal şekilde dağılır. Pelvis duvarına tutunan bu liflere de lig. kardinale uteri (mackenrodt bağları) denir. Lig.latum uteri'nin uterusu yakın olan kısımlarında, iki yaprağı arasında yer alan bağ dokusuna parametrium denir. Parametriumu oluşturan liflerin ön, yan ve arkaya uzanması sonucu uterusu taşıyan önemli bağlardan lig.transversum servisis, lig. puboservikale ve lig. sakroservikale şekillenir. Bu oluşumlar uterusun tutucu bağlarındandır. Lig. latum uterinin, uterusun yan taraflarına tutunan kısmı uterusu her iki taraftan destekleyip korur [42,45,48-50].

Lig. latum uteri içerisindeki değişik yapı ve oluşumlar bulunur. Bunlar; tuba uterina, r. tubarius, ovarium, lig. ovarii proprium, lig. teres uteri, epoophoron ve paraophoron, ureter, uterusun damar ve sinirleri ile ovariumun damarları ve dallarıdır [42,45,48-50].

Lig. teres uteri: Tuba uterinin ön-alt kısmında, lig. latum uterinin iki yaprağı arasında yaklaşık 14-15cm uzunluğunda, 3-5mm kalınlığında bir bağıdır. Uterusun dış köşesinden öne ve dışa doğru uzanır. Lig. teres uteri aa. vesicales, a.v. obturatoria, n. obturatorius, a. umbilicalis ile a.v. iliaca eksternayı çaprazlar. Lig. teres uteri, anulus inguinalis profundustan girer; kanalis inguinalisten geçtikten sonra labium majustaki bağ dokusuna karışarak sonlanır. Bu ligamentin uterusu yakın olan kısmı çok sayıda düz kas lifi içerir. Terminal kısmı ise bağ dokusu yapısındadır. İçerisinde elastik lifler bulunduğu için bu bağ esnek yapıdadır. Ancak çok gevşediğinde uterus normal konumunu bozabilir. Fötal yaşamda lig. teres uteri canalis inguinalis içine peritoneumu sürükleyerek girer. Nuck kanalı denilen ve tüp şeklinde olab bu peritoneum parçası erişkinlerde kapanır. Erkeklerde processus vaginalisin karşılığı olan bu kanal bazen kapanmaz ve açık kalabilir. Lig. teres uteri, uterusun yerinde tutulmasında önemli asıcı bir bağ olmayıp uterusun antroversio pozisyonunu korur [42,45,48,49].

Lig. sakrouterina (Lig. uterosakralis, lig. rektouterinum): Serviks uteriye arkaya yani sakruma sabitler. Serviks uterinin arka yüzü ve yan kenarlarından başlayarak arkada önce rektumun ön ve arka yüzlerini sararak sakrumun ön yüzüne peritoneum perietale ile birleşir. Bağın iç yan kısmında musculus rektouterinus denilen düz kas lifleri vardır. Bu liflerin peritoneumda oluşturduğu kabarıklığa plika rektouterina denir. Önde uterusun arka yüzü, arkada rektumun ön yüzü ve yanlarda plika rektouterinalar arasında kalan periton çukurluğuna ekskavasio rektouterina (Douglas Çukuru) adı verilir. Ekskavasio rektouterina, kavum peritonei'nin en alt kısmını yapar [42,45,49].

Lig. ovarii proprium: Lig. latum uterinin arka katlantısını oluşturur. Uterusun yan köşelerinin alt ve arkasından başlayıp, dış yan ve arkaya uzanarak ovariumun alt ucuna tutunur. Uzunluğu yaklaşık 2,5-3cm olup kalınlığı ise 2-4 mm kadardır. Uterusun asıcı bağlarındandır [42,49].

Uterusun Damarlanması

Uterusu besleyen arteria (a.) uterina a.iliaca interna'nın bir yan dalıdır. A.uterina üstte a.ovarika, altta a.vaginalis ile anastomoz yapar. Her iki a. uterina orta çizgi hizasında çaprazlaşan küçük dallar ile anastomoz oluşturur. A.uterinanın dalları lig.latum uteri içinde kıvrımlar yaparak yükselir ve uterus içinde yeniden alt dallara ayrılır. A.uterinanın uterus duvarına giren dalları da aa.arkuata anterior ve aa.arkuata posterior olarak gruplara ayrılır. Bu dallar dairesel olarak myometriuma ilerler ve karşı taraftan gelen dallar ile anastomoz yapar [45,48-50] .

Diğer damarlardan ayrı olarak a.uterina gebelikte hipertrofiye uğrar. Gebelik sırasında uterus genişledikçe kıvrıntılı olan damarlar düzleşir [48,49].

A.uterina'nın uterus duvarına giren dalları miyometriyum tabakalarını besleyen ve endometriyuma kadar uzanan dallar verir. Bu dalların spiral dalları (aa.spirales ve rami hellisini) mukozaya geçer ve morfolojik olarak endometrial siklustan etkilenir. Siklusun proliferasyon fazında spiral arterioller (rami hellicin) daha az belirgindir. Sekresyon fazında uzunlukları ve çapları artar [48,49].

Uterusun venleri arterler ile birlikte seyreder ve aynı isimleri alır. Fakat venler uterus duvarında daha çok görülür. Vagina çevresinde bulunan venler ağzlaşarak pleksus venosus vaginalis'i, uterus çevresinde bulunan venler ağzlaşarak serviks uterinin yan tarafında pleksus venosus uterinus adı verilen ven pleksus'larını yaparlar. Bu pleksuslar vena uterina ve v.iliaca internaya açılır [45,48-50].

Lenfatik damarları ise üç ana yol izler:

-Fundus bölgesinden gelen çoğu lenf damarları nodi lumbalese, bazıları ise nodi iliaki eksterniye ya da lig. teres uteriye izleyerek nodi inguinales superfisialeye açılır.

– Korpus uteriden gelen lenf damarları lig. latum uteri içerisinde nodi iliaki eksterniye açılır.

-Serviks uteriden gelen lenf damarları nodi iliaki interni ve nodi sakralese dökülür [45,48-50].

Uterusun Sinirleri

Uterusun sinirleri plexus uterovaginalisten ve plexus pelvikustan gelir. Plexus uterovaginalis, plexus hypogastrikus inferior'dan çıkıp pelvis içindeki organlara uzanan plexuslardan biridir. Bu plexuslar serviks uteri'nin supravaginal parçasının yan taraflarında ve lig.latum uterinin tabanında bulunur. Sempatik, parasempatik ve visseral afferent lifler içerir. Uterusa gelen preganglionik sempatik lifler medulla spinalisin T12-L1 segmentlerinden, parasempatik lifler ise plexus pelvikus aracılığıyla S2-4 spinal segmentlerinden gelişir [45,48-50].

2.3. Uterus Histolojisi

Uterus kadın genital organlarının içinde en kalın olanıdır, kalınlığı gebelikle beraber değişir.

Histolojik olarak dıştan içe üç tabakadan oluşmaktadır:

- Perimetrium (Tunika seroza)
- Miyometriyum (Tunika muskularis)
- Endometriyum (Tunika mukoza) [42-57].

2.3.1. Perimetrium

Perimetrium, peritonun visseral yaprağıdır. İnce gevşek bağ dokusu üzerine yerleşmiş olan tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Subseröz gevşek bağ dokusu fundus uteri gibi uterusun bazı bölgelerinde bulunmayabilir. Bu bölgelerde perimetrium uterus duvarına sıkıca tutunmuştur. Peritonun olmadığı bölgelerde perimetrium tunika adventisya adını alır [50,51].

2.3.2. Miyometriyum

Uterusun en kalın katmanıdır. Bağ dokusu bölmeleriyle ayrılmış düz kas lifi demetlerinden oluşmuştur. Bu düz kas demetleri dört kat oluştururlar.

İç kas katı, mukozanın hemen altında yer alan çok ince uzunlamasına kas katıdır.

Orta damarlı kas katı, enlemesine düz kas demetleri içerir. Bu demetlerin arasında bağ dokusunda büyük kan damarları özellikle venler bulunur.

Orta dış kas katı, uzunlamasına ve enlemesine uzanan düz kaslar yer almaktadır.

Dış kas katı, uzunlamasına uzanan düz kaslardan oluşmaktadır [21,50-52].

Serviks ve isthmusta enlemesine uzanan düz kas katı çok iyi gelişmiştir. Miyometriyum kas demetleri kan damarları içeren gevşek bağ dokusu ile sarıdır. Bu bağ dokusu kollagen ve elastik liflerden zengindir. Fibroblast, histiyosit, makrofaj ve mast hücreleri içerir [50].

Uterus düz kas dokusu hücrelerinde gebelik sırasında hiperplazi ve hipertrofi görülür. Kas hücreleri büyürler ve ayrıca yeni kas hücreleri oluşur. Gebelikle beraber artan östrojen seviyesi kas hücrelerinin büyümesini sağlarken gebelik sonrası menstruasyon sayesinde östrojen seviyesi düşer ve kas hücreleri küçülerek eski büyüklüklerine dönerler. Gebelikle beraber kas hücrelerinin büyümesi ve sayıca artması ile birlikte bağ dokusu miktarı da artar [21,50-52].

2.3.3. Endometriyum

Uterusun en iç katmanıdır. Fötüs bu katmana yerleşip gelişir. Epitel ve lamina propria katlarından oluşur. Endometriyum epiteli tek katlı prizmatiktir, ince bir bazal membran üzerine yerleşmiştir. Epitelde silyalı hücreler ve salgı yapan mikrovilluslu hücreler olmak üzere iki tip hücre görülür [21,50-52].

Yüzey epiteli lamina propriaya doğru basit tüp benzeri çöküntüler yapar. Bu çöküntüler, lamina proprianın derinlerine kadar uzanan uterus bezlerini oluştururlar. Bu bezler bazen

dallı tübüler yapı gösterebilirler. Bezler tek katlı prizmatik salgı hücrelerinden oluşmaktadırlar. Bu salgı hücrelerinin arasında çok az silyalı hücreler görülebilmektedir. Bezleri döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzünde kısa, düzenli sıralanmış mikrovilluslar bulunur. Apikal sitoplazmada, değişik büyüklük ve yoğunlukta salgı granülleri yer alır. İyi gelişmiş endoplazmik retikulum, çekirdek altında, hücrenin bazal kısmında bulunur. Sitoplazmada çok sayıda ribozom vardır [50-52].

Lamina propria bol hücreli özel bir tip bağ dokusudur. Bu bağ dokusunda kollagen lifler ve retiküler lif ağları bulunur. Bu lifler arasında çok sayıda iğ biçimli bağ dokusu hücreleri vardır. İğ biçimindeki bu hücreler gebelikte daha da irileşerek desidual hücreler adını alırlar. Desidual hücreler bir ya da iki çekirdek içeren, sitoplazmalarında glikojen, lipid tanecikleri ve vakuoller bulunan hücrelerdir. Bağ dokusunda lenfositler, granüler lökositler ve makrofajlar da bulunur [21,50,51].

Endometriyum işlevsel olarak iki katmandan oluşur. Endometriyumun miyometriyuma komşu 1/3 bazal bölümünün yapısı farklılık gösterir. Bu bölümde lamina propria sıkı fibröz bağ dokusundan oluşur. Uterus bezlerinin son bölümlerini içeren bu bölgeye endometriyum bazalis (str. basale endometriale) denir [21,50,51,54].

Endometriyumun 2/3 üst bölümünde ise bezlerin boyun ve gövde bölümleri bulunur. Menstrual siklus burada gerçekleştiği için endometriyum fonksiyonalis (str. functionale endometriale) adı verilir. Fonksiyonel tabaka her menstrual döngüde dökülür. Bu tabakanın tekrar yapılandırılması endometriyum bazalis tarafından gerçekleştirilir [21,50,51,54].

Fonksiyonel tabaka gebelik ve siklusun sekresyon evresinde iki alt kattan oluşur. Bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içeren 2/3 üst kısmı sıkı yapıdadır (str. compactum endometriale) , 1/3 alt kısmı ise genişlemiş, salgıyla dolu bez gövdelerini içerir ve bu kısım süngersi yapıdadır (str. spongiosum endometiale) [50].

Fonksiyonel tabaka bezleri proliferatif hücreler, salgı hücreleri, silyalı hücreler ve bazal hücreler olmak üzere dört tip epitel kökenli hücre içerir [55].

Lamina propria da yer alan kan damarları bu katın büyük bölümünün dökülmesinde öneme sahiptir. Arkuat arterler miyometriyumun orta bölümünde seyrederler. Bundan ayrılan iki dal

endometriyuma doğru ilerler ve endometriyum bazalindeki bazal arterleri ve endometriyum fonksiyonalisteki spiral arterleri oluştururlar. Bunlar endometriyuma kan akımını sağlarlar [50].

Kadınlarda puberteden menopoza kadar endometriyum 28 günlük ovarial sıklusa koşut olarak periyodik değişimler gösterir. Buna menstrual ya da uterinal siklus denir. Menstrual siklus 12-15 yaşlarında başlar, 45-50 yaşlarına kadar devam eder. Bu siklus ile ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron hormonlarının etkisi ile endometriyum, embriyonun implantasyonu (tutunabilmesi) için uygun ortam oluşturur [21,50,51,56].

Kadında 28 günlük menstrual sıklusta 4 evre görülür:

1-Proliferasyon (foliküler) evresi: Menstrual kanamadan sonra yani siklusun 5-14.gün arasındaki evredir Bu evre sırasında, olgunlaşan ovaryum foliküllerinde üretilen östrojenin uyarıcı etkisiyle endometriyumun kalınlığı artar. Hem epitelde hem de lamina propriadaki hücrelerde mitoz görülür. Tübüler bezlerin epitel hücreleri yukarıya doğru göç eder, bez giderek daralır ve kıvrımlı bir şekil alır. Endometriyumun tüm kan damarları özellikle kapillerleri genişler, fazla miktarda kanla dolar. Spiral arterler stroma içine doğru büyürler [21,50-52,56].

2- Sekresyon (luteal, progestasyonel) evresi: Ovulasyondan hemen sonra başlar. Siklusun 15-28. günlerini kapsar. Korpus luteumun salgıladığı progesteron hormonunun etkisindedir. Bezler genişler. Progesteron ve östrojen hormonlarının etkisi ile bez hücreleri glikoprotein salgılarlar. Tübüler bezlerin dış sınırları düzensizleşmeye ve kıvrılmaya başlar. Sekresyon evresinin ortasında, bez epitel hücrelerinin bazal bölümünde glikojen birikmeye başlar. Bezler testere görünümü alır. Endometrial bezlere paralel seyreden damarların boyu uzar ve lamina propia kan sıvısı ile dolar. Spiral arterleri çevreleyen stroma hücreleri büyür ve desidua benzeri olur. Ovulasyon ile tuba uterinaya atılan ovum döllenecek olursa, bu evredeki madde depolanması, aktif salgılama gibi değişiklikler sürer. Döllenme olmazsa sekresyon evresinin sonunda menstruasyon evresi başlar [21,50-52,56].

3-Menstruasyon (Kanama) Evresi: Siklusun 0-5. günlerini kapsar. Ovaryumdan atılan ovum döllenmediğinde korpus luteumun görevi azalır. Progesteron salgısı düşer ve östrojen seviyesi yükselir ve endometriyumda nekroz başlar. Progesteron düzeyinin düşmesinin

tetiklediği spiral arterlerdeki periyodik kasılmalar, fonksiyonel tabakanın oksijenlenmesini keser iskemiye başlatır ve bunu izleyen hipoksi, endometriyumun fonksiyonel tabakasında nekroza neden olur. Spiral arterlerin parçalanması, lamina proprianın kanla dolmasına neden olur. Bezler ve desidua benzeri hücrelerden oluşmuş fonksiyonel tabaka ayrılır ve uterus boşluğuna dökülür. Bazal tabakayı, bazal düz arterler doğrudan kanlandığı için, bu tabakada değişme olmaz [21,50-52,56].

4-Rejenerasyon (yenilenme) evresi: Kanamadan hemen sonra vaginal boşalmanın bitiminde başlar. Endometriyum fonksiyonalsinin yenilenmesi siklus sırasında değişmeden kalan endometriyum bazalisten gerçekleşir. Bazal kısımda bulunan bezlerin dip kısımları kısa sürede çoğalarak bezleri yaparlar. Bağ dokusu çoğalarak bezlerin arasını doldurur [50-52].

Serviks

Serviks, uterusun alt uzantısıdır. Uterus boşluğu ile vajina arasında bağlantı kurar. Serviks, endoserviks ve ekzoserviks olmak üzere iki bölümden oluşur. Vajina ile bağlantı, endoserviks denilen müköz membranla döşeli servikal kanalın dış deliği aracılığıyla olur. Endoserviks, tek katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Bu prizmatik hücrelerin oval nükleusları hücrenin bazaline itilmiştir. Apikal bölümleri mukus ile doludur. Epitel derin çöküntüler şeklinde oluklar yapar. Endoserviks, mukus salgılayan tübüler bezler içerir. Endoserviks epiteli, bezleri oluşturmak için de derin invajinasyonlar (kriptler) yapar. Böylece, mukus üreten hücrelerin yüzey alanı artar. Bu bezler, aralarında dağılmış olarak silli hücrelerin bulunduğu tek katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Bu bezler uterus gövdesindeki bezlere göre daha fazla dallanmalara sahiptir. Endoservikal bezler, içinde çok sayıda kan damarı bulunduran fibrokollajenöz ve düz kaslı stroma ile çevrilidir. Endoservikal bezlerin salgılama etkinliği östrojenler tarafından düzenlenir ve salgılama ovulasyon zamanı maksimuma çıkar. Bezlerin salgısı, cinsel ilişki sırasında vajinayı kayganlaştırır. Bakterilerin uterus boşluğuna geçmesini engelleyen koruyucu bir bariyer gibi görev yapar [21,50,51].

Ovulasyon sırasında, mukus akıcıdır, suludur ve pH'ı alkalidir. Bu özellikler spermi hareketi için çok uygundur. Yüksek iyon içeriği (Na^+ , K^+ ve Cl^-) mukusun ovulasyon sırasında eğreltiotu şeklinde mukus kristalleri yapmasına neden olur. Servikal mukusun bu Özelliği, fertilizasyon için en uygun zamanın belirlenmesi için kullanılır. Ovulasyondan sonra, mukus oldukça yoğunlaşır ve asiditesi yükselir. Bu ortamı spermin penetrasyonu ve yaşayabilmesi

için oldukça zararlıdır [21].

Bezler bazen tıkanarak büyür. Salgıları bez lümeni içinde birikerek kistler oluşturur. Bu kistlere Nabothian kistleri adı verilir [21].

Ektoserviksde, tek katlı prizmatik epitelden keratinize olmayan çok katlı yassı epitele ani bir değişim olur. Değişim zonu olarak bilinen bu alan, tümör oluşma olasılığı yüksek olan bir zondur ve servikal karsinomların en çok görüldüğü alandır [21,50,51] .

2.4. Uterus Fizyolojisi

Dişi hormonal sistemi üç hormon grubu tarafından kontrol edilir. Bunlar:

- 1) Hipotalamustan sentezlenen hipotalamik serbestleyicisi hormon ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH),
- 2) GnRH etkisi altındaki adenohipofizde yer alan hücrelerden salgılanan follikülleri uyarıcı hormon olan FSH ve luteinize edici hormon olan LH,
- 3) Ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesterondur. Östrojen ve progesteron FSH ve LH 'a yanıt olarak salgılanırlar ve salgılanma miktarları ve salınım hızları genital döngünün evrelerine göre değişir [57].

Puberteden menopoza kadar süren menstrual döngüde ovaryum hormonlarının etkisiyle, endometriyumda büyük fizyolojik değişiklikler gerçekleşir [57].

Endometriyal döngü, ovaryum döngüsüne koşut olarak gerçekleşir. Her menstrual evrede, endometriyum dökülür ve bu evrede endometriyum embriyoyu kabul edemez. Endometriyum sadece 1-2 mm kalınlıkta olup bezleri tek tük ve düz haldedir. Bezlerin lümenleri dar olup çok az mitotik aktivite görülür. Menstrual endometriyal dökülme son bulduktan sonra gelişmekte olan folliküllerin etkisi ile salgılanan östrojen sayesinde, menstrual döngünün 5. ve 14. günleri arasında endometriyumun kalınlığı hızla artar. Bu kalınlaşma hücrelerin büyümesi ve damarların artması ile olur. Bez ve stroma hücrelerinde mitoz bölünme gerçekleşir, bezler kıvrıntılı bir hal alır ve endometriyumu besleyen arterlerin

boyu uzar. Bu evreye endometriyumun proliferatif evresi adı verilir. Prolifreatif evre sırasında, bez ve stroma hücre çekirdeklerinin yapısında bulunan kromozomların ucunda yer alan ve her mitozda boyları kısalan telomerlerin telomeraz enzimi tarafından onarılmasıyla gerçekleşir. Östrojen, proliferasyon evresinde telomerazın yüksek düzeye çıkmasını indükte eder ve bu yolla endometriyumda apoptozis önlenir [50,58-61].

Ovulasyondan kısa süre sonra, plazmada artan progesteron düzeyinin etkisiyle proliferasyon yavaşlar, mitotik aktivite azalır ve endometriyum kalınlığı yaklaşık 5 mm'e iner. Östrojenin aksine progesteron telomerazı baskılar, telomerler kaybolur ve endometrial hücrelerin apoptozusu kolaylaşır. Uterus bezleri çok daha kıvrıntılı hale gelir ve her hücrenin tabanında yer alan geniş vakuollerde glikojen biriktirmeye başlarlar. Siklusun sekresyon evresinde bez hücrelerindeki vakuoller bezlerin lümenine hareket eder ve progesteron etkisiyle salgı hücrelerinden bezin lümenine verilir. Bu salgılar, embriyonun yaşamasını, uterus endometriyumuna adhezyonunu ve implantasyonu kolaylaştıran glikojen, glikoproteinler ve glikolipidler içerir. Endometriyum stroması ödemli bir hal alır ve başlangıçta düz olan spiral arterler daha da uzayarak spiral şeklinde kıvrılırlar [58-61].

Ovulasyondan kısa süre sonra, plazmada artan progesteron düzeyi endometriyumda belirgin değişikliklere neden olur. Hızlı proliferasyon yavaşlar, mitotik aktivite azalır ve endometriyumun kalınlığı yaklaşık 5mm'e iner. Östrojenin aksine progesteron telomerazı baskılar, telomerler kaybolur ve endometrial hücrelerin apoptozu kolaylaşır. Uterus bezleri çok daha kıvrımlı bir hal alır ve her hücrenin tabanında yer alan geniş vakuollerde glikojen biriktirmeye başlarlar. Döngünün luteal evresi ilerlerken bu vakuoller bezlerin lümenine doğru hareket eder ve progesteron etkisi sonucunda bu bezlerde yapılan mukus salgısı büyük ölçüde artar. Bu salgılar, gebelik ürününün yaşamasını ve yapışmasını kolaylaştıran glikojen ve glikoproteinler ve glikolipidler içerir. Endometriyum stroması ödemli bir hal alır ve başlangıçtaki düz spiral arterler daha da uzayarak spiral şeklinde kıvrılırlar. Bu değişiklikler endometriyumun sekresyon evresini yapar. Sekresyon evresi sırasında, progesteron servikal mukusun miktarını azaltır ve bunun tekrar kalın, esnek olmayan hale geri dönmesini sağlar. Progesteron voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının sentezini yöneten genlere bastırıcı düzenleme uygular ve bu yolla miyometriyumun kalsiyum yakalamasını azaltır. Bu olay miyometrial kasılmaları ve yeni implante olmuş gebelik ürününün erkenden atılmasını önler [58,59].

Sekresyon evresinin geç döneminde, endometriyum adenohipofiz gibi prolaktin üretir. Ancak endometriyum kökenli prolaktinin görevi güncel bilgilerle açıklanamamaktadır. Sekresyon evresinde döllenme gerçekleşmezse, endometrial desquamasyon gerçekleşir ve yeni bir döngü başlar. Gebelik sırasında uterus östrojen ve progesteron salgısının artması sonucu aşırı büyür. Östrojen ve progesteron gebelik öncesi ovaryumdaki korpus luteumdan salgılanırken, gebelik gerçekleştikten sonra plasenta tarafından üretilirler [58,59].

Gebelik gerçekleşmez ve korpus luteum gerileyecek olursa, endometriyumun hormon desteği ortadan kalkar, endometriyum inceler ve lenfosit ve nötrofiller belirir. Bu durum spiral arterlerin kıvrımlarını arttırır. Östrojen ve progesteronun bir anda ortadan kalkması spiral arterler ve uterus kaslarında spazmodik kasılmalara neden olur, Bu etkilerin olası aracısı yerel lökotrien ve prostaglandin üretimidir. Sekresyon evresindeki endometriyumda ve menstrual kanda yüksek miktarlarda prostaglandinler bulunur. PGF2 α infuzyonu endometriyumda nekroza ve kanamaya neden olur. Sonuçta oluşan iskemi nekroza neden olur. Spiral arterlerin duvarlarında önce spazm, daha sonra ise nekroz gelişmesi, leke tarzındaki kanamaların bir araya gelerek menstrual kanamayı başlatmasına neden olur. Menstruasyonun başlamasıyla ilgili bir varsayım ise, nekrotik endometriyal hücrelerdeki lizozom membranlarının yıkılıp hücre fosfolipidlerinden prostaglandinlerin yapımını güçlendiren enzimlerin salınmasıdır [58-60].

Serviks, uterus gövdesinin devamı olmakla beraber bazı özellikler bakımından farklıdır. Serviks mukozasında aralıklı dökülme olmaz, fakat serviksin mukus salgısında düzenli değişiklikler meydana gelir. Östrojen, mukusa daha ince ve daha alkali bir yapı kazandırarak spemin yaşaması ve taşınması için uygun ortamı hazırlar. Progesteron ise servikal mukusu kalın, yapışkan bir hale getirir. Serviks tarafından salgılanan mukusaz, kalın ve viskoz bir materyalken menstrüel döngünün proliferasyon evresinde bol, daha sulu fakat ince uzun iplikler şeklinde uzayabilen çok daha elastik bir materyale dönüşür [58,60].

Relaksin, kadınlarda korpus luteum, uterus, plasenta ve meme bezlerinde üretilen bir polipeptid hormondur. Uterus serviksini yumuşatıp genişleterek doğumu kolaylaştırır. Ayrıca uterus kasılmalarını baskılar. Gebe olmayan kadınlarda da menstrual siklusun sekresyon evresinde korpus luteum ve endometriyumda relaksin bulunur. Fakat görevi bilinmemektedir [59].

2.5. Organ Transplantasyonu

Organ transplantasyonu, tedavisi olmayan hastalıklar sonucunda görevini yerine getiremeyecek şekilde hasar gören organların yerine, canlı ya da ölüden alınan sağlıklı organın nakledilmesine denir [1].

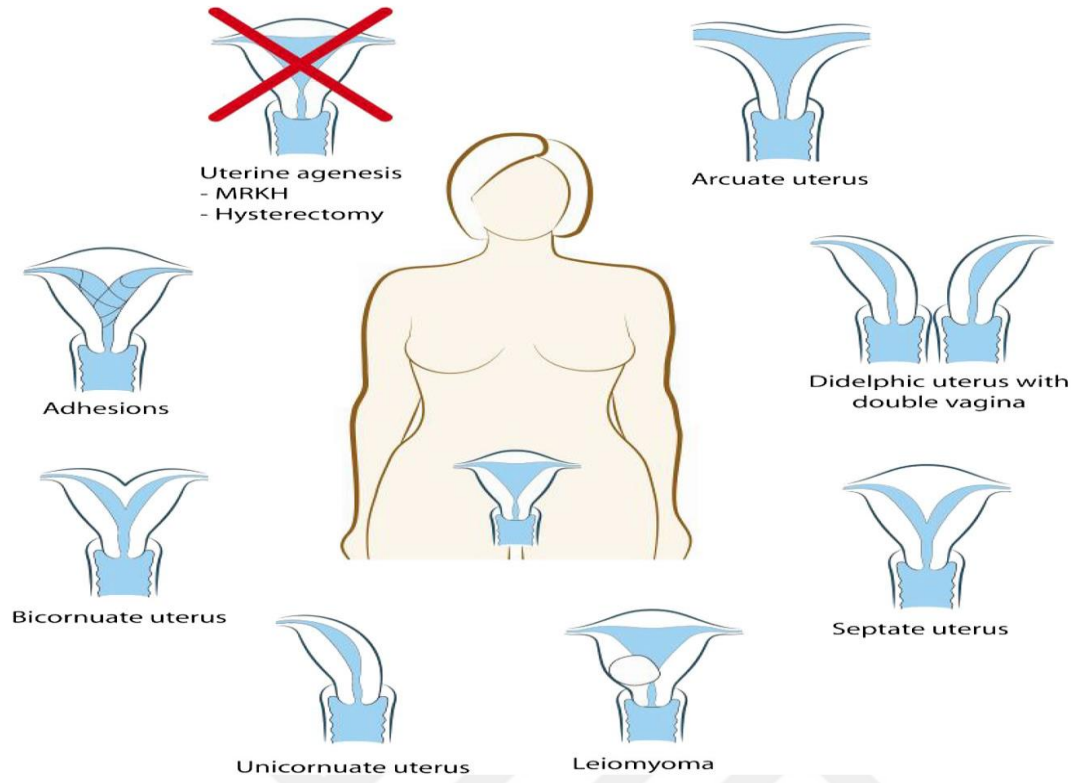
Günümüzde birçok organ ve doku transplantasyonu yapılmaktadır. Karaciğer, böbrek, kornea, akciğer, kalp, kemik iliği, el/kol ve yüz nakilleri gerçekleştirilmektedir. Organ transplantasyonunda nakil sonrası doku reddini önlemek için kişiye immunosupresif tedaviler uygulanmaktadır [2].

2.5.1. Uterus transplantasyonu

In vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi sonucunda ilk bebek 1978 yılında doğmuştur. Son 30 yılda yardımcı üreme tekniklerinde önemli gelişmeler yaşanmış çoğu infertil bireyler IVF/ICSI tedavisi ile bebek sahibi olmuştur. Ancak bazı durumlarda bu tedaviler yeterli olamamaktadır.

Uterus faktörlü infertilite (UFI) durumlarında yardımcı üreme teknikleri yeterli olmamaktadır. UFI, konjenital ve sonradan edinilmiş olarak ikiye ayrılır.

Konjenital UFI; arkuat uterus, septalı uterus, bikorni uterus, unikorni uterus, didelphik uterus, uterus hipoplazisi ve Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH/uterus agenesis/yokluğu) sendromu nedenleridir (Resim 2.1.) [2-5,39].



Resim 2.1. Konjenital ve sonradan edinilmiş uterus faktörlü infertilite nedenleri (Johannesson,2014).

Sonradan edinilmiş UFI nedenleri, leiomyoma, leiomyoma sonucu histerektomi, intrauterine adhezyonlar, peripartum histerektomisi ve servikal kanser sonucu oluşan histerektomidir [2-5].

Bu hastaların bir kısmında ovaryum fonksiyonları yeterlidir. Bu yüzden bazı ülkelerde taşıyıcı annelik yasaldır. Bazı ülkelerde bu durum etik bulunmadığı için kabul edilmemektedir [5,6,7].

Uterus nakli, uterus faktörlü infertil kadınların kendi çocuklarına sahip olmalarını sağlayabilmektedir.

1960'lı yıllardan beri fare, rat, koyun, köpek, domuz, baboon, rhesus macaque ve cynomolgus macaque üzerinde uterus transplantasyonu çalışmaları yapılmaktadır [3].

Dünyada bir insandan başka bir insana uterus nakli ilk kez 2000 yılının Nisan ayında Suudi Arabistan'da gerçekleştirilmiştir. Donor uterus, 46 yaşında bilateral ovarian kisti olan canlı kişiden alınmıştır. Uterus, doğum sonrası kanama sonucunda uterusu 6 yıl önce alınan 26 yaşındaki bir kadına nakledilmiştir. Transfer venöz greftlar kullanılarak uterin damarlardan eksternal iliak damarlara anastomoz yapılarak gerçekleştirilmiştir. Doku reddini önlemek için immunosupresif tedavi için cyclosporine, azathioprine (Immuran) ve prednisolone uygulanmıştır. İlk 3 ay atrofik endometrium için östrojen ve progesteron hormon tedavisi uygulanmıştır. Transplante edilen uterus, iyi kan akışı ve canlılık gözlenmiştir. Ancak nakilden 99 gün sonra uterus doku ölümü gerçekleşmiş ve çıkartılmıştır. Uterus arter, ven ve greftlarında trombozis ve damar torsiyonu meydana gelmiştir. Fakat daha sonra yapılan histopatolojik incelemelerde fallopian tüplerinin canlılığını koruduğu ve herhangi bir zarar görmediği görülmüştür [8].

İnsana yapılan ikinci uterus transplantasyonu 2011 yılında Türkiye'de Akdeniz Üniversitesi Tıp fakültesinde gerçekleştirilmiştir. Donör uterus, 22 yaşında trafik kazası sonucu beyin ölümü gerçekleşen bir kadından alınmıştır. Alıcı kişi ise 21 yaşında MRKH sendromu olan bir kadındır. İmmunosupresif tedavi için ATG, tacrolimus, MMF ve prednisolone uygulanmıştır. Transfer sonrası alıcıda herhangi bir komplikasyon gerçekleşmemiştir. Transferden 20 gün sonra menstruasyon gerçekleşmiştir. Hastaya dondurulmuş embriyolar nakledilmiş, Nisan 2013'te gebelik gerçekleşmiştir. Fakat gestasyonun 5.haftasında abortus olaylanmıştır [9,10].

2012 yılının Eylül ayında İsviçre'de canlı kişilerden alınan uteruslar alıcılara transplante edilmiştir. Yapılan çalışmada, 9 kadından 8'inde konjenital uterus yokluğu birinde ise histerektomi sonucunda uterus yokluğu bulunmaktadır. Donörlerin 5 tanesi alıcı kadınların annesidir. İmmunosupresif tedavi olarak MMF ve tacrolimus uygulanmıştır. Vakaların ikisinde, uterus arter trombozisi ve süregelen uterus enfeksiyonu yüzünden nakledilen uteruslar geri alınmıştır. Diğer 7 olguda transferden 6 ay sonra düzenli menstruel siklus izlenmiştir. Bu olgulardan birinde 2014 Ekim ayında 32 haftalık sağlıklı canlı doğum gerçekleşmiştir [62] .

2.6. Organ Koruma Solusyonları

Donörden alınan dokunun alıcıya nakledilene kadar; organın canlılığını ve metabolizmasını korumak, hücre ozmozisini engellemek ve nakilden sonra iskemi-reperfüzyon hasarını en az düzeye indirgeyerek en iyi organ fonksiyonunu sağlamak için kullanılan sıvılara organ koruma solusyonları denir [11].

Bütün organ koruma solüsyonlarında:

1. Na, K, Cl, Mg, glukonat gibi elektrolitler,
2. Sülfat, fosfat bikarbonat, laktobiyonat gibi asitlik düzenleyiciler,
3. Glukoz, trehaloz, rafinoz gibi şekerler,
4. N-asetil sistein, glutatyon ve alo purinol gibi serbest oksijen temizleyicileri,
5. HES, Dextran gibi kolloidler bulunmaktadır [11,63].

Sıvılarda bu maddelerin oranları değişiklik gösterebilir.

Soğuk organ koruma yöntemlerinde Na-K ATPaz pompasının fonksiyonu azalır. Na ve Cl hücre dışı ortamdan hücre içine geçerken su da bu elektrolitler ile birlikte hücre içine geçer. Bu durum hücre ödemine neden olur. Elektrolitler, hücre içi ve hücre dışı ortamdaki elektrolit dengesini korumak için kullanılırlar. Sakkaridler, hücreye enerji sağlar, dokuda ödem oluşmasına engel olur ve membran geçirgenliğini azaltır. Serbest oksijen temizleyicileri, oksijen radikallerinin hücreye verdiği zararı engeller. Kolloidler, sıvının ozmolaritesini ayarlamak için kullanılırlar [11,64].

Euro- Collins Solüsyonu: Collins solüsyonunun geliştirilmiş şeklidir. Potasyum, fosfat ve glikoz daha yüksek oranda bulunur. Böbrek, kalp, karaciğer ve akciğerlerin korunmasında kullanılır [63].

Ross-Marshall Sitrat Solusyonu: Elektrolit içeriği Collins solusyonu ile aynıdır. Ross-Marshall Sitrat Solusyonunda mannitol yerine glikoz, fosfat yerine sitrat bulunmaktadır.

Kyoto ET Solusyonu: Sodyum konsantrasyonu yüksek, potasyum ve glukonat konsantrasyonu düşük olan bir solüsyondur [63].

Wisconsin Üniversitesi (UW) Solusyonu: İçeriğindeki düşük sodyum ve yüksek orandaki potasyum ile intrasellüler yapıdadır. İçeriğinde laktobionat, raffinoz, pentastarch, GSH, adenosin, magnezyum sülfat ve allopurinol bulunur. İlk olarak pankreas nakli için geliştirilmiştir. Karaciğer, akciğer, böbrek ve kalp için de kullanılmaktadır [63].

Celsior Solusyonu: Ekstrasellüler yapıdadır.

Histidin Triptofan Ketoglutarat(HTK) Solusyonu: İlk olarak kardiyojenik bir solüsyon olarak geliştirilmiştir. Triptofan ve ketoglutarat amino asidinden oluşan kuvvetli bir tampondur. Ketoglutarat; anaerobik metabolizma için substrat olarak görev alır. Triptofan; organın korunması sırasında ketoglutarat ile birlikte membran dengeleyici olarak görev yapar. Sodyum, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonu düşüktür. Vizkozitesi düşüktür. Elektrolit konsantrasyonu, hücre içi elektrolit konsantrasyonuna benzemektedir [12].

2.7. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır [65-67].

Vücutta serbest radikallerin oluşumu ve bunların etkilerinin nötralize edilmesinde bir denge vardır. Bu denge serbest radikaller lehine bozulduğu zaman, kimyasal tepkimelerle hücrelerin hasarı, apoptozis ile ölümü ya da DNA'nın yapısının bozulmasıyla kanser hücrelerine dönüşüm, yaşlanmayı teşvik, kalp-damar hastalıkları, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır [13,65-67].

Biyolojik sistemde en önemli radikaller; süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, singlet oksijen, nitrik oksit radikalidir [65,66,68].

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim yapıları üzerinde etki gösterir. Hücre membranındaki kolestrol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile tepkimeye girerek peroksidasyon ürününü oluştururlar. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan membran hasarının geri dönüşümü yoktur. Lipid peroksidasyonu, birçok hastalığa ve doku hasarına neden olmaktadır. Serbest radikaller proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanma ve protein kümeleşmesi gibi zararlara neden olabilmektedir. Bu yüzden enzim aktivitelerinde aksaklıklar, protein işlevlerinde bozulmalar ve antijenik değişiklikler görülebilir. Karbonhidratlar üzerinde etkili olduklarında kanser ve yaşlanma olaylarında hızlanma görülür. DNA, serbest radikallerden kolayca zarar görebilir. DNA nükleotitleri ile reaksiyona girip DNA dizisinde kırıklara, DNA fragmentasyonuna ve baz değişikliklerini neden olurlar. Serbest radikallerin DNA ile etkileşimi sonucunda hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesi, hücre disfonksiyonu, hücre mutasyonu, hücre ölümü ve komşu hücrelere zarar verme gibi hasarlar ortaya çıkabilir [13,69,70,71].

Hücrelerde oksidasyon sonucunda ortaya çıkacak olan serbest radikallerin oluşumunu engelleyen ve bunların meydana getireceği oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlara “antioksidan savunma sistemleri” veya “antioksidanlar” denir [14].

Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler. İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir [66,67,72].

Doğadaki antioksidanlar çeşitli kriterlere göre gruplandırılabilir:

Yapılarına göre antioksidanlar

a) Enzimatik antioksidanlar

*Primer Enzimler: Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon transferaz, sitokrom oksidaz.

*Sekonder Enzimler: Glutatyon redüktaz, Glukoz-6- fosfat dehidrojenaz.

Oksijenin hidrojen perokside dismutasyonunu superoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksidin dismutasyonunu ise katalaz katalizlemektedir. Glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerini indirgemektedir. Yükseltgenmiş glutatyonun (GSSG), indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü sağlayan glutatyon redüktaz, indirekt yolla antioksidan etki göstermektedir. Enzimatik savunma sistemleri arasında NADH peroksidaz ve oksidaz ile sitokrom c oksidaz da yer almaktadır [14] .

i. Superoksit dismutaz(SOD, Superoksitoksitredüktaz, EC 1.15.1.1)

Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan SOD, superoksit hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. Dört farklı şekli bulunmaktadır.

Ökaryotik hücrelerin sitosolü ile mitokondri membranları aralığında bulunan ve molekül kütlesi 31,2 kDa olan enzim, her bir dimerik protein için birer molekül bakır (Cu) ve çinko (Zn) içermektedir. Çinkonun stabilizeyi sağladığı ve bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinko tersinmez. Bakır ise tersinir olarak yapıdan ayrılmaktadır. Enzimin önemli örneği sığır ve insan eritrositlerinde bulunan eritrokuprenindir. Sığır karaciğerinde primer olarak sitoplazmik yerleşimli olarak gösterilen CuZn-SOD, mitokondri ve peroksisomlarda ise eser miktarda bulunur. Lizozomlarda görülen CuZn-SOD ise sitoplazmadan geçmektedir [14].

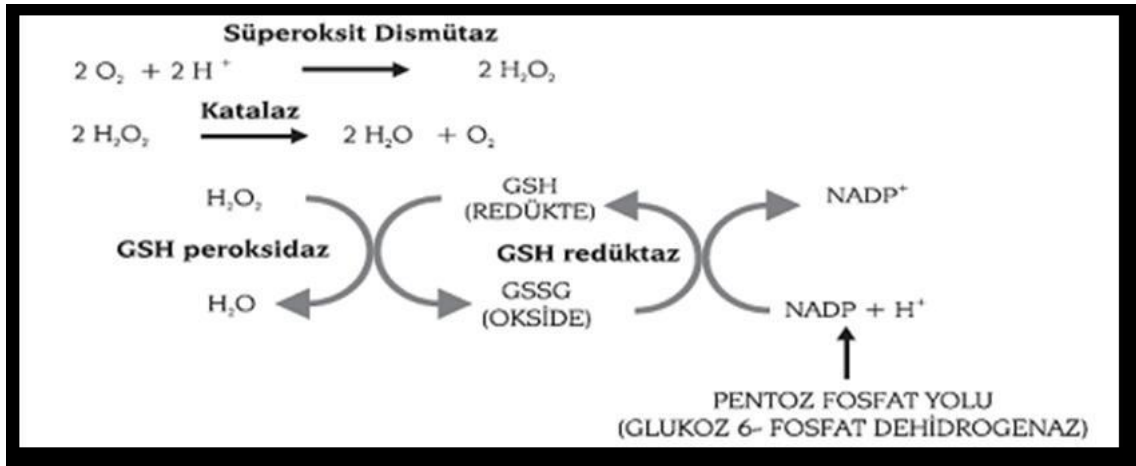
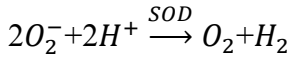
Diğer iki SOD formu her bir molekül başına iki adet manganez içermektedir. Bu enzimlerden biri mitokondri matriksinde (75 kDa), diğeri ise Escherichia Coli (E.Coli) gibi bakterilerin

sitozolünde (40kDa) bulunmaktadır. CuZn-SOD siyanür ile inhibe olurken, Mn-SOD siyanür ile inhibe olmamaktadır [14].

Demir içeren E.coli periplazmik aralığında bulunan IV. Tip SOD (40kDa), yapısal olarak Mn-SOD (Manganez-SOD) ile büyük benzerlik gösterir [14].

Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. SOD enzimi reaksiyon hızını artırmak için yeterince güçlü bir katalisttir [66].

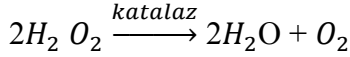
Süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$) da, H_2O_2 gibi bir oksidan olarak çoğu organik bileşikle direkt olarak reaktif değildir ancak muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Tütün bitkisinin yaşlı yapraklarında membran zararlanmasının bir işareti olarak SOD ve katalaz enzim aktiviteleri azalma göstermektedir. Bu iki enzimin aktivitesi ve yapraklardaki lipid peroksidasyonunun derecesi arasında çok açık bir korelasyon belirlenmiştir. Bu enzimlerin, yaprağı lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden korumada önemli rolleri olduğu ileri sürülmektedir [66,73].



Resim 2.2. Hücre içinde gerçekleşen antioksidan mekanizması (Akkuş,1995).

ii. Katalaz (EC:1.11.1.16)

Katalazın yapısında bir tane hemoprotein bulunur ve 248kDa molekül kütlesine sahiptir. Kovalent olmayan bağ ile bağlı protoporfirin IX Fe (hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda bulunur [14].



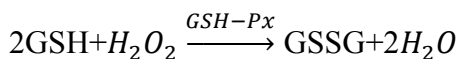
Düşük hızlarda hidrojen peroksidin olduğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif, hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır [14,66,74].

Bir metalloenzim olarak bilinen katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir [66,73].

Enzimler arasında en yüksek katalitik dönüşüm hızına sahip olduğu bilinen katalazın aktivitesi için demir gerekmektedir. Ortamda H_2O_2 düzeyi çok düşük olduğunda aktif olmayan enzim bileşiği Katalaz- Fe^{+3} - $HOOH$ ile elektron alıcısı tepkimeye girmektedir [14].

iii. Glutasyon redüktaz ve glutasyon peroksidaz

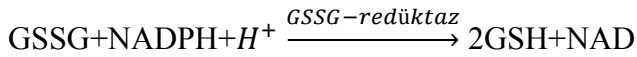
Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutasyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilir bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutasyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir. Aktivitesi için Se mineraline ihtiyaç duyan GSHPx enzimi, glutasyon'un indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir [66,75].



Glutasyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen ($1O_2$), süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidroksi ($\cdot OH$) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir [66,73].

Glutasyon peroksidaz; glutasyon ile hidrojen peroksid veya lipid peroksidlerinin indirgenmesinde, glutasyon redüktaz ise glutatyonda oluşan disülfid bağının tekrar sülfidril yapısına indirgenmesinde görev yapmaktadır [14].

Glutamik asid, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptid olan glutasyon (γ -glutamilsisteinliglisin), indirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) bulunmaktadır. Hücrenin yükseltgenme-indirgenme dengesini koruyan önemli bir indirgen ve antioksidan olan glutasyon, hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Proteinlerdeki -SH gruplarının korunması ve amino asidlerin hücre içine taşınmasında rol oynamaktadır. Glutasyon (GSH), selenyum içeren glutasyon peroksidaz ile yükseltgenmektedir (GSSG). Glutasyon sentezi γ -glutamilsistein sentetaz ve glutasyon sentetaz ile gerçekleşmektedir. Glutasyon, tripeptid olmasına rağmen sentezi protein sentez yollarından olmamaktadır [14].



Glutasyonun fonksiyonları :

1. Amino asit transportu,
2. Tiol-disülfid (SH-SS) etkileşimi,
3. Glutasyon konjugatları,
4. Koenzim fonksiyonu,
5. Hidroperoksitlerin oksidasyonu,
6. Protein sentezi ve yıkımı,
7. Gama glutamil transpeptidaz,
8. Glutasyon-S transferaz,
9. Enzimlerin aktivitesi [14].

b- Enzimatik olmayan antioksidanlar

- i. Mineraller :Çinko, Selenyum.
- ii. Vitaminler :A, C, E, K vitaminleri.
- iii. Karotenoidler : β -karoten, likopen, lutein.
- iv. Organosülfür Bileşikleri : Allil Sulfit, İndoller.
- v. Düşük Mol Kütelli Antioksidanlar : Glutasyon, ürik asit.
- vi. Kofaktörler :Koenzim Q10.
- vii. Polifenoller: Flavonoidler, flavonoller (quercetin, kaemferol, catechin, EGCG), antosiyanidinler (siyanidin, pelagonidin), isoflavanoidler (genistein), flavanonlar (hesperitin), flavonlar (chrysin), fenolik asitler, hidroksi-sinnamik asitler, hidroksi-benzoik asitler .

Kaynaklarına göre antioksidanlar

a- Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar): SOD, katalaz, glutasyon peroksidaz, bilirubin, ürik asit, sistein, histidin, albumin, safra asitleri, sitokinler [76].

b- Dışarıdan alınanlar (eksojen antioksidanlar): Alfa-tokoferol, beta-karoten, askorbik asit, enzim inhibitörleri, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflatuar ilaçlar, DMSO, mannitol, deferoksamin, sodyum benzoat, propil galat gibi besin koruyucuları, Siklosporin A ve FK 506 gibi nötrofil inhibitörleri, antinötrofil antikorlar, endotel reseptörlerine karşı monoklonal antikorlar, Rekombinant h-SOD, 21-Aminosteroidler, sitokinler (TNF ve interlökin-1), trimetazidin, ebselen, demir şelatörleri (Deferroksamin, dimetil tiyoüre), ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol,oksipurinol), barbitüratlar, indapamid, H_2 reseptör blokerleri [14,76].

Çözünürlüklerine göre antioksidanlar

a- Suda çözünenler: Glutasyon,C vitamini, ürik asit.

b- Lipidlerde çözünenler : A ve E vitamini, ubikinonlar [76].

Yerleşimlerine göre antioksidanlar

a- Hücre içinde bulunanlar.

b- Plazma ve diğer ekstraselluler sıvılarda bulunanlar [76].



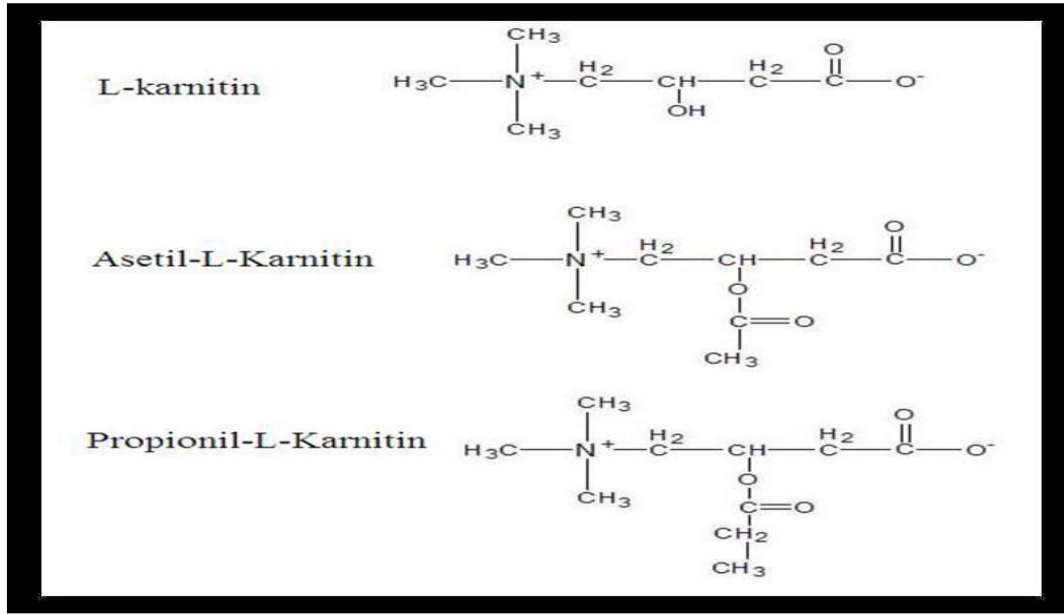
Çizelge 2.1. Önemli fizyolojik antioksidanlar (Mimica-Dukic, 2015)

Antioksidan	Vücutta Bulunduğu Yer	Özellikleri
Superoksit Dismutaz (SOD)	Mitokondri, sitozol	Çok etkili enzimatik antioksidandır.
Glutatyon Peroksidaz (GPx)	Mitokondri, sitozol	Hücre içi indirgen ajandır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitleri uzaklaştırır.
Katalaz (KAT)	Mitokondri, sitozol	Hidrojen peroksiti uzaklaştırır.
Vitamin C	Hücrenin su fazı	Serbest radikal yakalayıcı olarak davranır ve Vitamin E'yi geri kazandırır.
Vitamin E	Hücre membranı	Hücre membranındaki en önemli zincir kırıcı antioksidandır.
Ko-enzim Q10	Tüm hücre zarlarında ve yağları taşıyan proteinlerin yapısında	Yağ asidi ve glukozmetabolizması sırasında elektron yakalayarak diğer elektron alıcılarına iletir.
Ürik Asit	Pürin metabolizması ürünü	OH^- radikallerini yakalar.
Glutatyon (GSH)	Hücredeki nonprotein Tiyol	Hücresel antioksidansavunmasında çoklu rol oynar.
α -lipoik asit	Endojen tiyol	Vitamin C'yi geri kazandırır; aynı zamanda biyolojik sistemlerde glutatyon yerine kullanılabilir.
Karotenoidler	Hücre membranı	Lipit çözebilen antioksidanlardır; ROT'ları tutarlar.
Bilirubin	Kan	Heme metabolizması ürünüdür; hücre dışı antioksidandır.
Ubikuinonlar	Mitokondri	İndirgenmiş hali etkili antioksidanlardır.
Karnitin	Ekstrasellüler ve intrasellüler sıvılar	Metal iyonlarını selat haline getirir. Fenton reaksiyonundan sorumludurlar.
	Ekstrasellüler ve intrasellüler sıvılar	LP inhibitörü ve serbest radikal yakalayıcısıdır.

2.7.1. Karnitin

Karnitin ilk kez 1905 yılında iki Rus bilim adamı (Gulewitsch ve Krimberg) tarafından hayvan kaslarından izole edilen bir bileşik olarak keşfedilmiştir ve 1927 yılında kimyasal yapısı belirlenmiştir. Bu keşiften sonra latince et anlamına gelen “carnis” ismi verilmiştir. Karnitin, amino asitlere benzeyen ancak hiçbir protein yapısına girmedığı için gerçek bir amino asit olarak kabul edilmeyen vitamin benzeri bir amindir [15-17,78,79].

Karnitin suda çözünebilir yapıdadır. Bir asimetrik karbona sahip olduğu için D ve L formuna sahiptir. L formu metabolik olarak aktif olduğu için hücrelerde sadece bu hali sentez edilir. D formu sadece kimyasal olarak elde edilir. L-karnitinin kimyasal formülü 3-hidroksi-4-N-trimetilamino-bütirat'tır. L-karnitin'in asetil-L-karnitin ve propionil-L-karnitin olmak üzere iki farklı kimyasal formu vardır (Resim 2.3.) [15-17,78,79].



Resim 2.3. L-Karnitin ve diğer kimyasal formlarının yapısı (Demircan,2012).

L-karnitin, tüm memelilerde bulunan önemli bir endojen moleküldür. İnsanlarda karnitinin başlıca kaynağı diyet (%75) olmakla birlikte, %25'i vücutta iskelet kası, kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi organlarda esansiyel amino asitler olan lizin ve metiyoninden endojen olarak sentezlenebilmektedir. L-karnitin özellikle et, süt ve süt ürünlerinde bol bulunurken bitkisel besinlerde ise çok az seviyede bulunmaktadır. Karnitin içeriği hayvansal kaynaklı besinlerde yüksek iken bitkisel besinlerde düşük olması sebebiyle vejeteryan sağlıklı kişilerde endojen biyosentezi önem taşır. L-karnitinin insanlardaki biyosentezinin oranı 0,16 mg/kg ile 0,48 mg/kg vücut ağırlığı/gün arasında değişmektedir. Böylece, 70 kg olan bir insan 11-34 mg/gün oranında L-karnitin sentezi yapabilir. Vücuttaki toplam karnitin stoğunun %98' i iskelet ve kalp kasında, %1,6' sı karaciğer ve böbreklerde, %0,6' sı ise ekstrasellüler sıvıda bulunmaktadır. Karnitin; kalp, iskelet kası, karaciğer, böbrekler ve epididimis, seminal sıvı ve yağ dokusunda yoğun olarak bulunmaktadır [16,78-86].

L-karnitin biyosentezi için lizin ve metionin amino asitleri gereklidir. Sentez bir reaksiyon zinciri ile beş basamakta tamamlanır. Sentezin birinci basamağında proteine bağlı lizin metilasyonu gerçekleşir. Metilleyici ajan 5-adenozilmetionin olup trimetillizin oluşur. İkinci basamakta 3-hidroksitrimetillizin, üçüncü basamakta deoksikarnitinaldehid, dördüncü basamakta ise deoksikarnitin oluşmaktadır. Son basamakta etkili katalizör enzim olan deoksikarnitin ile hidroksilaz karnitin oluşmaktadır. Deoksikarnitin karnitine hidroksilasyonu karaciğer, beyin ve böbreklerde meydana gelmektedir. İnsanda iskelet kası, kalp, karaciğer, böbrek ve beyinde karnitin bir öncülü olan gamma-butirotetain sentezlenir. Ancak sadece karaciğer, böbrek ve beyinde üretilen gamma-butirotetain hidroksilaz enzimi ile bu öncül madde reaksiyona girererek karnitini oluşturabilmektedir. L-karnitin sentezi için ayrıca metiyonin sentezi için gerekli olan B12 vitamini, C vitamini, demir, B6 vitamini ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) yapısında niasinin bulunması gerekmektedir [80,83,86-92].

L-Karnitin birçok metabolik olayda görev alır:

- L-karnitin, memeli dokularında sitoplazmada bulunan serbest uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksinde oksidasyona uğrayabilmeleri için geçişinde rol oynamaktadır.
- L-karnitin serbest radikallere karşı membran stabilizasyonu ile hücreleri hasardan korur ve mitokondriyal hasarı önler. Böylece enerji üretimi artar ve serbest radikallerin geçişi azalır.
- Peroksizomal yağ oksidasyonunda rol oynamaktadır.
- Valin, lösin ve izolösin gibi dallı zincirli amino asitlerin oksidasyonu karnitin ile olur.
- Krebs siklusunu hızlandırır. Böylece, mitokondrideki KoA/asetil-KoA oranının korunması sağlar.
- Serbest radikal üretimini durdurur. Böylece hücrel hasar azaltılır.
- Biriktikleri takdirde zararlı olacak açıl gruplarının mitokondri dışına taşınmasını sağlar.
- Organizmaya güçlü toksik etkileri olan, endojen veya eksojen organik asitlerin düzeylerini azaltarak organizmayı korumaktadır.
- Çeşitli deneysel iskemi modellerinde, karnitin mitokondrilerin metabolik hızını artırarak oksijen kullanımını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca karnitin aerobik piruvat metabolizmasını uyarak piruvatın laktik aside dönüşmesini baskıladığı bu şekilde hücre

içi laktik asit birikimini önlediği görülmüştür.

- L-karnitin ve açıl L-karnitin nöroprotektif, nöromodulator ve nörotrofik etkilere de sahiptir.
- İn vivo ve in vitro çalışmalarda nöron rejenerasyonunu hızlandırdığı belirlenmiştir.
- L-karnitin antioksidan etki göstermektedir [82,93-100].

2.7.2. Karnitinin kullanıldığı alanlar

- Yaşlanmayı geciktirme,
- Hafızanın geliştirilmesi,
- Kalp krizi ve diğer kalp rahatsızlıklarının önlenmesi,
- Periferik damar hastalıkları tedavisi,
- Kronik böbrek yetmezliği tedavisi,
- Alzheimer hastalığının önlenmesi,
- HIV virüsü ve AIDS hastalığı tedavisi,
- Sperm olgunluğu ve hareketliliğinin geliştirilmesi,
- Sporcu sağlığı ile ilgili konular,
- İlaç etkileşimlerinde meydana gelebilecek sekonder L-karnitin eksikliğinin önlenmesi,
- Sinirsel rahatsızlıklar ve depresyon tedavisi,
- Dengeli beslenme, diyet, obezite çalışmaları ve şeker hastalığı tedavisinde kullanılır [101].

2.7.3. Karnitin eksikliği

Karnitin eksikliği, ilk defa insanlarda lipit birikimli miyopati şeklinde iskelet kaslarında görülmüştür. İki şekilde ortaya çıkabilir:

Primer karnitin eksikliği: Yağ asidi oksidasyonunun nadir bir otozomal resesif bozukluğudur. L-karnitin seviyesinin plazma alyuvar ve dokularda düşük olması sonucu oluşur. Bu nedenle enerji üretiminde yağ asitleri yeterli kullanılamaz ve enerji açığı ortaya çıkar, metabolik denge bozulur. Serbest yağ asitleri ve trigliserit seviyesi artar, ketogenez de azalır, karaciğer ve kaslarda yağ infiltrasyonu ortaya çıkar. Karnitin tedavisi hayat

kurtarıcıdır. Erken ve yeni doğan bebeklerde karnitin sentezinde yer alan gamma-butirotetain hidroksilaz enzim aktivitesi düşük olduğu için primer karnitin eksikliği görülebilir [101].

Sekonder karnitin eksikliği: Genetik ve sonradan kazanılmış sekonder karnitin eksikliği olarak iki türü vardır. Sekonder karnitin yetersizliğinde dokulardaki karnitin depoları azalmıştır. Uzun süreli antiepileptik tedaviler, klinik olarak teşhis edilen metabolizma hastalıklarında (diyabet, asidoz gibi), kanser, Alzheimer Hastalığı, siroz, kronik böbrek yetmezliği, ciddi enfeksiyonlar, valproik asit tedavisi, diyabet, kalp yetmezliği, bağırsak rezeksiyonu, açlık, yaşlılık ve hamilelik durumlarında sekonder karnitin eksikliği görülebilmektedir. Ayrıca askorbik asit, demir iyonu, piroksidin (B6) ve niasin (B3) karnitin için gerekli kofaktörlerdir ve yetersizliklerinde karnitin eksikliği gelişebilir [101].

2.7.4. Karnitin eksikliği ile ortaya çıkan metabolik bozukluklar

Karnitin eksikliğinde;

- Yağ asitleri enerji üretiminde kullanılamaz, sonuçta, özellikle kalp ve iskelet kaslarında enerji ihtiyacı açığa çıkar.
- Serbest yağ asitleri ve trigliseritlerde artma gözlenir.
- Yağ asitleri sitoplazmada birikir.
- Kaslarda yağlanma meydana gelir.
- Toksik etkiye bağlı metabolik bozukluklar oluşur.
- Karbonhidratların aşırı kullanılmasına bağlı hipoglisemi oluşur.
- Karbonhidrat metabolizmasının bozulması sonucu laktik asit birikimi meydana gelir ve vücutta yorgunluk ve ağrı oluşur.
- Çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği ile tekrarlayan enfeksiyonlar oluşur.
- β -oksidasyon için gerekli olan serbest Ko-A eksikliği oluşur [101].

2.7.5. Asetil-L-karnitin

Asetil-L-karnitin, L-karnitinin kısa zincirli ester türevlerinden biri olup vücutta en fazla bulunan açıl karnitin türüdür. Asetil-L-karnitin, L-karnitinin fizyolojik özelliklerini taşır. Ayrıca asetil grubu içermesi nedeniyle yüksek enerji metabolizması sırasında önemli bir asetil grubu vericisi olarak görev almaktadır. Mitokondriyal işlevlerde önemli bir rol üstlenir [18].

Asetil-L-karnitin oluşumu sitoplazmik tiokinaz enzimi ile başlar. Tiokinaz enzimi yağ asitleri, ATP ve KoA kullanılarak açıl KoA sentezler. Açıl KoA, karnitin ile karnitin palmitoil transferaz-I yoluyla birleşerek açıl karnitin oluşturur. Bu bileşik, mitokondriyal matrikse karnitin-açilkarnitin translokaz sistemiyle taşınır. İç mitokondriyal membrandan geçen her açıl karnitin molekülü için bir karnitin dışarı atılır. İç mitokondriyal membrandaki karnitin palmitoil transferaz-II, açıl karnitini karnitine çevirerek açıl KoA'yı serbest bırakır. Son olarak, mitokondriyal matrikste bulunan karnitin asetil transferaz enzimi, karnitin ve asetil KoA'dan Asetil-L-karnitin ve KoA üretir. Asetil-L-karnitin, yağ asidi oksidasyonu sırasında asetil KoA'nın mitokondriye girişini hızlandırır. Beyinde asetilkolin sentezine katkıda bulunur. Protein ve fosfolipid sentezini uyarır [18-20].

Asetil-L-karnitin, yaşlı ratlarda yavaş ya da geri dönüşümlü etkileri olduğu belirlenmiştir. Klinik çalışmalarda, asetil-L-karnitin, insanlarda beyin fonksiyonlarında, kavramada ve hafıza da pozitif etkilerinin olduğu bilinmektedir. Asetil-L-karnitin, bu etkileri ile Alzheimer hastalığındaki hafıza kaybında iyileştirici ve ilerleyici etkileri olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Asetil-L-karnitin, insanlarda virüs enfeksiyonu sonucunda oluşan bağışıklık yetmezliğinde yorgunluk semptomlarını iyileştirici etkisi olduğu düşünülmektedir [102].

Yapılan çalışmalarda; Propionil-L-karnitin'in tavşan arka bacağına oluşturulan iskemi sonrasında revaskularizasyona ivme kazandırdığı, kan akışını iyileştirdiği, damarlı alanın arttığı fakat intramuskular kapillerde angiogenезin görölmediği, kollateral damarlarda arteriogenезisi arttırdığı, endotel hücrelerinin genişlemesini sağladığı, kollateral damarlarda düz kas hücrelerinin yığılması sonucunda intima tabakasının kalınlaştığı ve VEGF ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca Propionil-L-Karnitin'in fare hava torbalarında ve tavuk koriyoallontoik membranında damarlanmayı arttırdığı görölmüştür [103].

2.8. Damar Sisteminin Oluşumu

Damar sistemi vaskülogenezis ve angiogenezis olmak üzere iki şekilde oluşmaktadır.

2.8.1. Vaskülogenezis

Vaskülogenez, embriyogenez sırasında, vitellus kesesinin ilkel damar ağını ve gövde eksen damarlarını oluşturmak için serbest ve göç eden vasküler endotel progenitörler (öncüler) ya da anjiyoblastların birleşmesiyle başlayan bir süreçtir. Vaskülogenez embriyonun yaşaması için mutlaka gereklidir [21].

Anjiyoblastlar, ekstraembriyonik mezoderminden gelişen mezenşimal hücre topluluğundan meydana gelmektedir. Çoğalarak endotel kapiller tüpleri oluştururlar. Çoğalma, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF, mezenşim hücrelerince salgılanır) ile vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) nin karşılıklı olarak etkileşmesiyle düzenlenir. VEGF, VEGFR-2 ve bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) angioblast diferensiyasyonunu etkileyen faktörlerdir. Kapiller endotel tüplerin biçimlenmesi VEGF ile VEGFR-1 arasındaki karşılıklı etkileşime bağlıdır [21].

Endotel hücrelerinin arter veya venlere dönüşümünde bLHL transkripsiyon faktörü ve ephrin ailesinin üyeleri etkilidir. Embriyonun arter ve venlerine ait endotel hücreleri molekülleri bakımından farklıdır. Ephrin-B2 ve reseptörü arteriel; ephrin- B4 venöz damarlarda bulunur. Fibronektin ve matriks reseptörleri $\alpha\beta3$ integrinler gibi matriks makromolekülleri ile endotel hücreleri de vaskülogenezi etkilemektedir [21,34].

2.8.2. Angiogenezis

Angiogenezis, hem embriyo hem de yetişkinlerde gözlenen, önceden var olan bir damardan başlayan bir süreçtir. Angiogenezis, neovaskülarizasyon olarak da adlandırılır. Angiogenezis; fizyolojik ve tümör angiogenezi olmak üzere iki çeşittir. Gerçekleşmesinde; büyüme faktörleri, sitokinler ve bunların reseptörleri görev alır [21].

Yetişkinlerde angiogenezis, uterusun menstruel siklusu, plasenta büyümesi, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, kollateral dolaşımın gelişmesi ve yangısal yanıtlarda ortaya çıkar [21].

Angiogenez şu basamaklarda gerçekleşir:

- a. Bazal membran ve ekstraselüler matriks (ECM)'in proteolitik enzimlerle yıkılması: Angiogenik faktörler, matriks metalloproteinazlar (MMP) ve plazminojen aktivatör (PA) enzimlerini aktive eder. Bu enzimler, kapiller tomurcuğu oluşturmak için ana damarın bazal membranını ve ekstrasellüler matriksi (ECM) parçalar.
- b. Endotel migrasyonu: Angiogenik faktörler endotel hücrelerindeki reseptörlerine bağlanarak endotel hücrelerini aktive eder ve endotel hücrelerinin ECM içinde göçünü sağlarlar.
- c. Endotel proliferasyonu: ECM içinde göç eden endotel hücreleri büyüme etkisiyle çoğalır.
- d. Lümen oluşumu, maturasyon, angiogenezin inhibisyonu: İntegrinler ve diğer membran proteinleri endotel hücrelerinin birleşmesini ve ECM'ye tutunmalarını sağlayarak lümen oluşumunu sağlarlar. Endotel hücreleri endotel kapiller tüpüne dönüşür. Yeni oluşan kapillerler olgunlaşırlar, bazal lamina oluşur ve periendotel hücreleri (düz kas hücreleri, perisitler ve fibroblastlar) bir araya gelerek yeni oluşan endotel tüplerinin etrafını çevrelerler. En son olarak da angiogenez inhibe edilir [21,24].

Yeni oluşan damarların olgunlaşması ve yapılandırılması pro-angiogenik ve antiangiogenik faktörlerin etkileşimine bağlıdır (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Proangiogenik ve anti-angiogenik faktörler [Kierszenbaum, AL., Aydın, R., Demirer, E., Erol, N.,
İnternet: VEGF.

<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.google.com.tr%2Furl%3Furl%3Dhttp%3A%2F%2Fwww.todnet.org%2Ftoddata%2Fseminerler%2FVEGF.doc%26rct%3Dj%26frm%3D1%26q%3D%26esrc%3Ds%26sa%3DU%26ved%3D0CBIQFjAAahUKEwiGhOffqoDHAhUKhiwKHRI6CYU%26usg%3DAFQjCNELEPOLtKOMeWbdgkczTIM3Q-8ZrA&date=2015-07-29> 29.07.2015'te alınmıştır.]

Angiogenezi inhibe eden faktörler	Angiogenezi aktive eden faktörler
Trombospondin (TSP-1, TSP-2)	Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)
Angiostatin(plasminojen kısmı)	Ana Fibroblast büyüme faktörü (FGF)
Endostatin (kollajen XVIII kısmı)	Asit Fibroblast büyüme faktörü
Vazostatin	Platelet kaynaklı büyüme faktörü(FDGF)
Prolaktin fragmanı	Hepatosit büyüme faktörü
Troponin 1	Epidermal büyüme faktörü(EGF)
Anjiyopoietin-2	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)
İnterferonlar(alfa,beta,gama)	Dönüşen büyüme faktörü a
Sitokinler	Dönüşen büyüme faktörü b
İnterlökinler(IL-4, IL-12, IL-18)	Tümör nekrosis faktör α (TNF- α)
Fibronektin	Plasental büyüme faktörü (PIGF)
Metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP)	Anjiyopoietin-1
Plazminojen aktivatör inhibitör (PAI)	Angiogenin
Platelet faktör 4 (PF 4)	Pleiotrofin
Pigment epitelial hücre faktörü (PEDF)	İnterlökin 8 (IL-8)
Retinoik asit	Granülosit-koloni uyarıcı faktör
VEGF inhibitörü	Proliferin
TNF- α , β	Leptin
AaAt (Antithrombin III kısmı)	Tümör Büyüme Faktörü- α (TGF- α)
Arrestetin	İntegrinler
Kallistatin ya da Kallikrein bağlayan protein (KBP)	Matriks metalloproteinazlar
Endorepellin	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB)
Fibulin	Doku faktörü/PAR
Tumstatin	VE-kadherin
Antitrombin	
PEX	
T2-TrpRS	
Taurolidin	

Damar morfogenezinde şu moleküller esastır:

1. Tie2, reseptör tirozin kinazı olup, endotel hücre çoğalmasının uyarılması ya da baskılanması için gerekli olan sinyal ağını ayarlar.
2. Vasküler endotel büyüme faktörleri (vascular endothelial growth factors;VEGFs), endotel hücrelerinde bulunan VEGFR-1 ve VEGFR-2 adındaki iki farklı reseptöre bağlanma

eğilimindedir.

3. Angiopoietin 1 ve 2 (Ang1 ve Ang2) Tie2' ye bağlanma eğilimi vardır [21]. Olgun kan damarlarını oluşturmak için, Ang1 endotel hücre reseptörü Tie2 ile etkileşerek büyük damarlardaki periendotel hücrelerini düz kas hücrelerine dönüştürür. Ang1 damar olgunlaşmasına aracılık eder [21].

Ang2, endotel hücrelerinin hücre dışı matriksle olan bağlantısını bozmak için Tie2 ile etkileşir. Bu, endotel hücresinin yeniden biçimlenmesi ya da apoptoz ile sonuçlanır. Ang2'nin tümör angiogenezindeki rolü tümör tedavisinde bir hedef olarak ortaya çıkmaktadır. Ang2, angiogenezin dışı üreme fizyolojisiyle ilgili olduğu üç doku olan yumurta, uterus ve plasentada seçici olarak bulunur [21].

PDGF: Thymidine Phosphorilase etkisi gösterir ve timidini timine defosforilleyerek serbest radikal oluşumunu arttırarak angiogenez genlerini aktive eder [104].

bFGF: Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2, bFGF), bir diğer heparine bağlanan angiogenik proteindir. FGF, endotel hücrelerinde çoğalma ve epiblast hücrelerinin endotel hücrelerine farklılaşmasını sağlar. Doğrudan ya da dolaylı olarak endotel hücre aktivitesini düzenler. bFGF, endotelde migrasyon, proliferasyon ve tüp formasyonundan sorumludur. bFGF ve VEGF angiogenez üzerinde sinerjik etki gösterirler. Yapılan çalışmalar, bFGF'nin erişkin vasküler yapının korunması ve yara iyileşmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir. PDGF ve bFGF, heparine bağlı peptid yapıda büyüme faktörleri olarak VEGF gibi tirozin kinaz reseptörleri üzerine etki eder ve dimerizasyon, otofosforilasyon sonucunda mitogen activated protein kinaz (MAPK) gibi intrasellüler kinazların aktivasyonunu sağlarlar. Böylece aktivatör protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörleri uyarılarak mitojenik etkili genlerde cevap oluşturulur [104].

Platelet-Derived Growth Factor(PDGF): Endotelial mitojen, endotelial motilite faktörü ve angiogenez indükleyici olarak etki gösterir [104].

TGF- β : Transforming Growth Factor- β (TGF- β) tümör angiogenezindeki rolünü, Tenascin gibi endotel hücrelerinin yapışmasını ve göçünü sağlayan matriks proteinlerinin yapımını arttırarak endotel hücreleri üzerindeki kemotaktik etkisi ile gerçekleştirir. Bu

sayede tümör hücrelerinin invazyon ve metastazına da olanak sağlar. Ayrıca VEGF ve VEGF reseptörlerinin ekspresyonunu da uyararak angiogeneizde proliferasyon aşamasında rol alır [104].

EGF ve TGF- α : Epidermal Growth Factor ve TGF- α , bir tirozin kinaz reseptörü olan EGF reseptörlerine bağlanırlar. Her ikisi de endotel hücreleri için mitojenik etki göstererek angiogenezi uyarırlar [104].

SF/HGF: Bir sitokin olan Scatter factor/hepatocyte growth factor (SF/HGF) endotel hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonda rol alır. Etkisini c-Met protoonkogeni ürünü olan bir transmembran tirozin kinaza yüksek affinite ile bağlanarak gerçekleştirir [104].

FGF-1, FGF-3, FGF4: Fibroblast Growth Factor (FGF). Endotelial mitojen ve angienez indükleyici olarak etki gösterirler [104].

Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α): Endotelial mitojen, angienez indükleyici ve VEGF ekspresyonu indükleyici olarak etki gösterir [104].

Tümör Angiogenezi

Fizyolojik ve tümöral angienez birbirinden farklıdır. Fizyolojik angienez gelişmekte olan fetüste başlar, doğumdan sonra yetişkin dokularındaki kan damarlarını oluşturacak şekilde devam eder. Fizyolojik angienez ile oluşmuş bir kapillerde lümen başına 1-2 endotel hücresi bulunur. Normal kan damarları birbirinden düzenli ve belirli boşluklarla ayrılmıştır. Normal dokularda arter, arteriol, kapiller, postkapiller venül ve ven şeklinde bir düzenlenme vardır [22].

Tümör angiogenezi hipoksi sonucunda oluşmaktadır. Tümör büyüdükçe tekrar hipoksi olur ve angienez uyarılır. Tümör kapillerlerinde lümen başına daha fazla endotel hücresi düşmektedir. Düzensiz şekilde dağılır ve dallanırlar ve arteriyo-venöz (AV) şantlar görülür. Angiogenik aktive heterojendir. Değişken ve farklı şekilde fenestrasyon gösterirler. Plasma ve plasma proteinlerine geçirgendirler [22].

Bazı tümörler, yeni oluşan kan damarlarından uzak metastaz yapmalarını önleyen antiangiogenik peptidleri salgılayabilirler. Bunlar; plazminojenin yıkım ürünü olan angiostatin ve tip XVII kollajenin yıkım ürünü olan endostatin'dir. Bu peptidler farelere verildiğinde yerleşik tümörlerin büyümesini yavaşlatır ya da durdururlar [21].

Angiostatinler, endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan adenosin trifosfat (ATP) sentetaz enzimine bağlanır. Bu enzim, başka hücrelerin yüzeyinde bulunmaz. ATP sentetaz ATP sentezler. Angiostatin ATPsentetaza bağlandığı zaman, enzim etkinliği bloke olur ve büyük olasılıkla kan damarlarının büyümesi önlenir. Endotel hücreleri, düşük oksijenli ortamda iyi büyürler ve enerji kaynağı sağlamak için ATP sentetaz etkinliğine bağımlıdır [21].

VEGF

Senger ve ark. 1983 yılında deride damar geçirgenliğini arttıran tümör vasküler permeabilite faktörünü (VPF) keşfetmişlerdir. 1989 yılında Ferrara ve Henzel endotel hücre mitojeni olarak tanımladıkları faktörü VEGF olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda bu iki faktörün aynı olduğu bulunmuştur [24].

İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21,3 üzerinde yerleşmiş, 45 KD büyüklüğünde, glikoprotein yapısında heparin bağlayan büyüme faktörüdür. Kodlayıcı bölge ~14 kb'lık bir alan kaplamaktadır ve 8 exon'dan oluşmaktadır. Tek bir pre-mRNA'nın alternatif birleştirilmesi çok sayıda farklı VEGF türünü oluşturur. VEGF, platelet-kökenli büyüme faktörü (PDGF) ailesine mensuptur [34].

Pek çok sitokin ve büyüme faktörü, VEGF mRNA'sını düzenlemekte ya da VEGF salgısını indüklemektedir. Bunlar arasında PDGF, TNF-alfa, TGF-beta, FGF-4, Keratinosit büyüme faktörü (KGF/FGF-7), Epidermal büyüme faktörü (EGF), IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) bulunmaktadır. Bunların çoğu direkt bir angiogenik etkisi yoktur fakat VEGF ve bFGF üzerinde angiogenik aktivite gösterirler. Koagülasyon faktörlerinden faktör VII/VIIa'nın bir reseptörü olan doku faktörünün sitoplazmik kuyruğu da VEGF üretimini regüle eder ve yara iyileşme yerlerinde önem taşıyabilir [34].

VEGF, ovulasyondan önce ovaryum folliküllerinden, ovulasyondan sonra korpus luteumdan salgılanır. İmplantasyonun erken dönemlerinde trofoblastlar tarafından VEGF salgılanır.

Yapılan çalışmalarda yetişkin bireyde VEGF, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde, akciğer alveolar hücrelerinde, hepatositlerde ve beyinde gösterilmiştir [25-27].

VEGF angiogenezde;

1. Nitrik oksit salınımını indukleyerek damar permeabilitesini artırır.
2. Bazal membran ve matriks yıkımını artırır.
3. Angiopietinler sayesinde endotel hücrelerinin farklılaşmasında ve maturasyonunda rol oynar [23,24,104].

Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ailesi ilk olarak 1980'lerde bulundu. Bu aile; VEGF-A(Human-VEGF) , VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, yılan zehri VEGF'si (svVEGF, VEGF-F) ve Plasental büyüme faktörü (PIGF) olmak üzere yedi üyeden oluşmaktadır [23,24,27,28].

VEGF ailesi üyeleri; vücutta angiogenez, vaskülogenez ve kemotaksi gibi fizyolojik kanser, neovasküler hastalıklar ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi patolojik olaylarda rol oynarlar [23-28].

VEGF-A

Human VEGF olarak da adlandırılır. VEGF-A'nın amino asit sayılarına göre isimlendirilen VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189, ve VEGF206 olmak üzere altı adet izoformu bulunmaktadır. VEGF121, hariç hepsi heparine bağlanır. VEGF121, VEGF145 ve VEGF165 salgılandığında diffüze olarak erimiş formları sıvıda saptanabilir. VEGF206, VEGF-A'nın karakteristik formu olup homodimerik yapıdadır. VEGF-A, VEGFR-1, VEGFR-2, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2'ye bağlanarak etki göstermektedir. Yapılan çalışmalarda VEGF-A'nın hipoksi ile aktive olduğu gösterilmiştir. VEGF-A, angiogenez, vaskülogenez ve lenfangiogenezi düzenler. Endotel hücrelerinin büyüme ve farklılaşmasında etkilidir. Nöronları koruyucu etkisi bulunmaktadır. Pro-inflamatuvar etkisi bulunmaktadır. Endotel hücrelerinin apoptozisini engelleyerek hücre devamlılığını sağlamaktadır [23,27,28,104].

VEGF-B

VEGF-B, başlangıçta VEGF-A ile %23'u homolog olan bir sinyal peptidten bölünerek oluşan 167 amino asitli bir proteinden oluşur. VEGF-B, VEGFR-1 ve sVEGFR-1'e bağlanarak etki göstermektedir. Endotel hücre fonksiyonunda, hücre adhezyonu, hücre göçü, monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmasında rol oynamaktadır [27,28].

24 tane obez ve 12 tane normal Zucker ratın kullanıldığı çalışmada, obez ratların 12 tanesi obez kontrol grubu olarak 12 tanesi de obez karnitin grubu olarak kullanılmıştır. Obez karnitin ratlarda oksidatif enzimlerden olan PGC-1 α ve PGC-1 β ekspresyonunun gerçekleştiği görülmüştür. PGC-1 α ve PGC-1 β , VEGF'ler gibi angiogenezi düzenleyebilmektedirler. Çalışmada VEGFA (VEGF α kodlu hali) ve VEGFB (VEGF β kodlu hali) belirlenmiştir. VEGF β , kapiller kalınlığının artmasında, kan perfüzyonunda ve yağ asidi taşıyıcı proteinlerinin ekspresyonunda görev alır. VEGF β , yüksek mitokondri bulunan yüksek oksidatif enerjiye ihtiyaç bulunan iskelet kası, kalp ve kahverengi yağ dokusunda bulunur. PGC-1 α ve PGC-1 β 'nin VEGFB ekspresyonunun düzenlediği ve karnitin verilen obez ratlarda angiogenezi arttırdığı görülmüştür [105].

VEGF-C

VEGF-A ile %16'sı homolog 388 amino asitten oluşan bir proteindir. VEGF-C'ye, VEGF-A benzeri protein de denir. VEGF-C, VEGFR-2 ve sVEGFR-2'YE bağlanarak etki göstermektedir. VEGF-C, lenfatik damarların oluşmasında (lenfangiogenezi) ve yara iyileşmesinde rol oynar. Ayrıca VEGF-C, vasküler ve lenfatik endotelial hücrelere mitojenik etki yapmaktadır [27,28].

VEGF-D

VEGF-D, 334 amino asit içerir. VEGF-A ile %31 oranında homologtur. VEGF-D, VEGFR-2, VEGFR-3 ve sVEGFR-2'ye bağlanarak etki gösterir. VEGF-C gibi lenfangiogenezi etkilidir [27,28].

VEGF-E

VEGF-E, VEGF-A ile %25 oranında homologtur. İnsan dışı canlılarda bulunmaktadır. VEGF-E, VEGFR-2 ve sVEGFR-2'ye bağlanarak etki göstermektedir [27,28].

VEGF-F(svVEGF-F)

Yılan zehri olarak bilinmektedir. İnsanlarda bulunmaktadır. VEGF-F, VEGFR-1, VEGFR-2, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2'ye bağlanarak etki göstermektedir [28].

PlGF

Plasental büyüme faktörü olan PlGF, 152 amino asitten oluşur. VEGF-A ile %37 oranında homologtur. VEGFR-1 ve sVEGFR-1'e bağlanmaktadır [27,28].

VEGF Reseptörleri

VEGF'ler endotel hücrelerinde kendilerine özgül reseptörlere bağlandıkları zaman etki gösterirler. VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 olmak üzere 5 tane reseptör bulunmaktadır [23,28].

VEGFR-1(flt-1) ve VEGFR-2 (flk-1,KDR) ilk bulunan VEGF reseptörleridir. sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 ise hücre dışında bulunan 6 immunoglobulin benzeri domainden oluşmaktadır. Bu reseptörler kanda serbest olarak dolaşabilmektedirler [28].

VEGFR-1

~180 kDa'luk bir glikoprotein olan VEGFR-1 tanımlanan ilk VEGFR'dir. VEGFR-1 yaklaşık 1300 amino asitten oluşur. Bu reseptörler; hücre içinde kalan bir tirozin kinaz domaini ve hücre dışında kalan ligand bağlama bölgeleri içeren 7 adet immunoglobulin (Ig) benzeri domain ve membran katedici bir bölge olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. VEGF-A'ya karşı en yüksek affiniteye sahiptir. VEGFR-1, VEGF-A dışında VEGF-B, PlGF ve svVEGF gibi büyüme faktörlerinin de etkilerine aracılık etmektedir [37].

VEGFR-1, hücre-hücre veya hücre-matriks etkileşimlerinin kontrol edilmesinde, vaskülogenezde ve dokuların şeklinin belirlenmesinde rol oynamaktadır. VEGF'ün etki etmesinde sinyalizasyonu baskılayarak negatif ya da yanıltıcı bir etki gösterebilmektedir. VEGFR-1 ekspresyonundaki bozukluklarda; olgun endotel hücreleri oluşur ancak damarlar aşırı genişler ve yapısal bozukluklar ortaya çıkar [28,36].

VEGFR-2

VEGFR-2 geni, kromozomun 4q11-q12 bölgesinde bulunmaktadır. VEGFR-2 (kinaz-insert domaini-içeren reseptör; KDR) 230 kDa'luk yüksek affiniteli bir VEGF reseptörüdür. VEGFR-2 yaklaşık 1433 amino asitten oluşur. Bu reseptörler; hücre içinde kalan bir tirozin kinaz domaini ve hücre dışında kalan ligand bağlama bölgeleri içeren 7 adet immunoglobulin (Ig) benzeri domain ve membran katedici bir bölge olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. VEGFR-2, fare fetal karaciğer kinazı-I (flk-1) ile %85 oranında ortak bir sekans kimliğine sahiptir [34].

VEGFR-2'ye, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve svVEGF bağlanarak etki gösterirler [27,28].

VEGFR-2; angiogenez, endotel hücrelerinin kemotaksis, proliferasyonu ve migrasyonunda görevlidirler. Yapılan çalışmalarda; VEGFR-2 'nin eksik ya da bozuk eksprese edildiği farelerde hemapoietik prekürsörlerinde ve endotel hücrelerinde çeşitli defektler olduğu görülmüştür [28].

Overektomi yapılan fare uteruslarında verilen 17 beta östradiol sonucunda VEGFR-2 'nin endometrial endotelial hücreleri, stroma ve epitelyum hücrelerini immün olarak boyandığı ve bu hücrelerin genel olarak sitoplazmalarının bazı hücrelerde ise nükleer boyamaların olduğu belirlenmiştir. Bütün örneklerde bez epiteli hücrelerinin stroma hücrelerine göre daha yüksek oranda immün olarak boyandığı ve bazı örneklerde luminal epitelin de boyandığı belirlenmiştir [106].

Embriyo transfer edilmiş kısıraklarda yapılan çalışmada VEGFR-2 için farklı bir immün boyasının gerçekleştiği belirlenmiştir. Anti VEGFR-2 serumu hamile kısıraklarda, luminal ve bez epitel hücrelerinin, endotel hücrelerinin ve daha az olarak stroma hücrelerinin

boyanması ile belirlenmiştir. Menstrual siklustaki bütün deneklerde ise luminal epitel hücrelerinde hiç boyanma gerçekleşmezken sadece luteal fazdaki deneklerde birkaç hücrede hafif boyanma olduğu görülmüş. Bu boyanmanın olmaması folliküler fazda daha belirgin olarak vurgulanmıştır. Stroma hücrelerinde luminal ve bez epitel hücrelerine göre daha düşük yoğunlukta bir boyama olduğu belirlenmiştir. Hamile sıklık kısıraklarda VEGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 mRNA'ları endometriyumda belirlenmiştir. Hamileliğin 21.gününde VEGFR-2 oranının çok yüksek olduğu belirlenmiştir. PCR sonuçlarına göre gebelikle artan vaskülarizasyon döneminde VEGF ve VEGFR-2'nin yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir [107].

Leptin, birçok dokuda bilinen bir mitojenik, inflamatuvar ve angiogenik faktördür ve kanser hücrelerinde VEGF/VEGFR-2 düzeylerinde artışa neden olur. Endometrial kanserlerdeki birçok pro-angiogenik/pro-inflamatuvar faktörler leptin tarafından düzenlenmektedir fakat leptin etkili sinyal mekanizmaları hakkında geniş bir bilgi bulunmamaktadır. Yapılan çalışmada primer endometrial epitel hücreleri dışında bütün hücre hatlarında leptinin VEGFR-2'yi yardığı görülmüştür. Benign-ölümsüz HES hücreleri, leptin uyarımına VEGFR-2 ekspresyonunun artışı ile yanıt vermiştir. Özellikle SK-UT2 hücrelerinde leptin uyarımlı VEGFR-2 de dikkate değer ölçüde artış görülmüştür. Leptin ile yapılan VEGF regülasyonunda, leptinin benign primer endometrial epitel hücrelerinde VEGFR-2 düzeylerinde artışa neden olmadığı belirlenmiştir. Yapılan inhibasyon çalışmaları sonucunda kanser hücrelerinde leptin etkili VEGFR-2 ekspresyonunun artışında JAK2/STAT3, MAPK/ERK1/2 ve mTOR'un alakalı olduğu belirlenmiştir. Bunun tersine bu sinyal yollarından hiçbirisi benign HES hücrelerinde VEGFR-2 ekspresyonunun düzenlenmesinde etkili olmadığı belirlenmiştir ve bu hücrelerde daha sıradan bir sinyal yolağının etkili olduğu öne sürülmüştür [108].

Vahşi toprak sincabının (*Citellus dauricus* Brandt) östrus, erken hamilelik ve üreme olmayan dönemlerinde VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin stromal hücrelerin çekirdeklerinde immünohistokimyasal olarak boyandığı belirlenmiştir. VEGFR-2 ekspresyonunun östrojen ve türevleri ve progesteron seviyesi ile arttığı görülmüştür. Erken gebelik döneminde VEGFR-2, luminal, glandular epitel hücrelerinde, stroma ve epitel hücrelerinde işaretlenmiştir. VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin en yoğun boyanması erken gebelik döneminde görülmüştür. VEGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 seviyelerinin östrus ve erken gebelik döneminde üreme olmayan döneme göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. VEGFR-2

ekspresyonu menstrüel ve erken proliferatif fazda artmaktadır. VEGFR-2, VEGF'nin en yüksek olduğu menstrüel fazda pik yapmıştır. VEGFR-2 için beklenen yüksek düzeydeki fosforilasyon menstrüel fazdadır. İlginç olarak fosforilasyon menstrüel fazın sonlarına doğru pik yaparken proliferatif fazda devamlı olarak düşük olduğu belirlenmiştir [109].

Servikal adenoskuamöz karsinomlu hastalarda yapılan çalışmada 30 hastadan 22'sinde immünohistokimyasal olarak VEGFR-2 pozitif olduğu belirlenmiştir. Hastalardan 6'sında orta dereceli, 16'sında ise kuvvetli immün boyama belirlenmiştir. Pozitif immün reaksiyonlarında malign hücrelerinin sitoplazmalarında boyama belirlenmiştir. Stromal hücrelerde pozitif reaksiyon belirlenmezken, endotelial hücreleri çevreleyen birkaç neoplastik hücrelerde belirsiz bir pozitif boyanma belirlenmiştir. VEGFR-2 ve klinopatolojik verilere göre VEGFR-2'nin yüksek ekspresyonu ile metastaz yokluğunun ilişkisi belirlenmiştir. VEGFR-2 ekspresyonu ile hayatta kalım ile hastalığın tekrarlaması arasında bir ilişki bulunamamıştır [110].

Propionil-L-karnitin'in tavşan arka bacağına oluşturulan iskemi sonrasında revaskularizasyona ivme kazandırdığı, kan akışını iyileştirdiği, damarlı alanın arttığı fakat intramuscular kapillerde angiogenezinin görülmediği, kollateral damarlarda arteriogenezi arttırdığı, endotel hücrelerinin genişlemesini sağladığı, kollateral damarlarda düz kas hücrelerinin yığılması sonucunda intima tabakasının kalınlaştığı ve VEGF ifadenmesini azalttığı görülmüştür. Ayrıca Propionil-L-karnitin'in fare hava torbalarındaki ve tavuk koriyoallontoik membrandaki damarlanmayı arttırdığı görülmüştür [103].

NRP1, VEGF165 için bir ko-reseptör şeklinde etki ederek bu isoformun VEGFR-2'ye bağlanmasını ve bioaktivitesini arttırmaktadır. TNF-alfa tarafından hem NRP1 hem de VEGFR-2 düzenlenmektedir. NRP1 VEGFR-2'nin VEGF165'e bağlanmasını engeller. VEGFR-2 ve NRP1 birbirlerinin VEGF165'e bağlanmasını inhibe etmektedir. Eğer VEGF165'e VEGFR-2 bağlanırsa NRP1 bağlanamaz, NRP1 bağlanırsa VEGFR-2 bağlanamaz [111].

Yapılan çalışmalarda çözünabilir decorinin endotel hücre membranındaki VEGFR-2'ye bağlanarak Akt/mTOR/p70S6K anti-otofaji yolunu inhibe edip AMPKα'yı aktive ederek Vps34/Beclin 1 ve Peg3'u aktive ederek endotel hücre otofajisini indüklediği görülmüştür. Bir neoandrographolide olan A5'in VEGF indüklemeli HUVECs proliferasyonunu inhibe

ettiği görülmüştür [112] .

Ayrıca A5 ve diğer bütün andrographolidlerin VEGFR-2 fosforilasyonunu inhibe ederek anti angiogenik etki gösterdikleri belirlenmiştir. AMPK'ler hücre çoğalması, değişimi ve ölümünde etkilidir. AMPK, VEGFR-2 sinyallerin aşağı yönde çeker ve AMPK sinyallerini durdurarak decorin uyarımlı ötofajiyi inhibe eder. Önemli iki AMPK olan ERK1/2 ve p38, VEGFR-2'nin sinyallerini aşağı yönde çekerek angiogenesiste VEGF-indüklü hücre çoğalması ve göçünde önemli rol oynamaktadır. A5 ve andrographolideler tarafından ERK1/2 ve p38 sinyalleri inhibe edilmektedir [113].

VEGFR-2'yi bloke etmek için kullanılan sunitinib ve DC101 tedavileri sonucunda metastatik adenokarsinomalarda (ADC) hücre proliferasyonunda ve hayat kurtarıcı etkileri olduğu görülmüştür. Ayrıca skuamöz hücre karsinomunda(SCC) anti-VEGFR-2 tedavileri sonucunda SCC tümör hücrelerinde hiperproliferasyon görülmüştür. Anti-VEGFR-2 terapilerinin hücre çoğalmasını indüklediği ve SCC hücre hatlarında sağ kalım etkilerinin olduğu görülmüştür [114].

VEGF ve VEGFR-2, leptin-Notch'un çapraz olarak karışması ile düzenleniyor olabilir. VEGF ve VEGFR-2, IL-1 sinyalleri üzerinde etkilidir. Notch, IL-1ve leptin çapraz olarak karışması sonucunda (NILCO), meme kanserinde leptinin proangiogenik, proinflamatuvar ve proliferatif etkileri için mutlaka gereklidir. Üçlü negatif meme kanseri (TNBC) sitoplazmalarının çoğunda leptin belirlenmiştir. TNBC stromalarında Notch ve VEGFR-2 immünreaktifleri olduğu görülmüştür. TNBC, ER- (östrojen) ve ER+ meme kanseri stromalarında Notch 1 ve Notch 4 ekspresyonu düşükken VEGFR-2 ekspresyonunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir [115].

Yapılan çalışmalarda prostat kanserinin tedavisinde kullanılan axitinib ve crizotinibin VEGFR-2 inhibitörü olduğu belirlenmiştir [116].

Bir çalışmada VEGFR-2 polimorfizminin, kontrollü ovarian hiperstimulasyonu (COH) olan hastalarda ovarian hiperstimulasyonu sendromunun gelişmesinde bir risk olabileceği bildirilmiştir. γ -tocotrienol, vitamin E'nin bir isoformudur. Bir başka çalışmada γ -tocotrienol'un VEGFR-2 aktivasyonunu inhibe ettiği anti-angiogenik etki gösterdiği görülmüştür. γ - tocotrienol'un endotel hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu, invazyonu,

tümör vaskülarizasyonu ve kapiller benzeri yapıların oluşumunda durdurucu etki gösterdiği görülmüştür [117].

Endotelial progenitör hücreler(EPC), CD133⁺/CD34⁺/VEGFR-2⁺ yüzey markerlarına sahiptirler. CD133⁺/CD34⁺/VEGFR-2⁺, hemapoietik öncüllerden oluşan antijenlerdir ve endotel hücre formunun oluşumunda etkilidirler. Yapılan çalışmada bu antijenlerin, kardiyovasküler risk faktörleri ve diğer durumlarda, doku iyileşmesinde ve diğer dokular tarafından parakrin onarımda etkili oldukları düşünülmüştür. [118].

Diabetik erkek ratlarda arka bacakta iskemi sonrasında, sadece Astragalus polisakkarit (APS) ya da sadece endotelial progenitör hücre (EPC) ya da bunların kombinasyonu ile yapılan uygulamalarda VEGF/VEGFR ve Ang-1/Tie-2 sinyallerinin hepsinin aktive olduğu ve VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2, Ang-1ve Tie-2'nin yeniden düzenlendiği görülmüştür [119].

Rab GTPazlar, endozom- plasma membran geri dönüşümünde rol oynarlar. Erken endozomlarda VEGFR-2, Rab4a'nın ko-lokalizasyonunda rol oynamamaktadır. Fakat guanosin difosfat (GDP)-bağlı Rab4a S22N mutantlarının ekspresyonu VEGFR-2 ile endozomların ilişkisini arttırmaktadır. Azalmış Rab4a seviyeleri, VEGF-A bağımlı intraselüler sinyalleri düzenlemektedir. Azalmış Rab4a ya da Rab11a, VEGF-A etkili endotelial hücre göçünü inhibe etmektedir. Bunun tersine Rab4a seviyeleri, VEGF-A'nın düzenlediği endotel hücre proliferasyonunda etkilidir. Rab4a ve Rab11a, endotelial tübülogenesiste gereklidir. Rab bağımlı endosom-plazma membran geri dönüşümünde VEGFR-2, hücre içi sinyallerinde, hücre göçünde ve devam eden angiogeneziste hücre proliferasyonunda önemlidir [120].

Ratlarda serebral iskemi modeli olarak middle cerebral artery occlusion (MCAO) uygulanmış, felçten 3 gün sonra VEGFR-2 ekspresyonunun arttığı ve 7. günde en üst seviyeye ulaştığı görülmüştür. İnfarktattan 14 gün sonra, VEGFR-2 seviyelerinin arttığı, periinfarkt alanlarında vasküler volumun arttığı ve VEGFR-2'nin yeniden başarılı bir vasküler yapılanma için sinyalleri aktive ettiği belirlenmiştir [121].

Leiomyosarkoma hücre hatları ve leiomyosarkoma hastalarında VEGFR-1 ve VEGFR-2, PDGFR kinaz ailesi, VEGF-A ve PDGF-BB, tümör için besin sağlanmasında anahtar rol

oynamaktadır. VEGFR'nin düşük moleküler ağırlıkta inhibitörü olan PTK787 leiomyosarkoma hücre hatlarında hücre proliferasyonu ve hücrenin sağkalımında etkili olan sinyal yollarını inhibe ederek hücre ölümüne neden olmaktadır. Elde edilen sonuçlardan dolayı, PTK787'in leiomyosarkoma hastalarında yeni bir terapötik seçenek olacağı düşünülmektedir. Fakat, PTK787 ve bevacizumab gibi angiogenezi bloke eden ilaçların kemoterapi için yapılan klinik çalışmaları çok etkili olmamıştır [122].

Sebze ve meyvelerde bol bulunan bir anthosiyanidin olan delphinidin, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (NSCLC) etkili bir EGFR ve VEGFR-2 inhibitörüdür. İn vivo ve in vitro çalışmaların sonucunda delphinidinin insan NSCLC hücrelerinde proapoptotik, anti-angiogenik ve anti-tümörogenik etkileri olduğu ve EGFR/VEGFR-2 seviyelerinin düştüğü görülmüştür. Delphinidinin bu etkileri EGFR ve VEGFR-2 sinyal yollarını inhibe ederek gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca delphinidinin, sağlıklı hücrelerde toksik etki gösterebildiği görülmüştür [123].

Tryptanthrinin insan mikrovasküler endothelial hücrelerinde (HMEC-1) proliferasyonu, migrasyonu ve tüp formunun oluşmasını engellediği ve farelerde angiogenezi engellediği görülmüştür. Ayrıca Ang-1, PDGFB ve MMP gibi proangiogenik faktörlerin ekspresyon seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir. Tryptanthrin, HMEC-1 hücrelerinde VEGFR-2'nin ATP bağlayıcı kısmı olan Tyr1175'e bağlanıp VEGFR-2 aracılığıyla ERK1/2 sinyal yollarını baskılayarak angiogenik aktiviteleri engellemektedir [124].

Thrombospondin-1(TSP-1)'in de CD47 yolu ile VEGFR2'nin Tyr 1175 kısmına bağlanarak fosforilasyonu önleyerek angiogenezi engellediği belirlenmiştir [125].

Üçlü negatif akciğer kanseri hastalarında yapılan çalışmalarda c-KIT, VEGFR-2 ve PDGFRα tirozin kinaz seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir [126].

Acyclovir (ACV), etkili bir antiviral ajandır. ACV, böbreklerde nefrotoksititeye neden olabilmektedir. 9 gün boyunca ACV uygulanan farelerin böbreklerinde tübül atrofi ve hiperplazi, inflamatuvar hücreler tarafından oluşan intersistial infiltrasyon, tübül lümen değişimi gibi histopatolojik değişimler oluşmaktadır. Ayrıca farelerde VEGF ve VEGFR-2 ekspresyon seviyesi azalmaktadır. ACV nefrotoksitesinde, FGF ve VEGF'nin doku onarımında ve yenilenmesinde rol oynayabileceği belirtilmektedir [127].

Endotelial koloni formu hücreleri (ECFCs), insan periferik mononükleer kan hücre (hPBMNBC) fraksiyonları ve yüksek proliferasyon ve pro-vasküler aktivite ile karakterizedir. Endotelial koloni formu hücrelerinden, yüzey proteini proteaz aktiviteli reseptör (PAR) 1 ve 2 eksprese edilmektedir. PAR 1 kan damarlarının tüp formunun oluşmasını engellemektedir. Yapılan çalışmada, PAR 1'in endotelial koloni formu hücrelerinde VEGFR-2 ifadenmesini düzenlediği belirlenmiştir. PAR1 aktivitesi arttığında VEGF ve VEGFR-2 ekspresyonunun azaldığı görülmüştür [128].

Yapılan bir çalışmada farelerde VEGF-nöropilin birbirene bağlı olduğu mutantlar oluşturulmuş. Çalışmada neuropilin-VEGF bağlı mutantlarda normal vaskülerogenin ve angiogenezin devam ettiği görülmüştür. Ancak neuropilin hücrelerde VEGFR-2 için bir kofaktör gibi davranarak VEGFR-2 ifadenmesini azalttığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda neuropilin, VEGFR-2'nin hücre membranındaki seviyelerini kontrol ettiği ve vasküler gelişme sırasında VEGFR-2'nin yüzeyde ekspresyonunu düzenlediği görülmüştür [129].

Antioksidan etkisi olan safran ve elektromanyetik alanların (EMF) birlikte kullanıldığında insan akciğer kanseri hastalarında VEGFR-2 gen ekspresyonunda azalmalar gözlenmiştir [130].

IMC-IC 11 (Imclone), VEGFR-2'yi hedef alan bir antikordur. Yapılan çalışmalarda IMCIC-11'in epidermal karsinom, prostat kanseri, gliom, akciğer kanseri, meme kanseri, fibrosarkom ve malign melanom kanserlerinde angiogenezini inhibe ettiği ve tümör boyutunda küçülmeye neden olduğu belirlenmiştir [104].

VEGFR-3

VEGFR-3 (Flt-4), reseptör tirozin kinazların flt alt-ailesinin bir üyesidir. VEGFR-3 (flt-4), VEGFR-1 ve VEGFR-2' den farklı olarak hücre dışında 6 immunoglobulin benzeri domaine sahiptir. Bu domainler 4'lu ve 2'li olmak üzere iki grup halindedir. Bu gruplar birbirine bağlanmış şekildedir. Bu reseptöre VEGF-C ve VEGF-D bağlanmaktadır. Bu reseptör lenfatik damarların gelişiminde rol alan lenfangiojenezde rol oynar. Ayrıca yapılan çalışmalarda VEGFR-3'un lenfatik metastazda da görev aldığı görülmüştür [28].

sVEGFR-1

sVEGFR-1 hücre dışında bulunan 6 immunoglobulin benzeri domainden oluşmaktadır. Bu reseptörler kanda serbest olarak dolaşabilmektedirler. VEGFR-1'in çözünebilir formudur. sVEGFR-1'e VEGF-A, VEGF-B, svVEGF ve PlGF büyüme faktörleri bağlanmaktadır. Bu reseptör, VEGFR-1'in kompetatif inhibitörü olarak etki gösterir. Dolaşımda bulunan VEGF, sVEGF'ye bağlanınca VEGFR-1'e bağlanamaz ve inaktif olup etki gösteremez. Yapılan bir çalışmada, meme kanseri, beyin iskemisi ve preeklamps gibi patolojik olaylarda kanda yüksek miktarda sVEGFR-1 bulunmuştur [28].

sVEGFR-2

sVEGFR-2 ise hücre dışında bulunan 6 immunoglobulin benzeri domainden oluşmaktadır. sVEGFR-2, 97 amino asitten oluşmaktadır. Bu reseptörler kanda serbest olarak dolaşabilmektedirler. Angiogenezi engelleyici rolü olduğu ve sVEGFR-1'e benzer etki gösterdiği düşünülmektedir [28].

Pazopanib verilen hastalarda sVEGFR-2 seviyelerinin düştüğü ve sağ kalımların arttığı gözlenmiştir. sVEGFR-2 'nin VEGF ve multi kinaz inhibitörlerde potansiyel bir belirteç (marker) olabileceği düşünülmektedir [131].

Dallı amino asit zincirleri (BCAA); lösin, iso-lösin ve valin olmak üzere üç önemli amino asiti içerir. İnsülin dirençli hepatosellüler karsinomlarda (HCC) BCAA, VEGF ve sVEGFR-2 ekspresyonunu baskılayarak anti-angiogenik etki göstermiştir. İnsülin dirençli hepatosellüler karsinomlarda sVEGFR-2, BCAA tedavilerinde önemli bir belirteç olarak kullanılabilir [132].

Akut miyeloid leukemi ve miyelodisplastik sendromlu hastalarda yapılan çalışmalarda sVEGFR'ler leukemik angiogeneziste, hastanın sağ kalmasında ve gelecekteki antiangiogenik tedavinin düzenlenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir. Farmokinetik ve farmodinamik anti-VEGFR ajanları kullanılırken, sVEGFR'lerin plazma konsantrasyonları mutlaka ölçülmeli ve dikkate alınmalıdır [133].

Glioblastoma hastalarında yapılan çalışmada, kemoradasyon ile verilen cediranib PIGF seviyelerini arttırırken sVEGFR-2 seviyelerinin düşmesine neden olmuştur. Anti-VEGF ajanları , tümör vasküler densitesinde ve kan perfüzyonunda düşmelere neden olmaktadır. Glioblastoma hastalarındaki PIGF seviyelerindeki artış sVEGFR-2 seviyelerindeki düşmenin kan perfüzyonundaki azalma ile alakalı olduğu düşünülmektedir. sVEGFR-2, VEGF'ün çalışmasını ve VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3'ün hücre membran ligandlarına bağlanarak VEGF indüklü sinyal yollarını ve angiogenezi inhibe etmektedir [134].

Faz II hepatosellüler karsinomlu hastalarda yapılan çalışmada, bir pan-VEGFR tirozin kinaz inhibitörü olan cediranib kullanılmış ve bu tedavi sonucunda VEGF ve PIGF plazma konsantrasyonları artarken, sVEGFR-1, sVEGFR-2 ve Ang-2'nin plazma konsantrasyonlarında azalma olduğu belirlenmiştir [135].

Bir başka çalışmada araştırmacılar sVEGFR'nin hipoksi responsive element (HRE) düzenleyici promoteri bulunan vektörü dizayn edilmiş. Vektörde mCherry ve IFPI.4 kodlarının sekansları oluşturulmuş. Daha sonra bu plasmid insan embriyonik böbreği HEK293 ve murine B16F10 melanoma hücrelerine transfekte edilmiş. Genin hipoksik ortamlarda HRE promoteri ile düzenlediği belirlenmiş. sVEGFR-2, sadece murine ve insan VEGF-A'sına bağlanıp, gelişmekte olan tümör ve endotelial hücrelerde gerilemeye neden olduğu ve angiogenisizi düzenlediği belirlenmiştir. B16F10 melanoma hücrelerine transfekte edildiğinde tümör angiogenezisini inhibe ettiği ve tümörün gerilediği belirlenmiştir. sVEGFR-2'nin, hipoksi kontrollü halinde bir angiogenezis düzenleyici olabileceği düşünülmektedir. Bu sayede tümör damarlarının kontrollü şekilde normal haline gelmesinde ve kombine kanser terapilerinde sVEGFR-2'nin yeni avantajlar sağlayabileceği düşünülmektedir [136].

OSI-930, küçük ve ağızdan alınan bir VEGFR, c-Kit ve PDGFR tirozin kinaz inhibitörü olan bir moleküldür. Bir çalışmada gastrointestinal tümöre sahip hastalara OSI-930 belirli dozlarda verilmiş. Hastalarda sVEGFR-2 seviyelerinin düştüğü ve ekspresyonunun inhibe edildiği görülmüştür. Ayrıca sunitinib, pazopanib ve cediranib gibi diğer VEGFR-2 ve sVEGFR-2 inhibitörlerinin toksik yan etkilerinin tam tersine OSI-930'un etkilerinin daha tolere edilebilir olduğu görülmüştür [137].

AIDS ve Sjogren sendromu gibi birçok immün disregülasyon ve immün sistemin baskılanması durumları non-Hodgkin lenfoma (NHL) için bir risk faktörüdür. 55-74 yaş aralığında NHL tespit edilmiş 301 hastadan kan örnekleri alınmış. 8-13 yıl sonra bu kişilerden ve ayrıca 301 kişinin oluşturduğu kontrol grubundan kan örnekleri toplanmış. Kontrol grubu; prostat, akciğer, kolorektal ve ovarian kanser görüntüleme deneklerinden seçilmiş. Çalışmada 67 immün ve inflamasyon markerına bakılmış. Çalışma sonucunda BCA-1, sTNFR2 ve sVEGFR-2'nin NHL riski ile ilişkili olduğu belirlenmiştir [138].

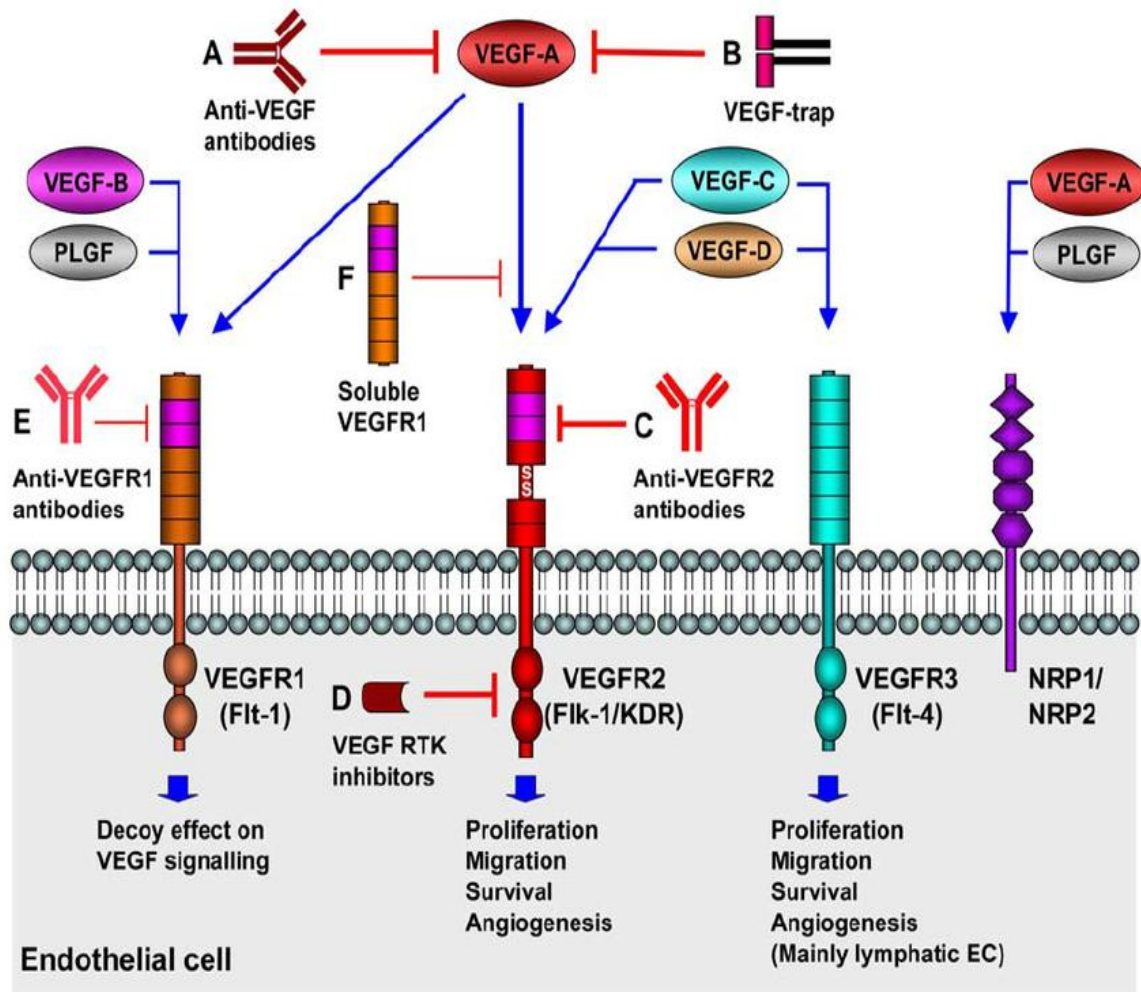
Akut akciğer hasarı (ALI) ve akut solunum sıkıntısı sendromunda (ARDS), endotel ve alveol epitel bariyerlerinde oluşan hasar sonucunda mikrovasküler permabilite artmakta ve proteinden zengin alveolar ödem oluşmaktadır. VEGF/VEGFR ve Ang2/Tie2 yolları angiogenezde ve mikrovasküler permabilitede çok önemli rol oynamaktadırlar. ALI ve ARDS hastalarında yapılan çalışmada, kontrol grubuna göre daha düşük seviyede sVEGFR-2, yüksek sVEGFR-1 ve Ang2 seviyesi ve artmış Ang2/Ang1 oranının ALI/ARDS hastalarında oluşan kritik hastalıklar, sepsis gelişimi, birçok travma ve post kardiyak arrest sendromu (PCAS) ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. sVEGFR-2 ve Ang2, ALI/ARDS gelişen kritik hastalarda serbest ön göstergeler olarak belirlenmiştir. sVEGFR-2 ve Ang2 belirlenen kritik ALI/ARDS hastalarında 28 gün sonra ölüm gerçekleşmiştir. Ang2 ama özellikle sVEGFR2'nin ALI/ARDS gelişmekte olan kritik hastalarda çok önemli bir rolü olduğu ve ALI/ARDS hastalarında 28 gün sonra oluşacak ölüm için bir öngörü oluşturabileceği belirlenmiştir [139].

VEGF reseptörlerine benzer olarak endotele özgü olan Tie (İmmunoglobulin ile birlikte tirozin kinaz ve epidermal büyüme faktörü homoloğu) reseptör ailesi de yeni damar oluşumu ile ilgilidir. Tie1 ve Tie2 reseptörleri selektif olarak endotel hücreleri üzerinde bulunur ve embriyonik vasküler yapının oluşumu için gereklidirler. Bu reseptörler endojen angiogenez aktivatörü olan Angiopoietin-1 (Ang-1)'in reseptörleridir. Ang-1 kapiller damarları güçlendirir, perisitleri stabilize ederek endotel hücre yaşam süresini artırır ve yeni oluşan vasküler yapıyı güçlendirir. Ang-1, Tie2 reseptörü için doğal bir agonist iken Ang-2, endotel hücreleri için antagonist etki gösterir. Ang-1, VEGF gibi endotel hücreleri için mitojenik etki göstermeden, endotel hücrelerinin kendi aralarındaki ve çevredeki düz kas, perivasküler alan ya da ekstraselüler matriks ile olan ilişkisini güçlendirir. Ang2 ise Ang-1'e ters etki olarak damarları destabilize eder ve yeniden damar yapılan bölgelerde artmış olarak bulunur [104].

Nörofilinler: VEGF165'e bağlanırlar. NRP-1, collapsin/semaphorin ailesinin belirli üyeleri için nöronal bir reseptördür. 120 – 130 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. NRP1'in tümör kökenli hücreler ve endotel hücreleri de dahil olmak üzere çok geniş bir doku dağılımı mevcuttur. Embriyonik nöronlar üzerinde bulunan NRP-1 akson büyümesinin kontrolünden ve semaphorin ailesinden olan belirli üyelerin bağlanması yoluyla akson büyümesine kılavuzluk etmektedir [34].

NRP1, VEGF165 için bir ko-reseptör şeklinde etki ederek bu isoformun VEGFR-2'ye bağlanmasını ve bioaktivitesini arttırmaktadır. TNF-alfa tarafından hem NRP1 hem de VEGFR-2 düzenlenmektedir. NRP1 VEGFR-2'nin VEGF165'e bağlanmasını engeller. VEGFR-2 ve NRP1 birbirlerinin VEGF165'e bağlanmasını inhibe etmektedir. Eğer VEGF165'e VEGFR2 bağlanırsa NRP1 bağlanamaz, NRP1 bağlanırsa VEGFR-2 bağlanamaz [140].

VEGF-A, PKGF-2, SEMA ve VEGF165'e bağlanır. NRP1 reseptörü angiogenez, vaskülogenez ve sinir sisteminin gelişimi gibi çok çeşitli yerlerde rol oynamaktadır. VEGF165 periferik sinir sistemindeki hücrelerin proliferasyonu ve hayatta kalımını ve aksonal büyümeyi düzenleyen nörotrofik bir faktör şeklinde etki edebilmektedir. Semaphorin Sema III (NRP1'e bağlanır ve akson mobilitatesini inhibe eder) aynı zamanda endotel hücre motilitesini de inhibe etmekte ve NRP1'e bağlanmak için VEGF165 ile yarışmaktadır [34].



Resim 2.4. VEGF ve VEGFR çeşitleri (Li,2009).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın deneysel bölümü Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi GÜDAM’ da gerçekleştirildi. Merkezden temin edilen 250-300 gr ağırlığında erişkin 24 adet dişi Wistar Albino rat kullanıldı. Çalışmada uterinal siklus evreleri göz önüne alınmadan randomize çalışıldı. Her bir rata ketamin (50mg/ kg i.m) ve xylazine (9mg/kg i.m) ile anestezi uygulandı. Sıçanlar sırtüstü pozisyonda yatırılıp orta hattan yaklaşık olarak 2,5 cm laparotomi uygulanarak uterusları çıkarıldı ve denekler dekapite edildi. Alınan uteruslar rastgele 4 gruba ayrıldı:

1. grup; HTK - 4 saat
 2. grup; HTK + asetil-L-karnitin (10^{-8} M) - 4 saat
 3. grup HTK - 24 saat
 4. grup HTK + asetil-L-karnitin(10^{-8} M) - 24 saat
- 1.gruptaki uteruslar 4 saat boyunca 4°C’ lik soğuk periyodunda yalın HTK çözeltisinde bekletildi.
2. gruptaki uteruslar 4 saat boyunca 4°C’ de HTK + asetil-L-karnitin solüsyonunda bekletildi.
3. gruptaki uteruslar 24 saat boyunca 4°C’ de yalın HTK çözeltisinde bekletildi.
4. gruptaki uteruslar 24 saat boyunca 4°C’ de HTK + asetil-L-karnitin solüsyonunda bekletildi [5].

3.1. Histokimyasal yöntem

4 saat ve 24 saat bekleme süreleri tamamlan uteruslar bistüri ile histolteknik kurallara uygun olarak küçültülerek %10’ luk nötral formaldehitte 72 saat tespit edildi. 24 saat akarsuda yıkanan doku örnekleri dehidratasyon için dereceli alkol serilerinden geçirildi.

- | | | |
|---|-----------------|-------|
| • | % 70 etil alkol | 20 dk |
| • | % 80 etil alkol | 20 dk |
| • | % 96 etil alkol | 20 dk |
| • | Aseton I | 20 dk |
| • | Aseton II | 20 dk |

- Aseton III 20 dk
- Aseton IV 20 dk
- Ksilol I 30 dk
- Ksilol II 30 dk
- 60°C'lik etüvde erimiş parafin I 1 saat
- Parafin II 1 saat
- Parafin içinde bloklama

Alınan 4µm kalınlığındaki kesitler 60 °C lik etüvde 2 saat bekletildikten sonra 2x20 dakika ksilolde bekletildi. Daha sonra rehidratasyon için azalan alkol serilerinden geçirildi.

- 10 dakika %100 alkol
- 10 dakika %96 alkol
- 10 dakika %80 alkol
- 10 dakika %70 alkol
- 10 dakika %50 alkol
- 10 dakika akarsuda yıkandı.
- 10 -15 dakika Harris Hematoksilende bekletildi.
- 10 dakika akarsuda yıkandı.
- (%70 alkol+ 2-3 damla glasiyel asetik asit) karışımına batırılarak 2-3 dip yapıldı.
- 10 dakika akarsuda yıkandı.
- 5-10 dakika Eozinde bekletildi.
- 10 dakika akarsuda yıkandı.
- Daha sonra hızlıca artan alkol serilerinden geçirildi.
- %50' lik alkolde 2 kez batırılıp çıkarıldı.
- %70' lik alkolde 2 kez batırılıp çıkarıldı.
- %80' lik alkolde 2 kez batırılıp çıkarıldı.
- %96' lık alkolde 2 kez batırılıp çıkarıldı.
- %100' luk alkolde 2 kez batırılıp çıkarıldı.
- 2x15 dakika Ksilolde bekletildi.
- Entellan ile kapatılarak histopatolojik olarak Leica DM 4000 fotoşık mikroskobunda değerlendirildi.

3.2. İmmünohistokimyasal yöntem

İmmünohistokimyasal boyamalar için 4 µm kalınlığında polilizinli lamlara alınan kesitler 37°C’ deki etüvde 45 dakika bekletildi. Lamlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 20’şer dakika ksilende bekletildi. Daha sonra 10’ar dakika sırasıyla %100, %96,%90, %80 ve % 70’lik alkol serilerinden geçirildi. Rehidrate edilen dokuları alkolden arındırmak için kesitler 2 kez 5’er dakika distile sudan geçirildi.

Daha sonra doku içerisinde formaldehit’in kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla, dokulara sitrat tamponu (pH 6.0) ile mikrodalga fırında retriever işlemi uygulandı. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki dokular 20 dakika dışarıda soğumaya bırakıldı. Daha sonra dokular sitrattan arındırılmak için 2 kez 5’er dakika distile sudan geçirildi. Dokuların etrafı PAP-Pen ile çevrilerek nemli ortam olan immünohistokimya barına dizildi. Dokular 3 kez 3’er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (Ph:7,4) ile yıkandı. Daha sonra, 8 dakika %3’lük hidrojen peroksit (Genemed Biotechnology, Cat: 10-0056, Lot: 31221197, Hannover, Germany) ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında PBS ile camlar yıkandı. Yıkanan camlara 8 dakika UltraV block (Genemed Biotechnology, Cat: 54-0003, Lot: 40522067, Hannover, Germany) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemten sonra dokular yıkanmadan primer antikör aşamasına geçildi. 1/100 oranında hazırlanan VEGFR2/Flk1/KDR (C-20) primer antiköründe (RB-1526-P Lab Vision) 20 dakika inkübe edildi. Primer antikörden sonra camlar 3 kez 3’er dakika PBS ile yıkandı. Daha sonra 8 dakika biotinsiz sekonder antikör (Genemed Biotechnology, Cat: 54-0003, Lot: 40522067, Hannover, Germany) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. İşlem sonunda dokular yine 3 kez 3’er dakika PBS ile yıkandı.

Son olarak dokulara diaminobenzidin (DAB) substratı içeren DAB kromojeni (Cat no: TA-125-HD, Lot: HD31722, Lab Vision, Fremont, CA, USA). damlatılarak 10 dakika bekletildi ve gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. Zemin boyası olarak Mayer Hematoksilen’i kullanıldı. DAB ile boyanan lamlar azalan alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında 20 dakika ksilende bekletilerek entallan damlatılıp lamel ile kapatıldı.

3.3. İstatiksel yöntem

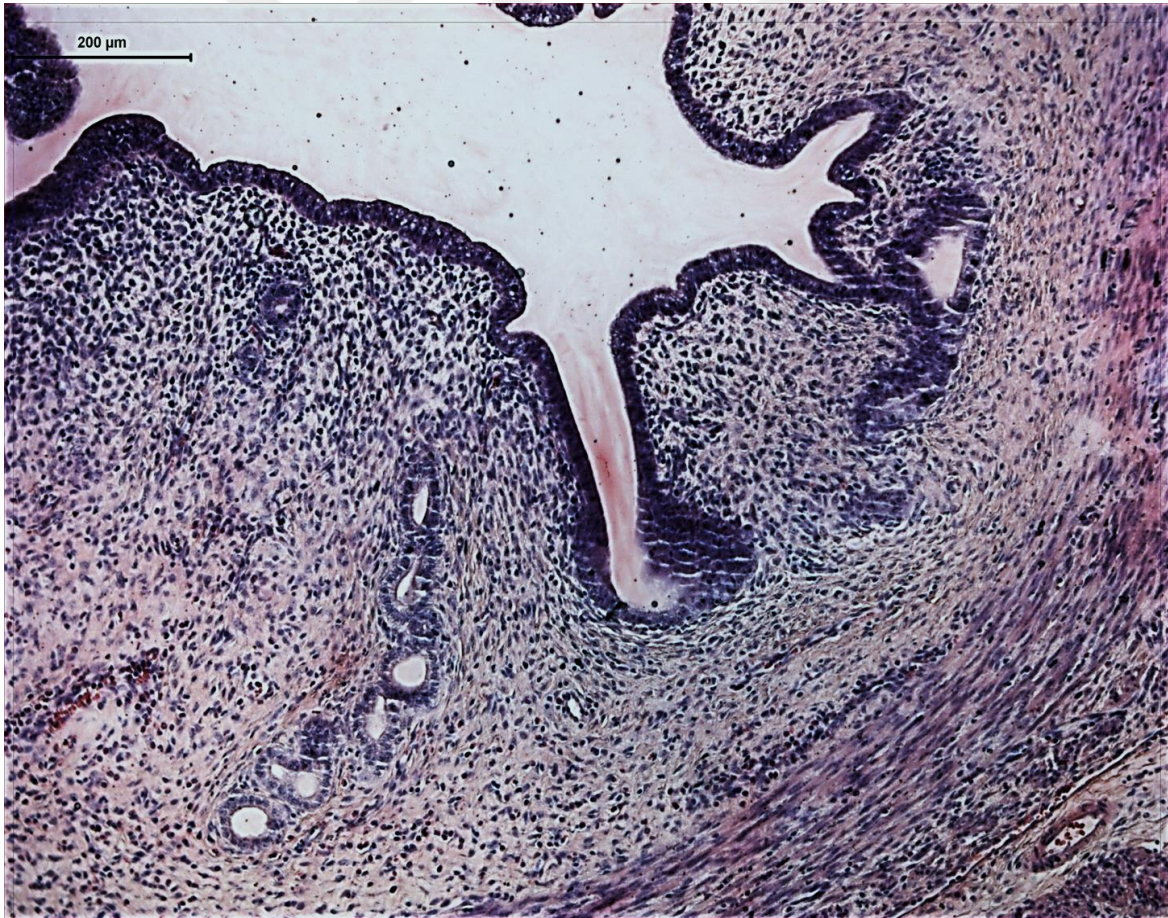
Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu grafiksel olarak ve Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım şartını sağlamayan nonparametrik değişkenlerin karşılaştırılması için Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Fark bulunduğunda farklı grubu belirleyebilmek için Mann-Whitney testi ile ikili karşılaştırmaları yapıldı. İstatistiksel analiz ve hesaplamalar IBM SPSS Statistics 21 (IBM Corp, NA, USA) ve MS-Excel 2013 ile yapıldı. İstatistiksel kararlarda $p \leq 0.05$ anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

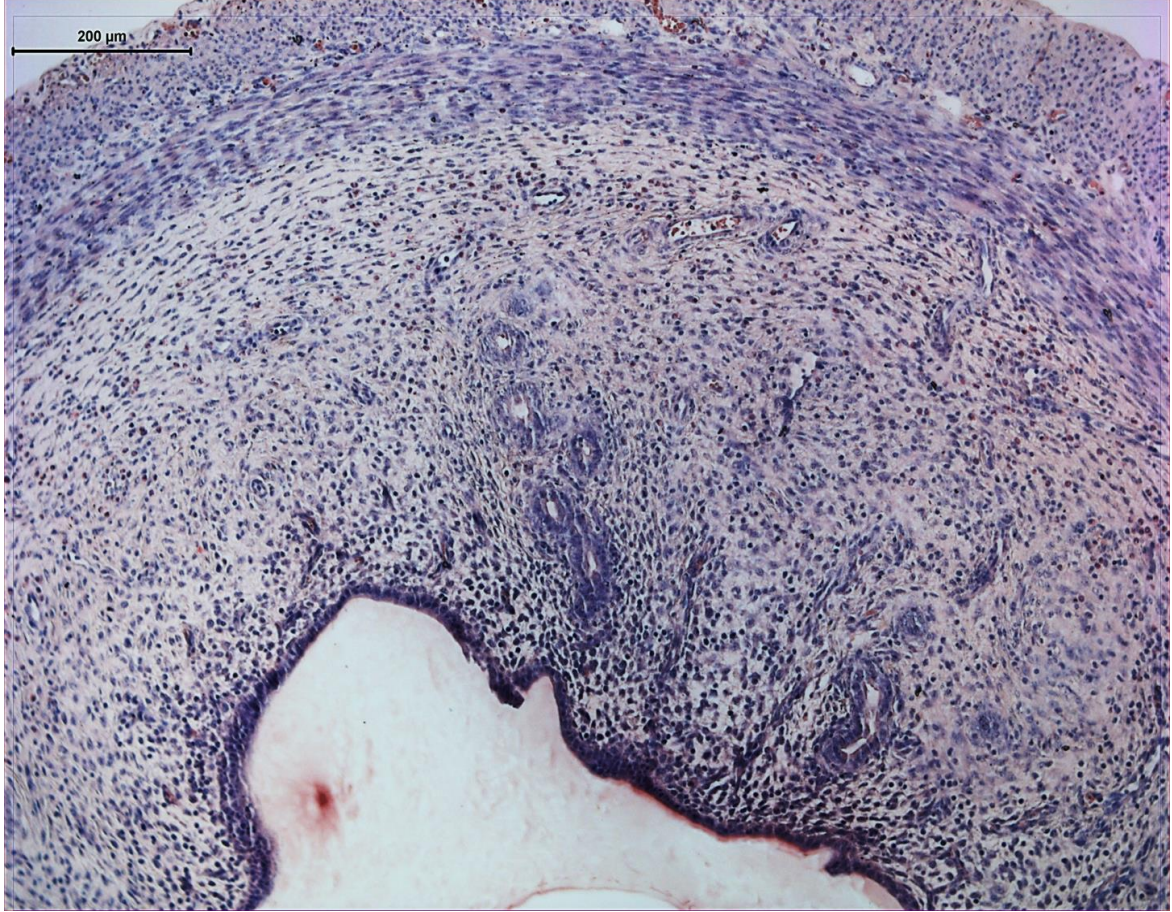
4.1.Histolojik Bulgular

+4° C de soğuk saklama koşullarında HTK solüsyonunda 4 saat bekletilen uterus dokularında küçük büyültmelerde uterusun tüm katmanlarının normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi (H&E, X40,X100). Büyük büyültmelerde tek katlı prizmatik uterus epitelinin devamlılığını koruduğu bazal membran epitel bağlantılarının normal olduğu, endometriumda yer alan stromal doku ve endometrial bezler ile endometrial damar yapılarının normal histolojik karakterde olduğu gözlemlendi. Bu grupta myometrium kas tabakası ve tunika adventisia tüm yapılarıyla normal histolojik özellik göstermekteydi (Resim 4.1).



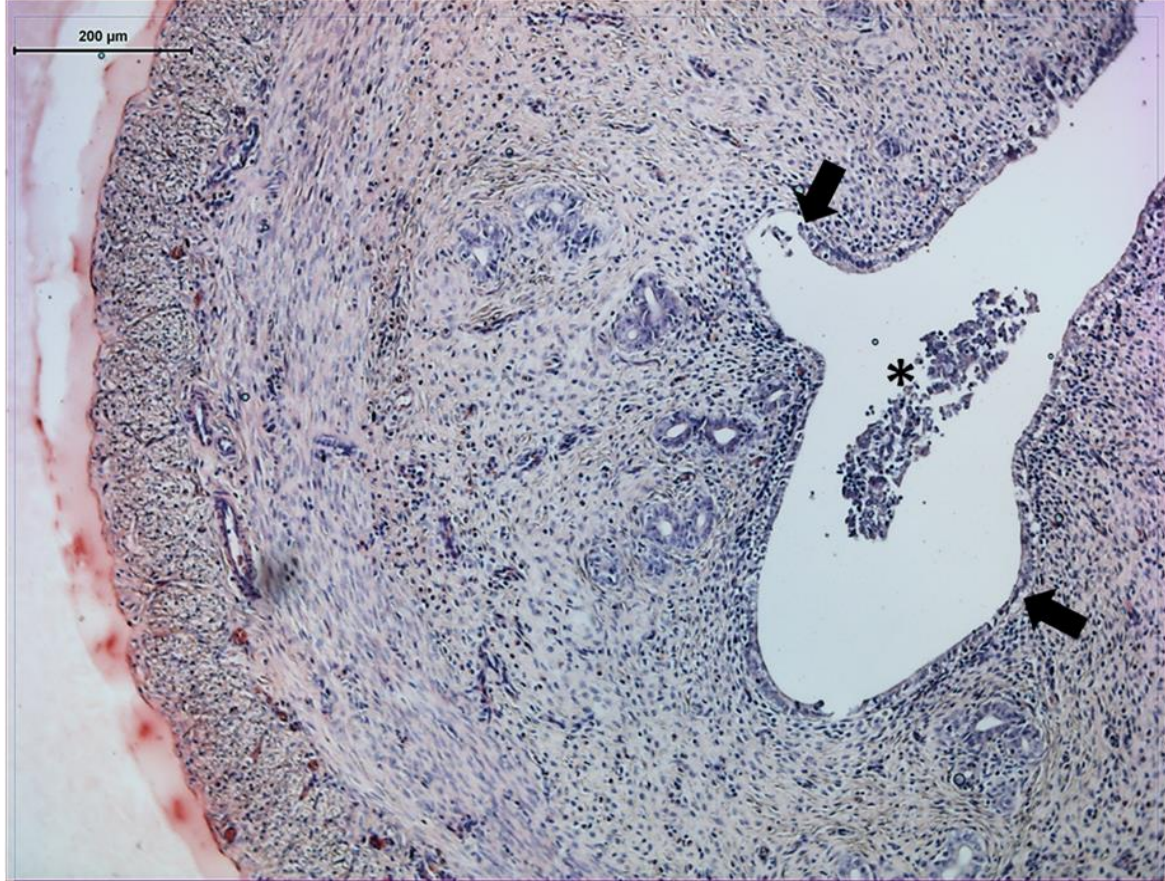
Resim 4.1. Grup 1'e ait histolojik inceleme. Normal mikroskopik görünüm (H&E, X100).

+4° C de soğuk saklama koşullarında HTK' a eklenen asetil-L-karnitin de 4 saat bekletilen grupta küçük ve büyük büyültmelerde (H&E, X40, X100) uterusun tüm histolojik katmanlarında yer alan hücre ve doku elemanları 4 saat yalın HTK grubu bulguları ile özdeşti (Resim 4.2).



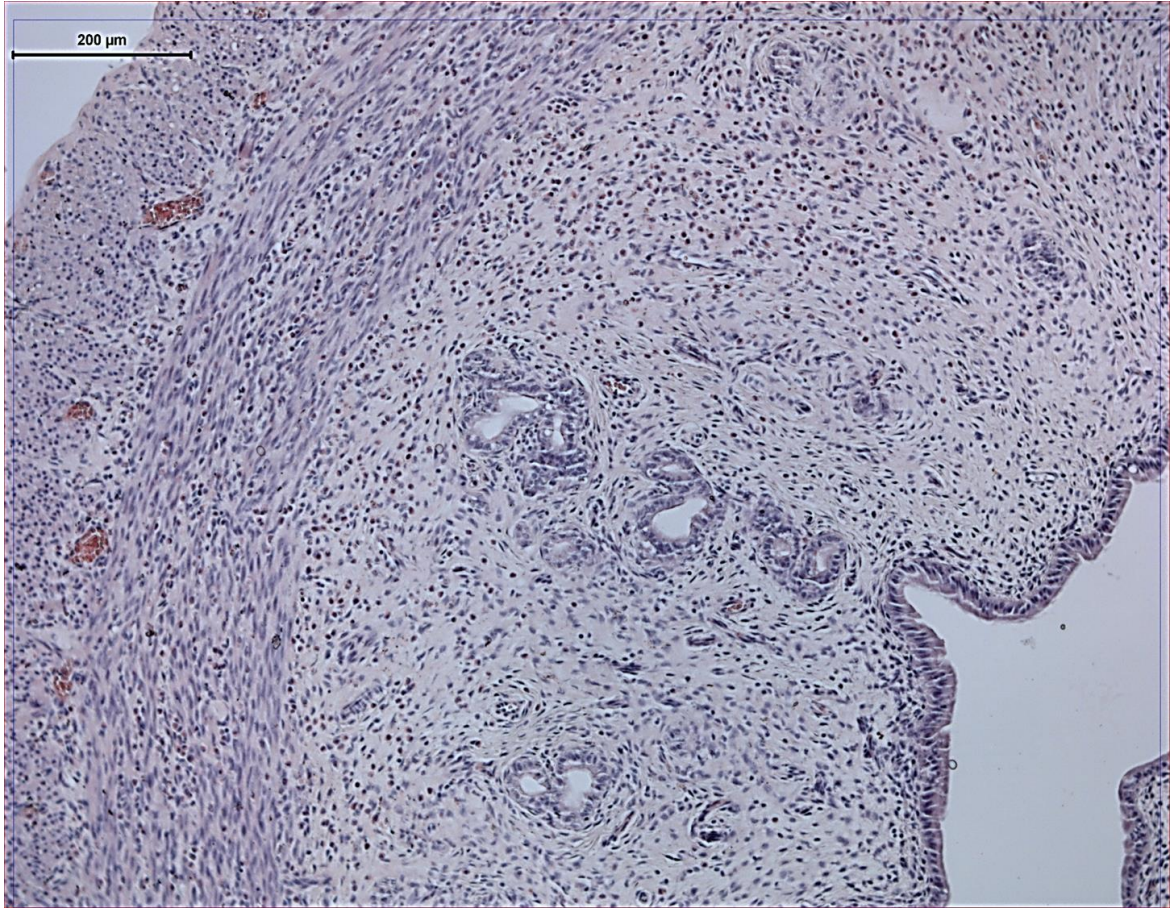
Resim 4.2. Grup 2'ye ait histolojik incelemeler. Normal mikroskopik görünüm. (H&E,X100)

+4° C de soğuk saklama koşullarında HTK' da 24 saat bekletilen grupta küçük ve büyük büyültmelerde uterus epitelinin düzensiz bir görünüm sergilediği , epitel –bazal membran bütünlüğü bozulduğu için epitel hücrelerinin yer yer bazal membrandan ayrılarak membranı çıplak bırakacak şekilde desquamasyona uğradığı lümende hücrel debrislerin varlığı gözlemlendi (Resim 4.3).



Resim 4.3. Grup 3'e ait histolojik incelemeler. Epitel-bazal membran yapısında bozulmalar (siyah ok) ve uterus lümeninde hücrel debrisler (yıldız). (H&E, X100)

+4°C de soğuk saklama koşullarında HTK' a eklenen antioksidan asetil-L-karnitinde 24 saat bekletilen grupta küçük büyültmelerde uterus tüm histolojik katmanlarıyla normal histolojik yapıda izlendi (H&E, X40). Büyük büyültmelerde ise epitel-bazal membran bütünlüğü korunmuştu, endometriumun tüm katmanlarında yer alan histolojik yapılar normal karakterdeydi. Ayrıca myometrium kas katı ve tunika adventisya normal histolojik görünümdeydi (Resim 4.4).



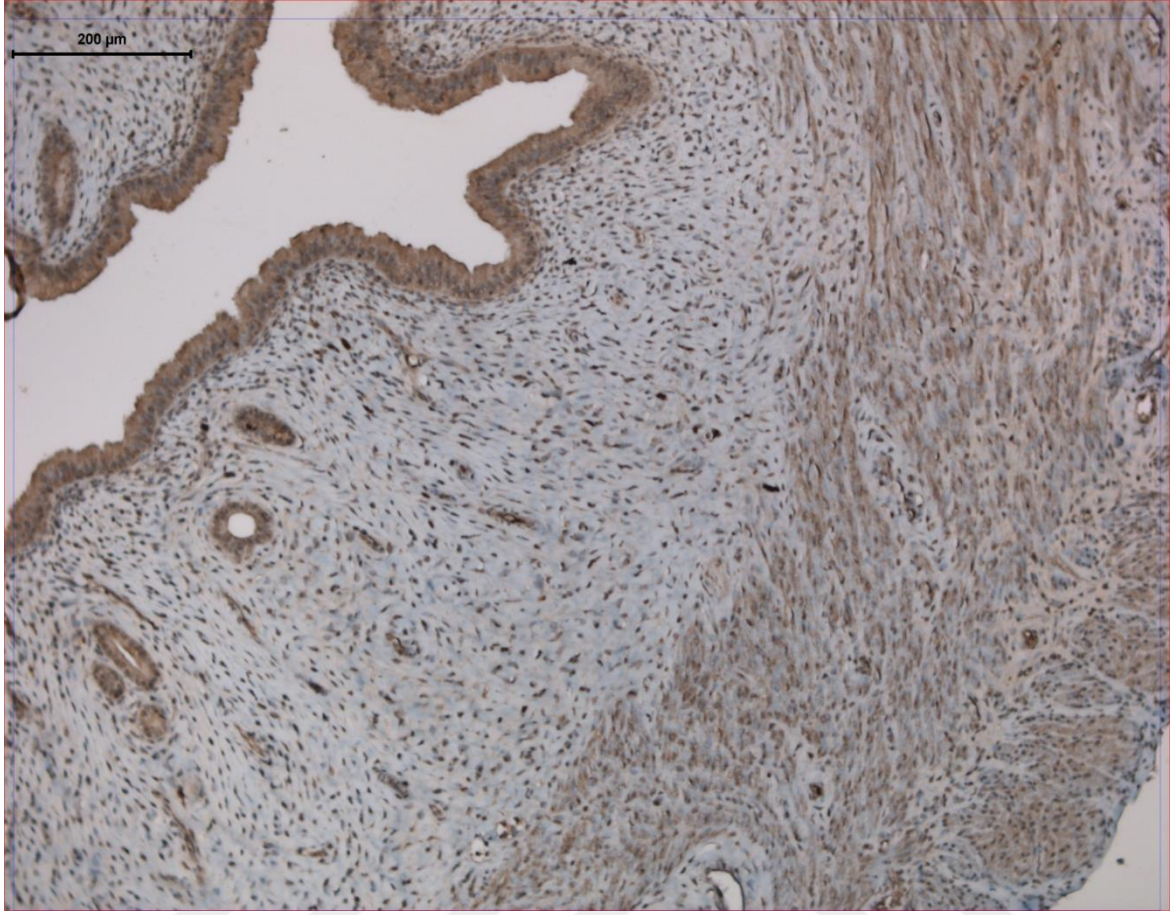
Resim 4.4. Grup 4'e ait histolojik incelemeler. Normal mikroskopik görünüm. (H&E, X100)

4.2.İmmünohistokimyasal bulgular

+4°C de soğuk saklama koşullarında HTK solüsyonunda 4 saat bekletilen (grup 1) uterus dokularında küçük ve büyük büyültmelerden elde edilen fotoğraflarda uterusun tüm katmanları gözlenebilir durumdaydı. VEGFR-2 luminal epitel hücrelerinde ve bez epitel hücrelerinde kuvvetli sitoplazmik, endometriumda yer alan stromal hücrelerde kuvvetli nükleer, uterusun tüm katmanlarında yer alan kapiller ve damar endotel hücreleri, bazı kas hücrelerinde kuvvetli sitoplazmik immüntutulum göstermekteydi (Resim 4.5 ve Resim 4.6).



Resim 4.5. Küçük büyültmede grup 1'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immünohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40)

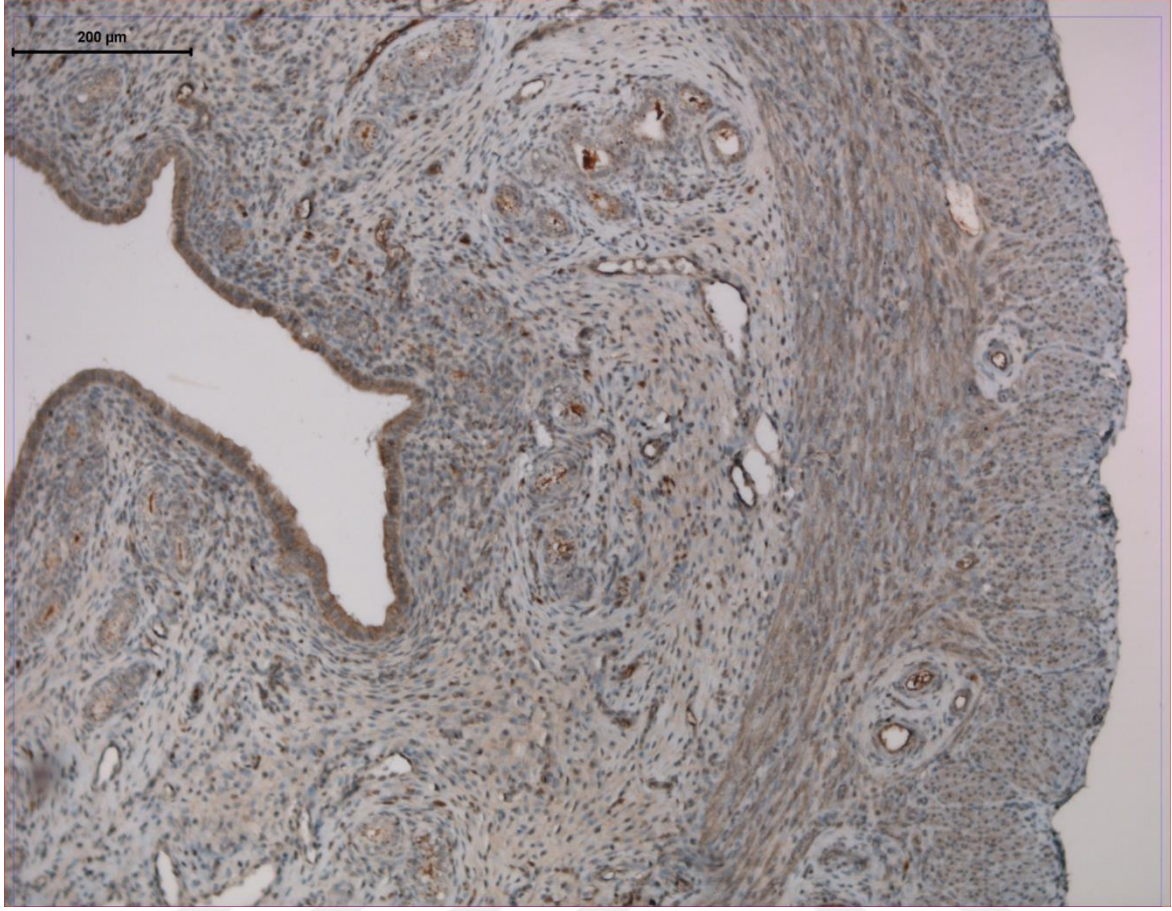


Resim 4.6. Büyük büyültmede grup 1'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100)

+4°C de soğuk saklama koşullarında HTK' a eklenen asetil-L-karnitin de 4 saat bekletilen (grup 2) uterus dokularında küçük ve büyük büyültmelerde lüminal epitel hücrelerinde orta sitoplazmik tutulum gözlenirken, bez epitel hücrelerinde zayıf sitoplazmik, subepitelial stromal hücrelerde kuvvetli nükleer, derin stromal hücrelerde zayıf nükleer, endotel hücrelerinde kuvvetli immünreaktivite gözlemlendi. Bu grupta myometrium tabakasında yer alan kas hücrelerinin bir bölümünde zayıf immün tutulum izlenmekteydi (Resim 4.7 ve Resim 4.8).



Resim 4.7. Küçük büyültmede grup 2'ye ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40)

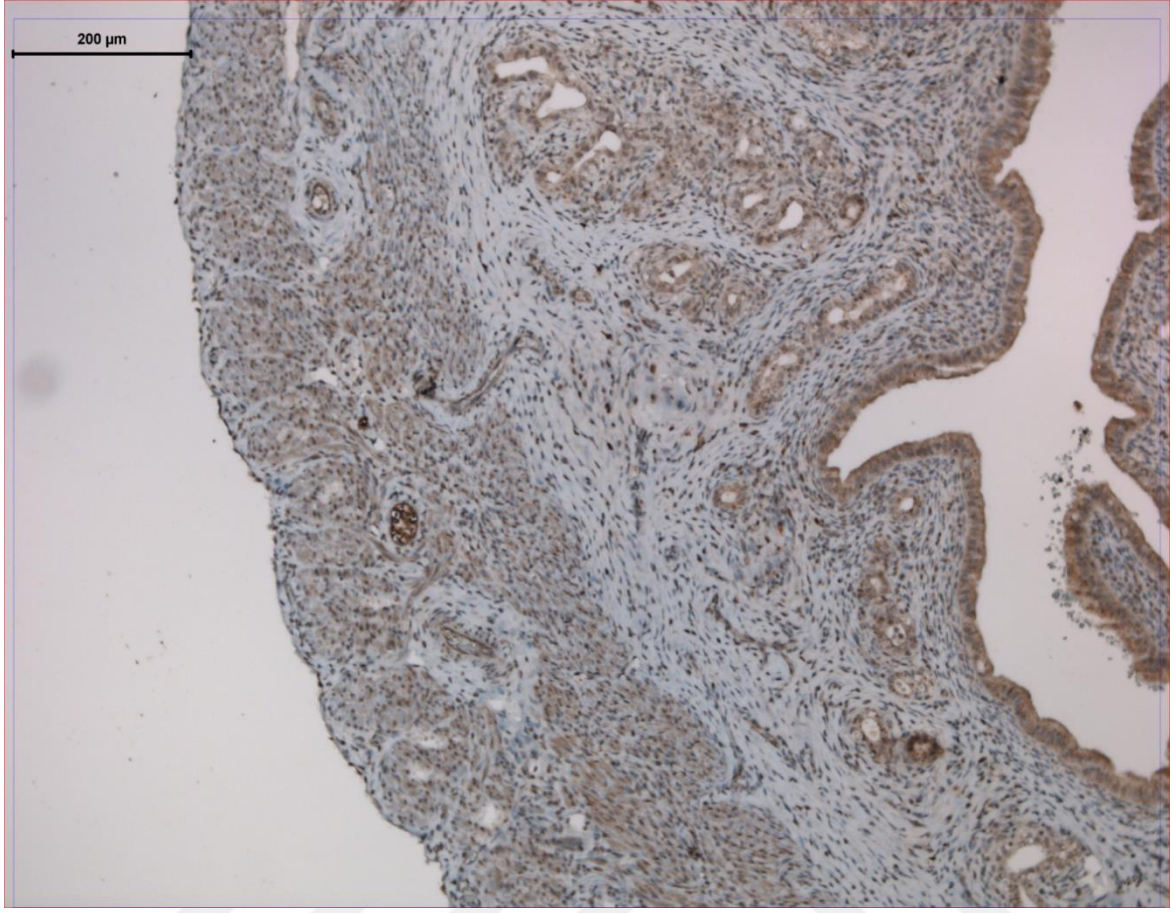


Resim 4.8. Büyük büyültmede grup 2'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100)

+4°C de soğuk saklama koşullarında HTK' da 24 saat bekletilen (grup 3) uterus dokularında ise lüminal epitel hücreleri, bez epitel hücreleri, stromal hücreler, endotel hücreleri ve muskuler tabakada yer alan kas hücrelerinin büyük bölümü kuvvetli immüntutulum göstermekteydi (Resim 4.9 ve Resim 4.10).



Resim 4.9. Küçük büyültmede grup 3'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X40)

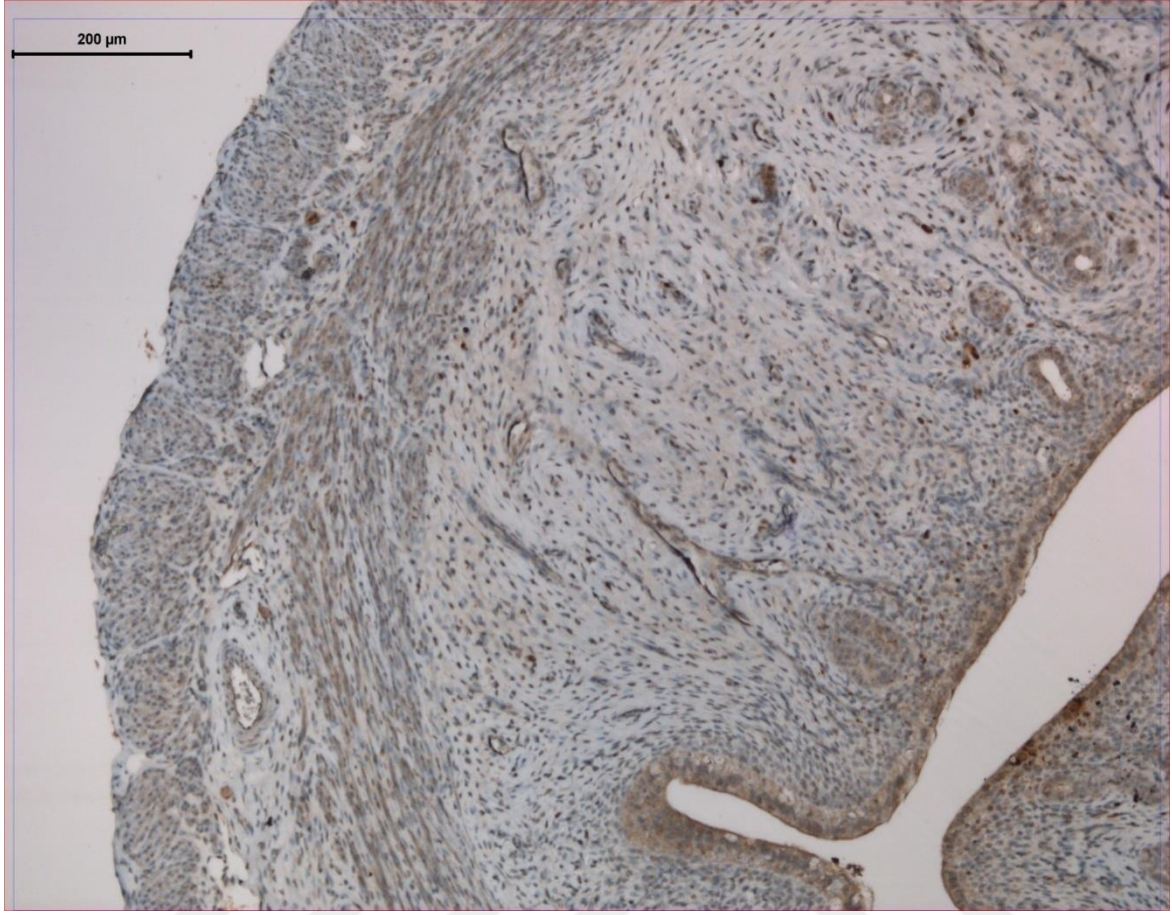


Resim 4.10. Büyük büyültmede Grup 3'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulumu (DAB&Hematoxylin, X100)

+4°C de soğuk saklama koşullarında HTK' a eklenen antioksidan asetil-L-karnitinde 24 saat bekletilen (grup 4) uterus dokularında lüminal epitel hücreleri, bez epitel hücreleri zayıf immüntutulum gösterirken, myometrum tabakasında yer alan çok az sayıda kas hücreleri de zayıf immüntutulum göstermekteydi. Ancak kapillerlerde endotel hücreleri ve stromal hücreler zayıf reaksiyon belirlendi (Resim 4.11 ve Resim 4.12).



Resim 4.11. Küçük büyültmede grup 4'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immünohistokimyasal tutulum (DAB&Hematoxylin, X40)



Resim 4.12. Büyük büyültmede grup 4'e ait uterus dokularında VEGFR-2 immunohistokimyasal tutulum (DAB&Hematoxylin, X100).

4.3.İstatiksel Bulgular

Grup 1 ve grup 2 istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, grup 2'deki luminal epitel, glandüler epitel, endometrial stroma, endotel ve miyometriyum katmanlarındaki VEGFR-2 immünreaktivitesinin ortalama skoru grup 1'e göre daha düşüktü. Bu azalma, glandüler epitel ve endometrial stroma değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,005$) (Çizelge 4.1).

Grup 3 ve grup 4 istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, grup 4'te luminal epitel, glandüler epitel, endometrial stroma, endotel ve miyometriyum katmanlarındaki VEGFR-2 immünreaktivitesinin ortalama skoru grup 3'e göre daha düşüktü. Bu azalma, luminal epitel, glandüler epitel ve miyometriyum değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,005$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Gruplara ait tanımlayıcı immunohistokimyasal datalar. İstatistiksel anlamlı olan veriler koyu karakter ile vurgulanmıştır, $p<0,05$. * Kruskal-Wallis ve post-hoc analiz

		<i>Luminal Epitel</i>	<i>Glandular Epitel</i>	<i>Endometrial Stroma</i>	<i>Endotelium</i>	<i>Miyometriyum</i>
Grup 1	<i>Ort±SD</i>	3,67±0,52	3,00±0,63	3,17±0,75	3,17±0,41	3,17±0,75
	<i>Median</i>	4,00	3,00	3,00	3,00	3,00
	<i>Minimum</i>	3,00	2,00	2,00	3,00	2,00
	<i>Maksimum</i>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Grup 2	<i>Ort±SD</i>	2,17±0,41	1,00±0,00	1,17±0,41	1,67±0,52	1,17±0,41
	<i>Median</i>	2,00	1,00	1,00	2,00	1,00
	<i>Minimum</i>	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	<i>Maksimum</i>	3,00	1,00	2,00	2,00	2,00
Grup 3	<i>Ort±SD</i>	3,67±0,52	3,00±0,63	4,00±0,00	3,83±0,41	3,83±0,41
	<i>Median</i>	4,00	3,00	4,00	4,00	4,00
	<i>Minimum</i>	3,00	2,00	4,00	3,00	3,00
	<i>Maksimum</i>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Grup 4	<i>Ort±SD</i>	1,33±0,52	1,00±0,00	2,50±0,84	3,00±0,63	1,17±0,41
	<i>Median</i>	1,00	1,00	3,00	3,00	1,00
	<i>Minimum</i>	1,00	1,00	1,00	2,00	1,00
	<i>Maksimum</i>	2,00	1,00	3,00	4,00	2,00
p değeri*	<i>Gruplar arası</i>	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
	<i>Grup 1-2</i>	0,105	0,008	0,047	0,054	0,052
	<i>Grup 3-4</i>	0,002	0,008	0,069	0,440	0,003



5.TARTIŞMA

İskemi-reperfüzyon, hipoksi ve/ya da tekrar oksijenlenme, iyonik dengesizlik indüklü ödem ve asidozis, oksidatif stres, mitokondrial çözülme, koagülasyon ve endotelyum aktivasyonun işlemlerini ilgilendiren pro-inflamatuar immün cevap ile alakalı patofizyolojik bir komplekstir [142].

Koruma sıvılarının kompozisyonu, ağırlıklı olarak iskemi-reperfüzyon hasarlarına adapte olabilmeli, hücresel zararı ve inflamasyonu azaltmalı, kısa ve uzun süreli greft sonuçlarında greft fonksiyonunu ve içeriğini korumalıdır [143-146].

Oksidatif stres, organ transplantasyonunu etkileyen kilit mekanizmalardan biridir. Redoks dengesinin iskemi ve reperfüzyon sırasında bozulduğu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumundan kaynaklanan oksidatif hasara neden olduğuna inanılmaktadır [147].

Organ transplantasyonunda iskemi / reperfüzyon hasarı mevcuttur. Bu olay, allograft reddi ve gecikmiş greft fonksiyonları gibi uzun süreli greft disfonksiyonuna neden olabilir [148].

Tartaro ve diğerleri (2015) total hepatik pedikül ile iskemi-reperfüzyon etkileri üzerine yaptıkları çalışmada 42 adet erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Ratlar kontrol, sürekli (CG) ve kesintili (IG) iskemi-reperfüzyon grubu olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Ratların hepatik pedikülleri (hepatik arter, portal ven, safra kanalı) izole edilmiştir. Daha sonra yapılan incelemede; IG ve CG gruplarında mitokondrial respirasyonun kontrol grubuna göre inhibe edildiği belirlenmiştir. CG grubunda IG grubuna göre daha yüksek oranda fokal hemorajik nekroz, sinüzoidal konjesyon ve/veya vakuolizasyon ve venöz konjesyon dalı belirlenmiştir. İskemik gruplarda (IG ve CG) transaminaz enzimler olan aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinde kontrol grubuna göre belirgin şekilde bir artış olduğu görülmüştür [149].

Organ koruma çözeltileri, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı hücresel hasarı ve iltihaplanmayı azaltabilir özellikte ve greft fonksiyonunu koruyabilir özellikte olmalıdır. Transplantasyon sırasında nekroz ve serbest radikallere bağlı organ hasarını en aza indirmek, hücre bütünlüğünü ve hayati fonksiyonları korumak ve transplantasyondan

sonra iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak için organ koruma solüsyonlarının kullanılması ile hipotermiyi sağlamak amaçlanmaktadır [11].

Klinik olarak hücre içi, orta dereceli ve ekstraselüler olmak üzere 3 tip statik soğuk koruma solüsyonu kompozisyonu vardır. Bu solüsyonların her biri ödem sınırı için impermeant (laktiobinat ya da raffinaz) ve/ya da kolloidler (hidroksietil starch ya da polietilenglikol) içerir. İmpermeant ya da kolloidler olmayan solüsyonlar böbrek, karaciğer, bağırsak ve pankreas transplantasyonlarında kötü sonuçlar vermektedir [150].

HTK'nın transplantasyonu yapılacak organların taşınması sırasında daha etkili soğutma özellikleri ve daha düşük fiyat avantajı göz önüne alındığında kullanılabilirliği öne çıkmaktadır [151].

Esmailzadeh ve diğerleri (2016) tarafından yürütülen bir çalışmada bir domuz modelinde pankreas transplantasyonunda HTK, modifiye HTK ve UW solüsyonlarının etkinlikleri araştırılmıştır. HTK, LK-614 kullanılarak modifiye edilmiştir. Domuzlardan anestezi altında alınan pankreaslar solüsyonlara konularak 10 saat boyunca soğuk iskemi uygulanmıştır. 10 saat sonra pankreaslar alıcılara nakledilmiş ve reperfüzyon sağlanmıştır. Soğuk iskemi sonrasında direkt reperfüzyonu takiben alınan biyopsilerde normal pankreas dokusu ya da yapışmış nötrofiller gözlenmiştir. Ayrıca UW ve standart HTK solüsyonu gruplarından birer domuzda asinar parankimada nötrofillerin oluşturduğu infiltrasyon ve standart HTK solüsyonu grubundan 1 domuzda yağ nekrozu görülmüş. 7 gün sonra bakıldığında birçok alanda inflamator inflamasyon ve yağ nekrozu birlikte görülmüş. UW grubunda bekletilen 7 örnekten 6 sı, standart HTK grubunda 8 örnekten 4 ü ve modifiye HTK grubunda 8 örnekten 4 ünde orta dereceli ve daha fazla red kriteri gözlemlenmiştir. Ayrıca HTK solüsyonlarının her ikisinde de soğuk iskemi sonrası, transplantasyondan sonra 3. ve 7.günde alınan biyopsilerde herhangi bir farklılık görülmemiştir [152].

Shin Kwang Wang ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada HTK solüsyonunun ratlarda spinal kord yaralanmalarında iskemi/reperfüzyon yaralanmalarının oluşan zararı azaltmadaki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 24 tane Sprague Dawley rat kullanılmış. Ratlar; kontrol, iskemi/reperfüzyon, salin ve HTK olmak üzere 4 gruba ayrılmış. Kontrol grubu hariç diğer 3 gruptaki ratlara transabdominal klemp uygulanarak iskemik reperfüzyonel spinal kord yaralanması oluşturulmuş. Klemp sayesinde oluşan aort tıkanması sayesinde bu 3 gruptaki

ratlarda 60 dakika süren iskemi uygulanmış. Salin ve HTK grubundaki ratlara daha sonra tıkalı aort segmentinden soğuk salin ve HTK infüze edilmiş. Çalışma sonucunda HTK uygulanan grupta nöronal hücre ölümlerinde azalma olduğu belirlenmiş [153].

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için organizmada antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak isimlendirilen çeşitli savunma düzenekleri gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunmadığında hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır [154].

Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına karşılık çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasar sınırlandırılmaya çalışılır. Vücuttaki hücresel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişkisi bir denge oluşturmaktadır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar [155,156].

Dolińska, Ryszka ve Cieřlik (2006) yaptıkları çalışmada HTK solüsyonuna eklenen antioksidanların HTK stabilitesindeki değişikliklere etkisini araştırmışlardır. HTK solüsyonunun transplantolojideki etkinliğine dair çok sayıda rapor bulunmaktadır. Çalışmada HTK, HTK+sistein hidroklorid, HTK+vitamin C, HTK+ fumarik asit olmak üzere 4 ayrı solüsyon hazırlanmıştır. HTK solüsyonunun stabilitesinin hızlandırılması yaşlanma testi ile test edilmiştir. 50-60°C arasında en yüksek reaksiyon oranı antioksidan olmayan HTK solüsyonu, yavaş ayrışma ise HTK+vitamin C solüsyonunda belirlenmiştir. 50°C’de fumarik asitin histidin ayrışması sisteine göre biraz daha hızlı ilerlediği, HTK+vitamin C’nin ayrışması diğer 3 solüsyondan en yavaş olarak belirlenmiştir. 60°C’de ise HTK+vitamin C ayrışmasının sadece HTK solüsyonundan sonra ikinci sırada olduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda en etkili antioksidanın vitamin C olduğu belirlenmiştir. HTK solüsyonu vitamin C ile +5°C’de 450 gün ile en uzun süreli HTK+fumarik asit solüsyonunun 242 gün ile en kısa süreli stabilize olduğu belirlenmiştir. HTK’da vitamin C hidrofilik bir antioksidan olarak görev alıp hücrenin sulu ortamını koruyabileceği ve DNA’daki oksidatif zararı önleyebileceği belirlenmiştir [157].

Barun ve arkadaşları, uterus transplantasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, HTK solüsyonuna eklenen prostosiklin analogu ve bir antioksidan olan iloprostun uterus korunmasına etkisini araştırmışlardır. Çalışmada üreme çağında 24 Wistar albino rat kullanılmış ve elde edilen uteruslar 4 gruba ayrılmıştır. 1.grup HTK solüsyonunda 4saat, 2.grup HTK solüsyonuna eklenen iloprost ile oluşturulan solüsyonda 4saat, 3.grup HTK solüsyonunda 24 saat, 4.grup HTK solüsyonuna eklenen iloprost ile oluşturulan solüsyonda 24 saat bekletilmiştir. Dokular ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile incelenmiştir. 1. ve 2. grup ışık mikroskobik ve elektron mikroskobik olarak normal görünümündedir. 3. Grup ışık mikroskobu ile incelendiğinde endometriyum epitelinde yoğun sitoplazmalı apoptotik hücreler görülmüştür. Ayrıca düz kas bandlarının bağ dokusu bölmeleri ile ayrıldığı belirlenmiştir. Miyometriyumdaki düz kas hücrelerinin etrafındaki bağ dokudaki ödem dikkati çekmiştir. 3.gruptaki dokular elektron mikroskobu ile incelendiğinde silli silindirik epitel hücrelerinin çoğunun apoptotik olduğu; düz kas hücrelerinin çekirdek zarlarının düzensiz şekilli, yoğun sitoplazmalı ve junctional komplekslerle ayrıldığı belirlenmiştir. Düz kas hücrelerinin sentral ve periferel bölgelerinde ayrıca endoplazmik retikulum sarnıçlarında dejeneratif açıklıkların olduğu belirlenmiştir. Düz kas hücrelerinin sitoplazmalarında da dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir. 4. gruptaki dokularda endometrial epitel ve bağ doku normal histolojik yapıdadır. Miyometriyumdaki düz kas hücreleri arasında minimal düzeyde ödem olduğu bildirilmiştir [5].

L-karnitin bir antioksidan görevi görür, serbest radikallere karşı dokuyu korur ve mitokondriyal hasarı önler [81,99]. Yapılan çok sayıda araştırmada L-karnitin ve türevlerinin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. L-karnitin, serbest uzun zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyonu için mitokondri matriksine geçişinde rol alır. Beta oksidasyon sonucu meydana gelen asetil CoA çok miktarda oksijenin tüketilip ATP üretildiği trikarboksilik asit siklüsüne girer. Böylelikle bu siklus sonunda H₂O'ya indirgenen oksijenin konsantrasyonu azalır ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu azalmış olur [158].

Yapılan bir çalışmada L-karnitin oksidatif stresi önlediği, nitrik oksit miktarını, hücresel solunumu, oksidatif hasara karşı savunmaya yardımcı olan enzimlerin aktivitelerini düzenlediği belirtilmiştir [159].

Son araştırmalarda, tavşan arka bacağındaki propionil-L-karnitin (PLC) etkileri araştırılmış ve PLC'nin postiskemik iyileşmeye ve revaskularizasyonu geliştirmeye yardımcı olduğu bildirilmiştir [103].

Shokeir ve diğerleri (2010) yaptıkları çalışmada, ratlarda böbrek transplantasyonunda iskemi-reperfuziyon hasarında L-arginin ve α -tocopherol kombinasyonunun rolünü araştırmışlardır. Ratlara anestezi altında böbrek transplantasyonu yapılmıştır. 20 dakika sıcak iskemi ile birlikte toplamda 65 dakika iskemi uygulanmıştır. Ratlar Tacrolimus (FK506) verilen kontrol grubu, iskemiden 20 dakika sonra enjekte edilen L-arginin grubu, α -tocopherol grubu ve α -tocopherol+L-arginin kombinasyon grubu olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Biyokimyasal ve morfolojik bulgularda α -tocopherol ve L-argininin dokuları iskemi-reperfuziyon zararından koruduğu fakat α -tocopherol ve L-arginin kombinasyonunun transplante rat bbregini iskemi-reperfuziyon zararından daha iyi koruduğu belirlenmiştir [160].

Atalay ve diğerleri (2015), bir antioksidan olan remifentanilin (R) iskemi-reperfuziyon (I/R) sonrasındaki koruyucu etkisi incelenmiştir. Çalışmada 8-10 haftalık östrus döngüsünün diöstrus fazında bulunan 21 dişi Wistar albino rat kullanılmıştır. Ratlar; kontrol (n=7), I/R (n=7) ve I/R+R (n=7) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Reperfuziyon sonrasında tüm deneklerin uterus boynuzları alınmıştır. Sağ boynuz incelenmek üzere kullanılmış, sol boynuz ise -80°C'de saklanmıştır. Çalışmada I/R grubunda yoğun lökosit varlığı tespit edilmiştir. I/R+R grubunda ise lökosit konsantrasyonu düşmüş ve epitel hücre dejenerasyonu azalmıştır. Kontrol, I/R, I/R+R gruplarında stromal ödem ve vasküler konjesyon dereceleri arasında kayda değer bir farklılık belirlenmiş. I/R ve I/R+R arasında ise çok farklılık görülmemiştir. Remifentanil; lökosit ve MDA seviyesini düşürüp, CAT ve SOD seviyesini yükselterek antioksidan etki yapıp; uterus dokusunu iskemi-reperfuziyon sonrası etkilerden korumuştur [161].

Akbulut ve diğerleri (2014) yaptıkları çalışmada, UW ve HTK koruyucu solüsyonlarına eklenen amifostinin antioksidan ve karaciğeri koruyucu etkisini incelenmiştir. Çalışmada 48 adet Sprague Dawley erkek rat kullanılmış. Ratlar eşit sayıda 6 gruba ayrılmıştır. Grup I'e Ringer Laktat (RL), Grup II'ye RL+ Amifostin(RL+A), Grup III'e HTK, Grup IV'e HTK+ A, Grup V'e UW, Grup VI'ya UW+A uygulanmıştır. Grup II, IV ve VI'ya laparotomiden 30dakika öncesinde intraperitoneal olarak amifostin uygulanmıştır. Gruplar

hepatektomiden 0, 6, 12 saat sonra incelenmiştir. Karaciğer biyopsileri hematoksilen eozin ile boyanmıştır. 6 ve 12 saat sonra RL ve RL+A gruplarında önemli derecede sentrilobüler hidropik değişiklikler belirlenmiştir. Koruyucu sıvılara eklenen amifostinin; hücrede oluşacak histopatolojik değişiklikleri ve apoptozu azalttığı, iNOS, NO, ALT ve ALP seviyelerini düşürerek hepatosit zararını önlediği görülmüştür [162].

Warzecha ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada iskemi/reperfüzyon indüklü akut pankreatitisli ratlarda düşük dozda acenocoumarol uygulamasının terapötik etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 156 erkek rat kullanılmıştır. Bu ratlardan 4tanesi çalışma sırasında öldüğü için çalışmaya 152 ratla devam edilmiştir. Ratlar; kontrol, iskemi-reperfüzyon indüklü akut pankreatitis+salin ve iskemi-reperfüzyon indüklü akut pankreatitis+acenocoumarol (50-100-150 µg/kg/gün) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Ratlara inferior splenik artere klemp takılarak 30 dakika iskemi uygulanmış. Daha sonra klemp kaldırılıp reperfüzyon sağlanmıştır. Pankreatik reperfüzyondan 24 saat sonra acenocoumarol ya da salin ratlara intragastrical olarak uygulanmıştır. Pankreatitisli ratlar histolojik olarak incelendiğinde acenocoumarol uygulamasının pankreatik ödem, nekrozis ve hemorajiyi azalttığı görülmüş. Acenocoumarolün pankreatik asinar hücrelerde pankreatik inflamatuvar infiltrasyon ve vakulazasyonu azalttığı; pankreatik kan akışı ve DNA sentezini düzenlediği belirlenmiştir. 150µg/kg/gün acenocoumarol ün akut pankreatitisin erken fazında en etkili olduğu belirlenmiştir. Yüksek dozda verilen acenocoumarolün terapötik etkisi görülmezken, düşük dozda akut pankreatitiste etkili olduğu belirlenmiştir. İskemi/reperfüzyon indüklü akut pankreatitisli ratlarda acenocoumarol uygulamasının iyileştirmeyi hızlandırdığı görüldü [163].

Tian ve diğerleri (2017), biliverdinin akciğer iskemi/reperfüzyon hasarında koruyucu rolü ve potansiyel mekanizmalarını araştırmışlardır. Çalışmada 32 erkek Sprague Dawley rat; kontrol, iskemi-reperfüzyon(IR), biliverdin(BV) ve L-glutathion uygulanan pozitif grup (GSH) olmak üzere 4gruba ayrılmıştır. Ratlardan akciğerler izole edilmiş ve kontrol grubu hariç diğer gruplarda 60dakika perfüzyon ve ventilasyon, 15 dakika stabilizasyon sonra 90dakika reperfüzyon ve ventilasyondan oluşan protokol uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda yapılan incelemelerde biliverdinin antioksidatif, anti inflamatuvar ve anti apoptotik etkileri olduğu ve akciğer iskemi-reperfüzyon zararını önleyici potansiyel bir bileşik olabileceği belirlenmiştir [164].

Bu çalışmada, donörlerden elde edilen sıçan uterusu, iskeminin akut dejeneratif etkilerini önlemek için yaygın olarak kullanılan HTK çözeltisinde farklı soğuk depolama süreçlerinde saklandı. İskemi sırasında ortaya çıkabilecek hasarları en aza indirmek için, HTK solüsyonuna Asetil-L-karnitin eklendi. Grup 1 ve 2'de normal histolojik yapı gözlemlendi. Öte yandan, HTK solüsyonunda +4 ° C'de 24 saat bekletilen 3.grupta ise, düzensiz epitel, dökülmüş epitel hücreleri ve epithelial-bazal membran bütünlüğünün bozulduğu izlendi. Bulgularımıza göre donör uterus HTK solüsyonunda +4 ° C'de 24 saat depolandığında uterusda dejeneratif histolojik değişikliklere neden olmaktadır. +4 ° C'de 24 saat boyunca Asetil-L-karnitin ile birlikte HTK solüsyonunda depolanan gruptaki uterus dokuları ise normal histolojik yapıda izlenmiştir.

VEGF, iskemiye yanıt olarak eksprese edilen bir angiogenik büyüme faktörüdür [165]. Bu ekspresyon hipoksi, hipoglisemi, inflamasyon ve doku onarımı ile indüklenir. Vasküler geçirgenliği arttıran, endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu sağlayan VEGF ve reseptörü VEGFR-2'nin etkileşimi önemlidir. VEGFR-2, vasküler geçirgenlikte en etkili ajandır [166].

Silva ve arkadaşları (2011) tarafından yürütülen bir çalışmada, erken gebelik sırasında kısır uterusundaki vasküler değişiklikler üzerine araştırma yapmışlardır. Gebe kısır uterusda luminal epitel hücrelerinde, glandüler epitel hücrelerinde, endotel hücrelerinde ve stromal hücrelerde zayıf tutulum gösteren VEGFR-2 immünohistokimyasal olarak belirlenmiştir. Ayrıca, menstrüel döngüde luminal epitel hücrelerinde boyanma gözlenmezken, luteal fazda birkaç hücrede sadece hafif tutulum gözlenmiş, stromal hücrelerin luminal ve bez epitel hücrelerinden daha az tutulumuna sahip olduğu saptanmıştır [107].

Graubert ve arkadaşları (2001), menstrüasyon sonrası VEGF ve VEGFR-2 regülasyonunu araştırmışlardır. Menstrüel ve erken proliferatif fazda VEGFR-2 ekspresyonunun arttığını, VEGF'nin en yüksek bulunduğu menstrüel fazda VEGFR-2'nin pik yaptığı seviyede olduğunu göstermişlerdir [167].

Song ve arkadaşları (2014), endometrioziste VEGF-C ekspresyonu ve anti-angiogenetik terapiyi araştırmışlardır. 18-51 yaş arası endometriozisi olmayan menstrüel siklusun proliferatif ya da sekretuar fazında 30 kadın kontrol grubu, 21-56 yaş arası, endometriozisli 83 kadın hasta grubu olarak kullanılmıştır. Endometriozisli hastalar, endometriozis seviye 1

(n=20), seviye 2 (n=26), seviye 3 (n=21) ve seviye 4 (n=16) olarak sınıflandırılmıştır. Bu hastaların 36'sı proliferatif fazda iken 47'si sekretuar fazındadır. Bu kadınlardan biyopsi alınmış. İmmünohistokimyasal incelemede, VEGF-C ekspresyonu endometriozisli dokularda kontrol grubu endometrial dokusuna göre; seviye 3 ve 4'teki hastalarda seviye 1 ve 2 endometriozise göre daha yüksek olduğu belirlenmiş. VEGF-C ekspresyonu ve menstrüal döngü arasındaki ilişki incelendiğinde proliferatif ve sekretuar faz arasında fark olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada ayrıca ratlar kullanılarak bir araştırma yapılmıştır. Ratlar uygulama (n=5) ve kontrol (n=5) olmak üzere 2 gruba ayrılmış; uygulama grubuna intraperitoneal olarak 14 gün boyunca Endostar (2mg/kg/d), kontrol grubuna ise 40ml PBS uygulanmıştır. Ratlarda Endostar uygulama grubunda VEGF-C ekspresyonu ve ektopik endometriumun azaldığı, glandular epitelde vakuollerin varlığı, intersistial hücrelerin küçük ve seyrek olduğu bulunmuştur. Kontrol grubunda ise ektopik endometrium iyi gelişmiş, intersistial hücreler iyice büyümüş ve periferel damarlar açısından zengin olduğu belirlenmiştir. Çalışmaların sonucunda VEGF-C'nin angiogenezi düzenleyerek endometriozis patogenezinde ve VEGF-C ekspresyonunun endometriozis seviyesinde etkili olduğu belirlenmiştir [168].

Suzuma ve arkadaşları (1998), C57BL/6J farelerde VEGFR-2 ekspresyonu artışının farelerde iskemi indüklü retinal neovaskülarizasyona etkisini araştırmışlardır. İmmünohistokimyasal bulgularda hipoksik retinada VEGFR-2 immünreaktivitesinin damarların yakınındaki avasküler alanlarda ve özellikle neovasküler demetlerde yoğun şekilde arttığı ve hipoksik retinadaki VEGFR-1 ekspresyonunun kontrol hayvanları ile hemen hemen aynı olduğu belirlenmiştir. Hipoksik retinadaki VEGFR-2 pozitif damarların önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Hipoksik hayvanlardaki neovasküler retinada VEGFR-2 mRNA seviyelerinin kontrol hayvanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiş. Vasküler hücrelerdeki artan VEGFR-2 ekspresyonunun birçok iskemik retinal hastalıklarda VEGF aracılı angiogenezin yoğunluğunu arttırabileceği belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda VEGF reseptörlerinin nörojenesis ve vaskülogeneziste rol oynayabileceği belirtilmiştir [169].

Rissanen ve arkadaşları (2002) yaptıkları çalışmada, iskemik iskelet kasında ve rejenerasyonunda VEGF ve VEGFR-2 ekspresyonunun etkisi araştırmıştır. İskemik insan iskelet kası örnekleri 8 hastadan toplanmıştır. Ayrıca 20 Yeni Zelanda beyaz tavşanda unilateral iskemi cerrahi olarak indüklenmiş ve arka bacakta iskemi oluşturulmuştur.

Tavşanlar operasyondan 1,3 ya da 6 hafta sonra öldürülmüş ve tibialis anterior ve bacakta soleus kasları, rectus ve kalça adductor kasları immünohistokimyasal ve in situ hibridizasyon için toplanmıştır. Çalışmanın sonucunda akut iskemide VEGF ve VEGFR-2 ekspresyonunun diffüze iken, kronik iskemide VEGF ve VEGFR-2'nin sadece atrofik ve rejenere hücrelerde eksprese edildiği belirlenmiştir [170].

Bu çalışmada HTK ve HTK+ Asetil-L-karnitin solüsyonlarında farklı soğuk depolama sürelerinde bekletilen donör uteruslarda VEGFR-2'nin immün boyanması incelendi. Grup 1 de luminal ve glandüler epitel hücrelerinde, endometriyumdaki stromal hücrelerde, miyometriyumdaki bazı kas hücrelerinde, kapiller ve uterusun tüm katmanlarındaki damar endotel hücrelerinde VEGFR-2'nin güçlü bir şekilde immün tutulumu gözlemlendi. Grup 2'de, luminal ve glandüler epitel hücrelerinde sırasıyla orta ve zayıf VEGFR-2 immün tutulumu gözlenirken; derin stromal hücrelerde zayıf, subepitelyal stromal hücrelerde ise güçlü VEGFR-2 ekspresyonu saptandı. Uterusun miyometriyumundaki kas hücrelerinde ise zayıf tutulum gözlemlendi. Grup 3'te, luminal ve glandüler epitel hücreleri, stromal hücreler, endotel hücreleri ve kas hücrelerinin büyük çoğunluğu güçlü VEGFR-2 immünreaktivitesi gösterdi. Grup 4'te glandüler ve luminal epitel hücrelerinde, stromal hücrelerde, kas hücrelerinde ve uterus kapiller endotel hücrelerinde zayıf VEGFR-2 tutulumu belirlendi.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bulgularımıza göre, iskemik hasarın modifiye HTK solüsyonu ile en aza indirildiğini söyleyebiliriz. İskemi ile indüklenen hipoksi ve serbest oksijen radikallerinin salınımı, angiogenezi tetiklemektedir. Bu çalışmada, HTK solüsyonunda +4 ° C'de 4 saat boyunca bekletilen uterus dokularında herhangi bir histomorfolojik değişiklik görülmemesine karşın, aynı gruptaki VEGFR-2'nin güçlü immünreaktivitesi gözlemlendi. +4 ° C'de 4 saat boyunca Asetil-L-karnitin ile modifiye edilmiş HTK solüsyonunda saklanan uterus dokuları da normal histolojik yapı gösterdi ve hipoksinin yan etkilerinden korunduğu; ancak VEGFR-2'nin zayıf immün reaktivite gösterdiği belirlendi.

HTK solüsyonunda depolanan uterusu soğuk saklama süresi 24 saate çıkarıldığında iskemi ve hipoksinin dejeneratif etkileri belirlendi. VEGFR-2 güçlü immünreaktivite gösterdi. Modifiye HTK solüsyonunda 24 saat depolanan donör uterus normal histolojik özellikler gösterdi, Ayrıca, bu gruptaki VEGFR-2'nin immünreaktivitesi yalnız HTK solüsyonunda 24 saat boyunca bekletilen gruba kıyasla daha zayıftı.

Sonuç olarak, organ koruma solüsyonu HTK'ya eklenen antioksidan Asetil-L-karnitin, serbest radikal oluşumunu engellediğini; böylece kısa ve uzun soğuk saklama koşullarında bekletilen uterus dokularının daha iyi korunduğu söylenebilir. Organ transplantasyon sürecinde kullanılan HTK solüsyonuna eklenen Asetil-L-karnitin donör uterusu iskemi sonrası kısa ve uzun dönemde daha iyi koruduğu düşünülürse transplantasyondan sonraki reperfüzyon hasarına karşı kısmen önlem alınmış olabileceği söylenebilir. Bu bulgu uterus transplantasyonu sonrası sık karşılaşılan angiogenezis vb. problemlerinin çözümüne klinik bir katkı sağlayabilir.



KAYNAKLAR

1. Aslaner, A. (2008). *Karnitinin Böbrek Soğuk İskemi Hasarında Koruyucu Etkisi*. Uzmanlık Tezi. Düzce Üniversitesi, Düzce.
2. Brännström, M., Garcia, CD., Hanafy, A., Olausson, M., Tzakis, A. (2012). Uterus transplantation: animal research and human possibilities. *Fertility and Sterility*, 97(6), 169-1276.
3. Kisu, I., Banno, K., Mihara, M., Hara, H., Kato, Y., Suganuma, N., Aoki, D. (2014). Uterine transplantation in primates: A mini-review of the literature. *Transplantation Proceedings*, 46(4), 1212-1216.
4. Johannesson, L., Enskog, A. (2014). Experimental uterus transplantation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 28(8), 1198-1210.
5. Barun, S., Özat, M., Göngör, T., Demiroğulları, B., Sökmensüer, LK., Aksakal, FN., Erçin, U., Gülbahar, Ö., Müftüoğlu, S. (2011). The use of a prostacyclin analog, iloprost, as an adjunct to uterus preservation with histidin-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution. *Transplantation Proceedings*, 43(5), 1998-2003.
6. Shenfield, F., Pennings, G., Cohen, J., Devroey, P., de Wert, G., Tarlatzis B; ESHRE Task Force on Ethics and Law. (2005). ESHRE task force on ethics and law 10: surrogacy. *Human Reproduction*, 20(10), 2705-2707.
7. Catsanos, R., Rogers, W., Lotz, M. (2013). The ethics of uterus transplantation. *Bioethics*, 27, 65-73.
8. Fageeh, W., Raffa, H., Jabbad, H., Marzouki, A. (2002). Transplantation of the human uterus. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 76 (3), 245-251.
9. Ozkan, O., Akar, ME., Erdoğan, O., Hadimioğlu, N., Yılmaz, M., Gunseren, F., Cincik, M., Pestereli, E., Kocak, H., Mutlu, D., Dinçkan, A., Gecici, O., Bektas, G., Süleymanlar, G. (2013). Preliminary results of the first human uterus transplantation from a multiorgan donor. *Fertility and Sterility*, 99(2), 470-476.
10. Akar, ME., Ozkan, O., Aydınuraz, B., Dirican, K., Cincik, M., Mendilcioğlu, I., Simsek, M., Gunseren, F., Kocak, H., Ciftcioglu, A., Gecici, O., Ozkan, O. (2013). Clinical pregnancy after uterus transplantation. *Fertility and Sterility*, 100(5), 1358-1363.
11. Yeğinsu, A., Ergin, M., Özyurt, H., Elmas, Ç., Göktaş, GÇ. (2009). Organ koruma sıvısı hazırlamak için basit bir yöntem. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 29(1), 57-63.
12. Bessems, M., Doorschodt, BM., Albers, PS., Meijer, AJ., Van Gulik, TM. (2006). Wash-out of the nonheart-beating donor liver: a matter of flush solution and temperature?. *Liver International*, 26(7), 880-888.
13. Bilge, M. (2010). *Hemodiyaliz Hastalarında Serbest Radikallerin Organizmaya ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya, 19-20.

14. Onat, T., Emerk, K., Sözmén, EY. (Editörler). (2002). *İnsan Biyokimyası*, Ankara: Palme Yayıncılık, 670-673.
15. Stephens, FB., Constantin-Teodosiu, D., Greenhaff, PL. (2007). New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 581(2), 431-444.
16. Matera, M., Bellinghieri, G., Constantino, G., Santoro, D., Calvani, M., Savica, V. (2003). History of L-carnitine: Implications for renal disease. *Journal of Renal Nutrition*, 13 (1), 2-14.
17. Bremer J. (1983). Carnitine-Metabolism and Functions. *Physiological Reviews*, 63(4), 1420-1480.
18. Furlong, JH., Altern, ND. (1996). Acetyl-L-Carnitine: Metabolism and applications in clinical practice. *Medicale Revue*, 1(2), 85-93.
19. Akın, H. (2005). *Farelerde Asetil-L-Karnitin Uygulamasının Deneysel Ağrı Modelleri Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 19.
20. Tüfekçi, Ö. (2009). *Asetil L-Karnitin'in Deneysel Sisplatin Nefrotoksitesisi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir 31-32.
21. Kierszenbaum, AL. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*. (çev. Demir, R.). Ankara: Palme Yayıncılık. (Eserin orijinali 2006'da yayımlandı.), 334-338, 565-583.
22. Aydın, R. (2008). Tümör Anjiyogenezi. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Öğrenci Bilimsel Dergisi*, 1(1), 1-5.
23. Demirer, E., Ayten, Ö., Taş, D. (2014). Anjiyogenez ve anti-anjiyogenik tedaviler. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 5(1), 75-79.
24. Erol, N. (2007). Vasküler endotelial büyüme faktörü ve anti-VEGF ajanlar. *Ret-Vit*, 15: Özel Sayı, 35-40.
25. Tamaini, C., De Ambrogi, M. (2004). Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reproduction in Domestic Animals*, 39, 206-216.
26. Monacci, WT., Merrill, MJ., Oldfield, EF. (1993). Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *The American Journal of Physiology*, 264 (4 Pt 1), C995-1002.
27. Yazır, Y., Gonca, S., Filiz, S., Dalçık, H. (2004). Endotel hücreleri için önemli bir protein ailesi; vasküler büyüme faktörü (Vegf), ailenin üyeleri, yapısı ve sentezi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(4), 181-184.

28. Yazır, Y. (2007). Vasküler endotel büyüme faktörü (Vegf): reseptörleri ve fonksiyonları. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 29(3), 128-136.
29. Ferrara, N., Davis-Smyth, T. (1997). The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Reviews*, 18(1), 4-25.
30. Ebos, JM., Bocci, G., Man, S., Thorpe, PE., Hicklin, DJ., Zhou, D., Jia, X., Kerbel, RS. (2004). A naturally occurring soluble form of vascular endothelial growth factor receptor 2 detected in mouse and human plasma. *Molecular Cancer Research*, 2(6), 315-326.
31. Ferrara, N. (2001). Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *The American Journal of Physiology Cell Physiology*, 280(6), 1358-1366.
32. Kleespies, A. Guba, M. Jauch, KW., Bruns, CJ. (2004). Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *Journal of Surgical Oncology*, 87(2), 95-104.
33. Yancopoulos, GD., Davis, S., Gale NW., Rudge, J., Wiegand, SJ., Holash, J. (2000). Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 407, 242-248.
34. İnternet: VEGF.
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.google.com.tr%2Furl%3Furl%3Dhttp%3A%2F%2Fwww.todnet.org%2Ftoddata%2Fseminerler%2FVEGF.doc%26ret%3Dj%26frm%3D1%26q%3D%26esrc%3Ds%26sa%3DU%26ved%3D0CBIQFjAAahUKEwiGhOffqoDHAhUKhiwKHRl6CYU%26usg%3DAFQjCNELEPOLtKOMeWbdgkczTIM3Q-8ZrA&date=2015-07-29> 29.07.2015'te alınmıştır.
35. Ferrara, N., Gerber, HP., LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*, 9(6), 669-676.
36. Risau, W. (1997). Mechanisms of angiogenesis. *Nature*, 386(6626), 671-674.
37. Shibuya, M., Yamaguchi, S., Yamane, A., Ikada, T., Tojo, T., Matsushime, H., Sato, M. (1990). Nucleotide sequence and expressions of novel human receptor-type tyrosine kinase (flt) closely related to the fms family. *Oncogene*, 5(4), 519-524.
38. Moore, KL., Persaud, TVN. (2002). *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. (çev. Yıldırım M., Okar G., Dalçık, H.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. (Eserin orijinali 2002'de yayımlandı.), 323-331.
39. Sadler, TW. (2005). *Langman Medikal Embriyoloji*. (çev. Başaklar, AC.), Ankara: Palme Yayıncılık. (Eserin orijinali 2006'da yayımlandı.), 246-254.
40. Berkman, S., Topuz, S.(Editörler). (2004). *Jinekoloji*, Ankara: Nobel Tıp Kitap evleri. 5-6, 11-13.
41. Kayalı, H., Hatiroğlu, İ., Taşyürek, M. (1992). *İnsan Embriyolojisi*. (Yedinci Baskı). İstanbul: Alfa Basım Yayım Dağıtım, 207-214.
42. Ozan, H. (2004). *Anatomi*. (İkinci Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 196-198.
43. Kuran, O. (1993). *Sistemik Anatomi*. (Üçüncü Baskı). İstanbul: Filiz Kitabevi, 520-527.

44. Aktümsek, A. (2001). *Anatomi ve Fizyoloji (İnsan Biyolojisi)*. (Birinci Baskı). Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 446-447.
45. Sarsılmaz, M. (2000). *Anatomi*. (Birinci Baskı). Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 173-174.
46. Çimen, A. (1996). *Anatomi*. (Altıncı Baskı). Bursa: Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, 474-480.
47. Sancak, B., Cumhur M. (Editörler). (2004). *Fonksiyonel Anatomi Baş, Boyun ve İç Organlar*. (Üçüncü Baskı). Ankara: Odtü Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim, 302-307.
48. Moore, KL., Dalley, AF. (2007). *Kliniğe Yönelik Anatomi*. (Çev. Şahinoğlu, K.). (Dördüncü Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 374-380.
49. Gökmen, FG. (Editör). (2003). *Sistematik Anatomi*, İzmir: İzmir Güven Kitapevi, 571-576.
50. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu, T., Ilgaz, C. (2007). *Özel Histoloji*. (İkinci Baskı). Ankara: Hatipoğlu Yayınevi, 181-186.
51. Erkoçak, A. (1984). *Özel Histoloji Dolaşım Lenfatik-iç Salgı-Üriner-Genital ve Sinir Sistemleri*. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları (Sayı:389), 213-224.
52. Junqueira, LC., Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji*. (Çev. Aytekin, Y., Solakoğlu, S.). (On birinci Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 444-451.
53. Gartner, LP., Hiatt, JL. (2001). *Color textbook of histology*. Baltimore, Maryland: W.B. Saunders Company, 474-477.
54. Ovalle, WK., Nahirney, PC. (2009). *Netter Temel Histoloji*. (Çev. Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.), Ankara: Güneş Tıp Kitabevi. (Eserin orijinali 2009'da yayımlandı.), 412-417.
55. Akbay, C., Sabuncuoğlu, BT. (2002) *Özel histoloji ince yapı ve geliştirme*, Ankara: Antıp A.Ş. Tıp Kitapları Bilimsel Yayınları.
56. Turhan, F. (2007). *Menstrüal Döngüde Sıçan Uterus Yapısındaki Elektron Mikroskopik Değişiklikler*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 7-9.
57. Snell, RS. (2004). *Klinik Anatomi*. (Çev. Yıldırım, M.), (Eserin orijinali 2009'da yayımlandı.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 331-333.
58. Berne, RM., Levy, MN., Levy, MN., Koeppen, BM., Stanton, BA. (2008). *Fizyoloji*. (Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği), (Eserin orijinali 2008'de yayımlandı.), Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 960-961.
59. Yakar, K. (1999). *Fizyoloji*. (Beşinci Baskı). Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 218-220.
60. Ganong, WF. (1996). *Ganong Tıbbi Fizyoloji*. (Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği), (Eserin orijinali 1996'da yayımlandı.), Ankara: Barış Kitabevi, 536-538.

61. Ömer, B. (2012). *Fizyoloji*. (Üçüncü Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 550-552.
62. Brännström, M., Johannesson, L., Bokström, H., Kvarnström, N., Mölne, J., Dahm-Kähler, P., Enskog, A., Milenkovic, M., Ekberg, J., Diaz-Garcia, C., Gäbel, M., Hanafy, A., Hagberg, H., Olausson, M., Nilsson, L. (2015). Live birth after uterus transplantation. *The Lancet*, 385(9968), 607-616.
63. Chen, F., Nakamura, T., Wada, H. (2004). Development of new organ preservation solutions in Kyoto University. *Yonsei Medical Journal*, 45(6), 1107-1114.
64. Brandes, H., Albes, JM., Haas, B., Ziemer, G. (2001). Influence of high molecular dextrans on lung function in an ex vivo porcine lung model. *The Journal of Surgical Research*, 101(2), 225-231.
65. Akkuş, İ. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Konya: Mimoza Yayınları, 1-129.
66. Karadeniz, F., Koca, N. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 32-37.
67. Diplock, A. (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series*, 59 p., Belgium, 16-21.
68. Kaur, C., Kapoor, HC. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science+Technology*, 36, 703-725.
69. Çetinkaya, A. (2009). *Ratlarda N-Asetil Sistein ve L-Karnitin'in Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut Karaciğer Hasarı Üzerine Etkileri*. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kahramanmaraş, 10.
70. Gürsoy, F. (2005). *Etanolün İndüklediği Karaciğer Hasarında Matriks Metalloproteinazların Rolü ve Antioksidanların Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, 20-21.
71. Simonian, NA., Coyle, JT. (1996). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 36, 83- 106.
72. Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, JA., Deemer, EK. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3122-3128.
73. Larson, RA. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969-978.
74. Duthie, GG., Wahle, KWJ., James, WPT. (1989). Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutrition Research Review*, 2(1), 51-62.
75. Di Mascio, P., Murphy, ME., Sies, H. (1991). Antioxidant defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1), 194-200.

76. Demircan, İB. (2012). *Histidin-Triptofan-Ketoglutarat (HTK) çözeltisine eklenen Acetyl-L-Carnitin'in donör uterus'daki koruyucu etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 64,72.
77. İnternet: Mimica-Dukic, Neda. ANTIOXIDANTS IN HEALTH AND DISEASES. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.iama.gr%2Fethno%2Fethno%2Fveda_en.htm&date=2015-07-29. Son Erişim Tarihi: 29.07.2015
78. Bieber, LL. (1988). Carnitine. *Annual Review of Biochemistry*, 57, 261-283.
79. Arslan, A. (2010). *Etanolün İndüklediği Karaciğer Hasarında Matriks Metalloproteinazların Rolü ve Antioksidanların Etkisi* Uzmanlık tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Zonguldak.
80. Vaz, FM., Wanders, RAJ. (2002). Carnitine biosynthesis in mammals. *Journal of Biochemistry*, 361, 417-429.
81. Monograph (Editorial). (2005). L-carnitine. *Alternative Medical Review*, 10(1), 42-50.
82. Flanagan, JL., Simmons, PA., Vehige, J., Willcox, MD., Garrett, Q. (2010). Role of carnitine in disease. *Nutrition and Metabolism (Lond)*, 7:30, 1-14.
83. Gönen, D. (1999). Karnitin: sentez, metabolizma, fonksiyon ve iskemik kalpte terapötik önemi, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 19(1), 55-62.
84. Demirdağ, K., Bahçecioğlu, İH., Ozercan, İH., Ozden, M., Yılmaz, S., Kalkan, A. (2004). Role of L-carnitine in the prevention of acute liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19(3), 333-338.
85. Yavuz, H., Kurtoğlu, F. (2012). Biyokimyasal Özellikleri ile L-Karnitin. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 38(2), 207-218.
86. Rebouche, CJ. (1999). Carnitine. *Nutrition in Health and Disease*, 9 Edition, Baltimore: Williams and Wilkins, pp. 505-512.
87. Rebouche, CJ., Paulson, DJ. (1986). Carnitine metabolism and function in humans. *Annual Review of Nutrition*, 6, 41- 66.
88. Rebouche, CJ. (1987). Carnitine metabolism and human nutrition. *The Journal of Applied Nutrition*, 117, 1024-1031.
89. Calabrese, V., Giuffrida Stella, AM., Calvani, M., Butterfield, DA. (2006). Acetyl carnitine and cellular stressresponse: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(2), 73-88.
90. Rebouche, CJ. (1991). Ascorbic acid and carnitine biosynthesis. *Journal of Clinical Nutrition*, 54(6), 1147-1152.
91. Rebouche, CJ., Engel, AG. (1980). Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man, *Biochemica et Biophysica Acta*, 630(1), 22-29.

92. Hoppel, C. (2003). The role of carnitine in normal and altered fatty acid metabolism, *Journal of Kidney Diseases*, 4(4)1, 4-12.
93. Karayaylalı, İ., Tamer, L., Güvenç, B., Adam, SM., Gürbüz, E., İsbir, T., Paydaş, S., Seyrek, N., Sağlıker, Y. (1997). Kronik hemodializ hastalarında L-Karnitin ilavesinin lipid profili, $Ca^{+2}Mg^{+2}$ ATPaz, $Na^{+}K^{+}$ ATPaz ve intrasellüler Ca^{+2} üzerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22(3), 152-157.
94. Coşkun, Ö., Öter, S. (2001). Karnitin (L-Carnitine): Genel bilgiler ve egzersiz ile ilişkisi; fizyolojik ve morfolojik etkileri. *Eğitimde-Bilimde-Haberde Sağlık*, 3(1), 11-22.
95. Önal, A., Astarçioğlu, H., Örmen, M., Atila, K., Sarioğlu, S. (2004). Sıçandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-Karnitinin koruyucu etkisi. *Ulusal Travma Dergisi*, 10(3), 160-167.
96. Lango, R., Smolenski, RT., Narkievvicz, M., Suchorzewska, J., Lysiak-Szydłowska, W. (2001). Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass. *Cardiovascular Research*, 51(1), 9-21.
97. Odabaşı, D. (2006). *L-Karnitin'in Rat Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Akciğer ve Endotel Hasarı Üzerine Etkisi*. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta, 54-56.
98. Taştekin, A. (2004). *Yenidoğan Rat Serebellar Hücre Kültürlerinde Glutamat ve Kainat ile Oluşturulmuş Nörotoksitede L-Karnitinin Nöroprotektif Değeri*. Yan Dal Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erzurum.
99. Tein, I. (2003). Carnitine transport: pathophysiology and metabolism of known molecular defects. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 26(2-3), 147-169.
100. Binienda, ZK. (2003). Neuroprotective effects of L-carnitine in induced mitochondrial dysfunction. *Annals of the New York Academy of Science*, 993, 289-295.
101. Köklü, AH. (2013). *L-Karnitin'in oral mukozada yara iyileşmesi üzerine etkisinin farklı yöntemlerle incelenmesi*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 45-46.
102. Rebouche, CJ. (2004). Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-Carnitine and Acetyl-L-carnitine metabolism. *Annals of the New York Academy of Science*, 1033, 30-41.
103. Stasi, MA., Scioli, MG., Arcuri, G., Mattera, GG, Lombardo, K., Marcellini, M., Riccioni, T., Falco, SD., Pisano, C., Spagnoli, .G., Borsini, F., Orlandi, A. (2010). Propionyl L-Carnitine improves postischemic blood flow recovery and arteriogenic revascularization and reduces endothelial NADPH-Oxidase 4-Mediated superoxide production. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 30(3), 426-435.
104. Güllü, İ. (Editör), (2007). *Anjiogenez*. (Birinci Baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 7-18.

105. Couturier, A., Ringseis, R., Mooren, FC., Krüger, K., Most, E., Eder, K. (2013). Carnitine supplementation to obese Zucker rats prevents obesity-induced type I to type II muscle fiber transition and favors an oxidative phenotype of skeletal muscle. *Nutrition&Metabolism*, 10(48), 1-11.
106. Walter, LM., Rogers, PAW., Girling, JE. (2010). Vascular endothelial growth factor-A isoform and (co)receptor expression are differentially regulated by 17 β -oestradiol in the ovariectomised mouse uterus. *Society for Reproduction and Fertility*, 140(2), 331-341.
107. Silva, LA., Klein, C., Ealy, AD., Sharp, DC. (2011). Conceptus-mediated endometrial vascular changes during early pregnancy in mares: an anatomic, histomorphometric, and vascular endothelial growth factor receptor system immunolocalization and gene expression study. *Reproduction*, 142(4), 593-603.
108. Carino, C., Olawaiye, AB., Cherfils, S., Serikawa, T., Lynch, MP., Rueda, BR., Gonzalez, RR. (2008). Leptin regulation of pro-angiogenic molecules in benign and cancer endometrial cells. *International Journal of Cancer*, 123(12), 2782-2790.
109. Weng, J., Li, B., Sheng, X., Zhang, H., Hu, X., Zhou, J., Xu, M., Weng, Q., Watanabe, G., Taya, K. (2012). Seasonal changes in immunoreactivity of vascular endothelial factor and its receptors VEGFR1 and VEGFR2 in the uterus of wild ground squirrels. *Journal of Reproduction and Development*, 58(5), 537-543.
110. Longatto-Filho, A., Pinheiro, C., Martinho, O., Moreira, MAR., Ribeiro, LFJ., Queiroz, GS., Schmitt, FC., Baltazar, F., Reis, RM. (2009). Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenosquamous carcinoma. *BioMed Cancer*, 212(9), 1-8.
111. Gelfand, MV., Hagan, N., Tata, A., Oh, WJ., Lacoste, B., Kang, KT., Kopycinska, J., Bischoff, J., Wang, JH., Gu, C. (2014). Neuropilin-1 functions as a VEGFR2 co-receptor to guide developmental angiogenesis independent of ligand binding. *eLIFE*, 3, 1-18.
112. Goyal, A., Neill, T., Owens, RT., Schaefer, L., Iozzo, RV. (2014). Decorin activates AMPK, an energy sensor kinase, to induce autophagy in endothelial cells. *Matrix Biology*, 34, 46-54.
113. Gong, C., Xu, C., Ji, L., Wang, Z. (2013). A novel semi-synthetic andrographolide analogue A5 inhibits tumor angiogenesis via blocking the VEGFR2-p38/ERK1/2 signal pathway. *BioScience Trends*. 7(5), 230-236.
114. Larrayo, M., Pio, R., Pajares, MJ., Zudaire, I., Ajona, D., Casanova, O., Montuenga, LM., Agorreta, J. (2014). Contrasting responses of non-small cell lung cancer to antiangiogenic therapies depend on histological subtype. *EMBO Molecular Medicine*, 6(4), 539-550.
115. Colbert, LS., Wilson, K., Kim, S., Liu, Y., Oprea-Ilie, G., Gillespie, C., Dickson, T., Newman, G., Gonzalez-Perez, RR. (2014). NILCO biomarkers in breast cancer from Chinese patients. *BioMed Cancer*, 2 (14) ,1-12.

116. Eswaraka, J., Giddabasappa, A., Han, G., Lalwani, K., Eisele, K., Feng, Z., Affolter, T., Christensen, J., Li, G. (2014). Axitinib and crizotinib combination therapy inhibits bone loss in a mouse model of castration resistant prostate cancer. *BioMed Cancer*, 14(742), 1-10.
117. Siveen, KS., Ahn, KS., Ong, TH., Shanmugam, MK., Li, F., Yap, WN., Kumar, AP., Fong, CW., Tergaonkar, V., Hui, KM., Sethi, G. (2014). γ -tocotrienol inhibits angiogenesis-dependent growth of human hepatocellular carcinoma through abrogation of AKT/mTOR pathway in an orthotopic mouse model. *Oncotarget*, 7(5), 1897-1911.
118. Tilling, L., Hunt, J., Donald, A., Clapp, B., Chowienczyk, P. (2014). Arterial injury and endothelial repair: Rapid recovery of function after mechanical injury in healthy volunteers. *Cardiology Research and Practice*, 2014, 1-7.
119. Sheng, T., Anwen, S., Lihong, R., Tin, C., Dingguo, Y. (2014). Angiogenesis effect of Astragalus polysaccharide combined with endothelial progenitor cells therapy in diabetic male rat following experimental hind limb ischemia. *Chinese Medical Journal*, 127(11), 2121-2128.
120. Jopling, HM., Odell, AF., Pellet-Many, C., Latham, A.M., Frankel, P., Sivaprasadarao, A., Walker, J.H., Zachary, IC., Ponnambalam, S. (2014). Endosome-to-plasma membrane recycling of VEGFR2 receptor tyrosine kinase regulates endothelial function and blood vessel formation. *Cells*, 3(2), 363-385.
121. Adamczak, JM., Schneider, G., Nelles, M., Que, I., Suidgeest, E., Weerd, L., Löwik, C., Hoehn, M. (2014). In vivo bioluminescence imaging of vascular remodeling after stroke. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8:274, 1-11.
122. Gaumann, AKA., Drexler, HCA., Lang, SA., Stoeltzing, O., Diermeier-Daucher, S., Buchdunger, E., Wood, J., Bold, G., Breier, G. (2014). The inhibition of tyrosine kinase receptor signalling in leiomyosarcoma cells using the small molecule kinase inhibitor PTK787/ZK222584 (Vatalanib®). *International Journal of Oncology*, 45(6), 2267-2277.
123. Pal, HC., Sharma, S., Strickland, LR., Agarwal, J., Athar, M., Elmets, CA., Afaq, F. (2013). Delphinidin reduces cell proliferation and induces apoptosis of non-small-cell lung cancer cells by targeting EGFR/VEGFR2 signaling pathways. *PLOS ONE*, 8(10), 1-13.
124. Liao, X., Zhou, X., Mak, N., Leung, K. (2013). Tryptanthrin inhibits angiogenesis by targeting the VEGFR2-mediated ERK1/2 signalling pathway. *PLOS ONE*, 8(12), 1-10.
125. Qin, Q., Qian, J., Ge, L., Shen, L., Jia, J., Jin, J., Ge, J. (2014). Effect and mechanism of Thrombospondin-1 on the angiogenesis potential in human endothelial progenitor cells: an in Vitro study, *PLOS ONE*, 9(2), 1-10.
126. Jansson, S., Bendah, PO., Grabau, DA., Falck, AK., Ferno, M., Aaltonen, K., Ryde'n, L. (2014). The three receptor tyrosine kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR α , closely spaced at 4q12, show increased protein expression in triple-negative breast cancer. *PLOS ONE*, 9(7), 1-10.

127. Lu, H., Han, YJ., Xu, JD., Xing, WM., Chen, J. (2014). Proteomic characterization of Acyclovir-induced nephrotoxicity in a mouse model. *PLOS ONE*, 9(7), 1-6.
128. Fortunato, TM., Vara, DS., Wheeler-Jones, CP., Pula, G. (2014). Expression of protease-activated receptor 1 and 2 and anti-tubulogenic activity of protease-activated receptor 1 in human endothelial colony-forming cells. *PLOS ONE*, 9(10), 1-10.
129. Herzog, B., Pellet-Many, C., Britton, G., Hartzoulais, B., Zachary, IC. (2011). VEGF binding to NRP1 is essential for VEGF stimulation of endothelial cell migration, complex formation between NRP1 and VEGFR2, and signaling via FAK Tyr407 phosphorylation. *Molecular Biology of the Cell*, 22(15), 2766-2776.
130. Mousavi, M., Baharara, J., Shahrokhbabadi, K. (2014). The synergic effects of Crocus Sativus L. and low frequency electromagnetic field on VEGFR2 gene expression in human breast cancer cells. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 6(2), 123-127.
131. Sleijfer, S., Gorlia, T., Lamers, C., Burger, H., Blay, JY., Le Cesne, A., Scurr, M., Collin F., Pandite, L., Marreaud, S., Hohenberger, P. (2012). Cytokine and angiogenic factors associated with efficacy and toxicity of pazopanib in advanced soft-tissue sarcoma: an EORTC-STBSG study. *British Journal of Cancer*, 107(4), 639-645.
132. Yoshiji, H., Noguchi, R., Namisaki, T., Moriya, K., Kitade, M., Aihara, Y., Douhara, A., Yamao, J., Fujimoto, M., Toyohara, M., Mitoro, A., Sawai, M., Yoshida, M., Morioka, C., Uejima, M., Uemura, M., Fukui, H. (2013). Branched-chain amino acids suppress the cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma under conditions of insulin-resistance. *Oncology Reports*, 30(2), 545-552.
133. Hu, Q., Dey, AL., Yang, Y., Shen, Y., Jilani, IB., Estey, EH., Kantarjian, HM., Giles, FJ., Albitar, M. (2004). Soluble vascular endothelial growth factor receptor 1, and not receptor 2, is an independent prognostic factor in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *American Cancer Society*, 100(9), 1884-1891.
134. Batchelor, TT., Gerstner, ER., Emblem, KE., Duda, DG., Kalpathy-Cramer, J., Snuder, M., Ancukiewicz, M., Polaskova, P., Pinho, MC., Jennings, D., Plotkin, SR., Chi, AS., Eichler, AF., Dietric, J., Hochberg, FH., Lu-Emerson, C., Iafrate, AJ., Ivy, SC., Rosen, BR., Loeffler, JS., Wen, PY., Sorensen, AG., Jain, RK. (2013). Improved tumor oxygenation and survival in glioblastoma patients who show increased blood perfusion after cediranib and chemoradiation. *PNAS*, 100(47), 19059-19064.
135. Zhu, A.X., Ancukiewicz, M., Supko, JG., Sahani, DV., Blaszkowsky, LS., Meyerhardt, JA., Abrams, TA., McCleary, NJ., Bhargava, P., Muzikansky, A., Sheehan, S., Regan, E., Vasudev, E., Knowles, M., Fuchs, CS., Ryan, DP., Jain, RK., Duda, DG. (2013). Efficacy, safety, pharmacokinetics, and biomarkers of Cediranib monotherapy in advanced hepatocellular carcinoma: A phase II study. *Clinical Cancer Research*, 19(6), 1557-1566.
136. Collet, G., Lamerant-Fayel, N., Tertit, M., El Hafny-Rahbi, B., Stepniewski, J., Guichard, A., Foucault-Collet, A., Klimkiewicz, K., Petoud, S., Matejuk, A., Grillon, C., Jozkowicz, A., Dulak, J., Kieda, C. (2014). Hypoxia-regulated overexpression of soluble VEGFR2 controls angiogenesis and inhibits tumor growth. *Molecular Cancer Therapeutics*, 13(1), 165-178.

137. Yap, TA., Arkenau, HT., Camidege, R., George, S., Serkova, NJ., Gwyther, SJ., Spratlin, JL., Lal, R., Spicer, J., Desouza, NM., Leach, MO., Chick, J., Poondru, S., Boinpally, R., Gedrich, R., Brock, K., Stephens, A., Eckhardt, SG., Kaye, SB., Demetri, G., Scurr, M. (2013). First-in-human phase I trial of two schedules of OSI-930, a novel multikinase inhibitor, incorporating translational proof-of-mechanism studies. *Clinical Cancer Research*, 19(4), 909-919.
138. Purdue, MP., Hofmann, JN., Kemp, TJ., Chaturvedi, AK., Lan, Q., Park, JH., Pfeiffer, RM., Hildesheim, A., Pinto, LA., Rothman, N. (2013). A prospective study of 67 serum immune and inflammation markers and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Blood Journal*, 122(6), 951-957.
139. Wada, T., Jesmin, S., Gando, S., Yanagida, Y., Mizugaki, A., Sultana, SN., Zaedi, S., Yokota, H. (2013). The role of angiogenic factors and their soluble receptors in acute lung injury (ALI)/ acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with critical illness. *Journal of Inflammation*, 10(6), 1-8.
140. Fantin, A., Herzog, B., Mahmoud, M., Yamaji, M., Plein, A., Denti, L., Ruhrberg, C., Zachary, I. (2014). Neuropilin 1 (NRP1) hypomorphism combined with defective VEGF-A binding reveals novel roles for NRP1 in developmental and pathological angiogenesis. *Development*, 141(3), 556-562.
141. Li, JL., Harris, AL. (2009). Crosstalk of VEGF and Notch pathways in tumour angiogenesis: therapeutic implications. *Frontiers in Bioscience*, 14, 3094-3110.
142. Perico, N., Cattaneo, D., Sayegh, MH., Remuzzi, G. (2004). Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet*, 364(9447), 1814-1827.
143. Anaya-Prado, R., Delgado-Vazquez, JA. (2008). Scientific basis of organ preservation. *Current Opinion in Organ Transplantation*, 13(2), 129-134.
144. Jamieson, RW., Friend, PJ. (2008). Organ reperfusion and preservation. *Frontiers in Bioscience*, 13, 221-235.
145. Hicks, M., Hing, A., Gao, L., Ryan, J., Macdonald, PS. (2006). Organ preservation. *Methods in Molecular Biology*, 333, 331-374.
146. Maathuis, MH., Leuvenink, HG., Ploeg, RJ. (2007). Perspectives in organ preservation. *Transplantation*, 83(10), 1289-1298.
147. Vela, C., Thomsen, M., Delbasc, S., Calise, D., Cristol, JP., Maurad, G. (2007). Lipid and oxidative stress disorders in a rat model of chronic rejection. *Transplantation Proceedings*, 39(8), 2617-2619.
148. Salahudeen, AK. (2004). Cold ischemic injury of transplanted kidneys: new insights from experimental studies. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 287(2), F181-187.
149. Tártaro, RD., Jorge, GD., Leonardi, MI., Escanhoela, CA., Leonardi, LS., Boin, IF. (2015). No protective function found in Wistar rats submitted to long ischemia time and reperfusion after intermittent clamping of the total hepatic pedicle. *Transplantation Proceedings*, 47(4), 1038-1041.

150. Hubert, T., Gmyr, V., Arnalsteen, L., Jany, T., Triponez, F., Caiazzo, R., Vandewalle, B., Vantyghem, MC., Kerr-Conte, J., Pattou, F. (2007). Influence of preservation solution on human islet isolation outcome. *Transplantation*, 83(3), 270–276.
151. Muhlbacher, F., Langer, F., Mittermayer, C. (1999). Preservation solutions for transplantation. *Transplantation Proceedings*, 31(5), 2069-2070.
152. Esmailzadeh, M., Fonouni, H., Golriz, M., Majlesara, A., Kuttymuratov, G., Bergmann, F., Jarahian, P., Khazaeipour, Z., Faridar, A., Rad, MT., Longerich, T., Gebhard, MM., Mehrab, A. (2016). Evaluation of the modified HTK solution in pancreas transplantation-An experimental model. *Asian Journal of Surgery*, 39(2), 66-73.
153. Kang, SK., Kang, MW., Rhee, YJ., Kim, CS., Jeon, BH., Han, SJ., Cho, HJ., Na, MH., Yu, J.H. In vivo neuro protective effect of Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate solution in an ischemia/reperfusion spinal cord injury animal model. (2016). *The Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 49(4), 232-241.
154. Yalçın, AS. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, 11(1-2), 342-346.
155. Delabar, JM., Nicole, A., D'auriol, L., Jacob, Y., Meunier-Rotival, M., Galibert F., Sinet, PM., Jérôme, H. (1987). Cloning and sequencing of a rat CuZn Superoxide dismutase cDNA. *European Journal of Biochemistry*, 166(1), 181-187.
156. Slater, TF. (1984). Free radical mechanisms in tissue injury. *The Biochemical Journal*, 222(1), 1-15.
157. Dolińska, B., Ryszka, F., Cieślik, AO. (2006). The effect of selected antioxidants on the kinetics of changes in the stability of an HTK solution: A Technical Note Submitted. *AAPS PharmSciTech*, 7 (2), Article 51.
158. Mayes, PA. (2000). Lipids of physiologic significance. In: Murray RK, Granner DK, Mayes, PA, Rodwell, VW.(Eds.), *Harper's Biochemistry*. 25th Edition. Stamford: Appleton and Lange, 160-171.
159. Kalaiselvi, T., Panneerselvam, C. (1998). Effect of L-carnitin on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(10), 575-581.
160. Shokeir, AA., Barakat, N., Hussein, AM., Awadalla, A., Abdel-Aziz, A., Abo-Elenin, H. (2010). Role of combination of L -arginine and α -tocopherol in renal transplantation ischaemia/ reperfusion injury: a randomized controlled experimental study in a rat model. *Bju International*, 108, 612–618.
161. Atalay, YO., Aktas, S., Sahin, S., Kucukodaci, Z., Ozakpinar, BO. (2015). Remifentanyl protects uterus against ischemia-reperfusion injury in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 30 (11), 756-761.
162. Akbulut, S., Sevmis, S., Karakayali, H., Bayraktar, N., Unlukaplan, M., Oksuz, E., Dagdeviren, A. (2014). Amifostine enhances the antioxidant and hepatoprotective effects of UW and HTK preservation solutions. *World Journal of Gastroenterology*, 20(34), 12292-12300.

163. Warzecha, Z., Sendur, P., Ceranowicz, P., Cieszkowski, J., Dembiński, M., Sendur, R., Bonior, J., Jaworek, J., Ambrozy, T., Olszanecki, R., Kusnierz-Cabala, B., Kaczmarzyk, T., Tomaszewska, R., Dembiński, A. Therapeutic effect of low doses of acenocoumarol in the course of ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis in rats. (2017). *International Journal of Molecular Sciences*, 18(882), 1-19.
164. Tian, WF., Weng, P., Sheng, Q., Chen, JL., Zhang, JR., Du, B., Wu, MC., Pang, QF., Chu, JJ. Biliverdin protects the isolated rat lungs from ischemia- reperfusion injury via antioxidative, anti-inflammatory and anti- apoptotic effects. (2017). *Chinese Medical Journal*, 130(7), 859-865.
165. Senger, DR., Galli, SJ., Dvorak, AM., Perruzzi, CA., Harvey, VS., Dvorak, HF. (1983). Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*, 219(4587), 983-985.
166. Waltenberger, J., Mary, U., Pentz, S., Hombach, V. (1996). Functional upregulation of the vascular endothelial growth factor receptor KDR by hypoxia. *Circulation*, 94(7), 1647-1654.
167. Graubert, MD., Ortega, MA., Kessel, B., Mortola, JF., Iruela-Arispe, ML. (2001). Vascular repair after menstruation involves regulation of vascular endothelial growth factor-receptor phosphorylation by Sflt-1. *American Journal of Pathology*, 158(4), 1399-1410.
168. Song, WW., Lu, H., Hou, WJ., Xu, GX., Zhang, JH., Sheng, YH., Cheng, MJ., Zhang, R. (2014). Expression of vascular endothelial growth factor C and anti-angiogenesis therapy in endometriosis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(11), 7752-7759.
169. Suzuma, K., Takagi, H., Otani, A., Suzuma, I., Honda, Y. (1998). Increased expression of KDR/Flk-1 (VEGFR-2) in murine model of ischemia-induced retinal neovascularization. *Microvascular Research*, 56(3), 183-191.
170. Rissanen, TT., Vajanto, I., Hiltunen, MO., Rutanen, J., Kettunen, MI., Niemi, M., Leppänen, P., Turunen, MP., Markkanen, JE., Arve, K., Alhava, E., Kauppinen, RA., Herttuala, SY. (2002). Expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 (KDR/Flk-1) in ischemic skeletal muscle and its regeneration. *American Journal of Pathology*, 160(4), 1393-1403.





EKLER

EK-1. Etik Kurul



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 66332047-604.01.02/97-12317
KONU :

29/05/2013

Sayın

Prof.Dr.Candan ÖZOĞUL
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Candan ÖZOĞUL, Seren Gülşen GÜRGEN, Tuğba UĞURLU, Seda Nur AKYOL, Sanem ARIK ve Bahar KARTAL'dan oluşan, G.Ü.ET-13.040 kod numaralı ve "**Antioksidanların Uterus Transplantasyonunda Angiogeneze Etkileri**" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-13.040 and entitled "**The Effect of Antioxidants to Angiogenesis on Uterine Transplantations**" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

Prof.Dr. Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

EK-2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası



10-20 Aralık 2012

**XII. DENEY HAYVANLARI
UYGULAMA VE ETİK KURSU****KATILIM SERTİFİKASI***Sayın, Tuğba UĞURLU*

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile Gazi Üniversitesi
Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve
DeneySEL Araştırmalar Merkezi tarafından,
10-20 Aralık 2012 tarihleri arasında düzenlenen
"Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu XII"ye katılarak,
Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve
bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

[Signature]
Prof. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER
Rektör

[Signature]
Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN
Merkez Müdürü

[Signature]
Prof. Dr. Leyla AÇIK
Etik Kurul Başkanı

Sertifika No. 2012/12-27

Ek-2. (devam) Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası



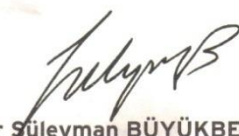
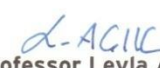
10-20 December 2012

**XIIth LABORATORY
ANIMAL PRACTICE & ETHICS****CERTIFICATE***This is to certify that,**Tugba UGURLU*

has participated successfully in the

"12th Laboratory Animal Practice and Ethics Course"

that has been held in Ankara/Turkey, 10-20 December 2012.


Professor Süleyman BÜYÜKBERBER
Rector, Gazi University
Professor Nurten TÜRKÖZKAN
Director of GUDAM
Professor Leyla AÇIK
Chairman of Ethics Committee

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Uğurlu, Tuğba
 Uyuğu : TC
 Doğum tarihi ve yeri : 23.09.1989/ ALTINDAĞ
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 05058411501
 Faks : -
 e-mail : tugbaugurlu23@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yükse Lisans	Gazi Üniversitesi/Histoloji ve Embriyoloji AbD.	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Figen Sakallıoğlu Anadolu Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-2016	GOP Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi/ Patoloji Laboratuvarı	Biyolog
2016- devam ediyor	ZTB Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi/ Genetik Laboratuvarı	Biyolog

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Uğurlu, T., Ozogul, C., Sarıbaş, GS., Gürgen, SG., Akyol, SN., Kartal, B.(2017) The effect of antioxidants on angiogenesis in uterine transplantation. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1-6.

HobilerKitap okuma, Gezme, Yüzme, Zumba



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..