



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**ORGAN TRANSPLANTASYONUNDA KULLANILAN
HTK (HİSTİDİN TRİPTOFAN KETOGLUTARAT)
SOLÜSYONUNA EKLENEN ASETİL L-KARNİTİNİN
UTERUSTAKİ FİBROZİSE ETKİLERİ**

DOĞA DOĞRU

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NİSAN 2017



**ORGAN TRANSPLANTASYONUNDA KULLANILAN HTK (HİSTİDİN
TRİPTOFAN KETOGLUTARAT) SOLÜSYONUNA EKLENEN
ASETİL L-KARNİTİNİN UTERUSTAKİ FİBROZİSE ETKİLERİ**

Doğa DOĞRU

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

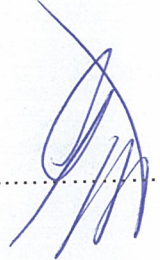
**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2017

Doğa DOĞRU tarafından hazırlanan "ORGAN TRANSPLANTASYONUNDA KULLANILAN HTK (HİSTİDİN TRİPTOFAN KETOGLUTARAT) SOLÜSYONUNA EKLENEN ASETİL L-KARNİTİNİN UTERUSTAKİ FİBROZİSE ETKİLERİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

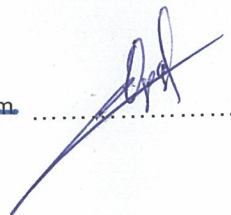
Danışman: Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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



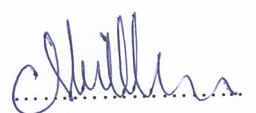
Başkan : Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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



Üye : Doç. Dr. Ayten TÜRKKANI
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, TOBB ETÜ Üniversitesi

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



Tez Savunma Tarihi: 05/04/2017

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS / DOKTORA 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.

Doğa DOĞRU
05.04.2017



ORGAN TRANSPLANTASYONUNDA KULLANILAN HTK (HİSTİDİN TRİPTOFAN
KETOGLUTARAT) SOLÜSYONUNA EKLENEN
ASETİL L-KARNİTİNİN UTERUSTAKİ FİBROZİSE ETKİLERİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Doğa DOĞRU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Nisan 2017

ÖZET

Günümüzde uterus faktörlü infertil olan kadınlarda uterus transplantasyonu fertilité için alternatif olarak görülmektedir. Organ transplantasyonlarında organın vücuttan çıkartılması, korunması ve nakledilmesi sırasında organ yapısında bazı değişiklikler meydana gelebilir. Donör organın alıcıya nakledilene kadar geçen sürede, canlılığını ve metabolizmasını korumak ve nakilden sonrada iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak için kullanılan bir takım koruma solüsyonları geliştirilmiştir. Bu çalışmada, koruma solüsyonlarından Histidin Triptofan Ketoglutarat (HTK) içerisine eklenen antioksidan ajan acetyl L-carnitinin uterus dokusunda meydana gelebilecek olan fibrozis üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmada lisanslı Saki YENİLLİ Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarı'ndan sağlanan Wistar Albino cinsi, 200-250 gram ağırlığında 24 adet, dişi sıçanlar kullanıldı. Çalışmada kullanılan sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Uterinal siklus evreleri göz önüne alınmadan randomize çalışıldı, siklik değişiklikler bulgulara yansıtılmamış, ancak deney prosedürünü ilgilendiren sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır. 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 + acetyl L-Carnitin 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 + acetyl L-Carnitin solüsyonunda bekletildi. Alınan dokuları incelemek için dokular tespit (fiksasyon), suyunu alma (dehidratasyon), saydamlaştırma, parafinle muamele (parafinizasyon), blok hazırlama, kesit hazırlama ve boyama aşamalarından geçirildi. Elde edilen dokuları histomorfolojik olarak değerlendirmek için Masson trikrom boyaması ve fibronektin tutulumunu belirlemek için ise immunohistokimyasal boyamalar yapıldı. Masson trikrom boyaması değerlendirmeleri sonucunda lamina propriya bağ doku içeriğinin en iyi 4 saatlik HTK + Acetyl L-carnitin grubunda korunabildiği sonucuna varıldı. İmmunohistokimyasal değerlendirme sonucunda ise uterus bazal membran yapılarının en iyi 4 saatlik HTK+ Acetyl L-carnitin grubunda korunduğu gözlemlendi. Sonuç olarak 4 saatlik Acetyl L-carnitin eklenmiş uygulamanın uterus dokusunun normal histolojik yapısının korunmasında en uygun seçenek olabileceği kanısına varıldı.

Bilim Kodu :

Anahtar Kelimeler : Asetil L-Karnitin, Fibrozis, HTK, Transplantasyon, Uterus

Sayfa Adedi : 85

Danışman : Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU

FIBROSIS EFFECTS OF ACETYL L-CARNITINE ADDED HTK
(HISTIDINE TRYPTOPHANE KETOGLUTARATE), THAT USED IN ORGAN
TRANSPLANTATION IN UTERUS
(M. Sc. Thesis)

Doğa DOĞRU

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
April 2017

ABSTRACT

Nowadays, uterine transplantation is seen as an alternative way to fertility in women with uterine-infertility. During organ transplantation, some changes in organ structure may occur while removing, preservation and transplantation of the organ. A number of protection solutions have been developed which are used to protect the viability and metabolism of the donor organ and to reduce ischemia-reperfusion injury after transplantation. In this study, the protective effect of acetyl L-carnitine, which is an antioxidant agent, added to Histidine Tryptophan Ketoglutarate (HTK) from preservation solutions on the fibrosis which may occur in uterine tissue was investigated. This study was conducted at the Ankara Training and Research Hospital Experimental Research Center. Wistar Albino genus 24 rats which weight are 200-250 grams, supplied from the Saki YENİLLİ Experimental Animal Production Laboratory, licensed in the study, were used. The rats used in the study were randomly divided into 4 groups. Randomization was attempted without consideration of uterine cycle stages, with cyclical changes not reflected in findings, but the results of interest in the experimental procedure were evaluated. The uterus in group 1 was kept in the simple HTK solution for 4 hours in the cold period of 4 ° C. The uterus in group 2 was kept in HTK + acetyl L-Carnitine solution at 4 ° C for 4 hours. The uterus in group 3 was kept in simple HTK solution at 4 ° C for 24 hours. The uterus in group 4 was kept in HTK + acetyl L-Carnitine solution at 4 ° C for 24 hours. To examine the tissues, the tissues were passed through the stages of tissue fixation, dehydration, clarification, paraffinization, block preparation, section preparation and staining. Masson trikrom staining was used to evaluate histomorphologic findings and immunohistochemical stainings were used to determine fibronectin involvement. As a result of Masson trikrom staining evaluation, it was concluded that the content of lamina propria connective tissue can be maintained in the best 4 hours HTK + Acetyl L-carnitine group. Immunohistochemical evaluation revealed that uterine basement membrane structures were best preserved in the 4 hour HTK + Acetyl L-carnitine group. As a result, 4 hours Acetyl L-carnitine added application may be the best option for preserving the normal histological structure of uterine tissue.

Science Code :

Key Words : Acetyl L-Carnitine, Fibrosis, HTK, Transplantation, Uterus

Page Number : 85

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL' a,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU' na,

Eğitim sürecimde bilgi birikimi ve hayat tecrübesiyle bana yol gösteren değerli hocalarım; Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU' na, Prof. Dr. Çiğdem ELMAS' a ve Uzm. Dr. Seda Nur AKYOL' a teşekkür ediyorum.

Bu çalışmanın oluşturulması ve tezimin yazımı sırasında tecrübeleri ile sağladığı destek ve yardımları için Sanem SARIBAŞ'a, tez dönemim boyunca yanımda olan ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım dönem arkadaşım Pakize Nur AKKAYA' ya,

Bugünü yaşamamda en büyük katkısı olan, maddi ve manevi desteğini yaşamımın her anında hissettiğim sevgili Anneciğim Kamer DOĞRU, sevgili Babacığım Oğuzhan DOĞRU'ya ve biricik kardeşlerim Feride DOĞRU ve Selen DOĞRU' ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
KISALTMALAR VE SİMGELER	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Uterus Gelişimi.....	5
2.2. Uterus Anatomisi.....	9
2.3. Uterus Histolojisi	9
2.4. Menstrual Döngü.....	15
2.5. Uterus Fizyolojisi.....	18
2.6. Organ Transplantasyonu.....	21
2.6.1. Uterus transplantasyonu	21
2.7. Organ Korumanın Patofizyolojisi	22
2.8. Transplantasyon Sonrası İskemi-Reperfüzyon Ve Fibronektin- Fibrozis	25
2.9. Organ Koruma Solüsyonları	26
2.9.1. Koruyucu sıvılar	27
2.10. Serbest Radikaller.....	29
2.11. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	32
2.11.1 Enzimatik Antioksidanlar	33

	Sayfa
2.11.2.Enzimatik olmayan antioksidanlar	34
2.12. L-Carnitin	35
2.12.1. Biyosentezi ve fizyolojik rolü	35
2.12.2 L-Carnitin ve antioksidan etki.....	37
2.12.3. L-Carnitin'in kullanım alanları ve eksikliği	37
2.12.4. Carnitin eksikliği ile ortaya çıkan metabolik bozukluklar.....	38
2.12.5. Acetyl L-Carnitin.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	39
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	39
3.2. Masson Trikrom Üçlü Boyama Yöntemi	40
3.3. İmmunohistokimyasal Yöntem	41
3.4. İstatistiksel Yöntem.....	42
4. BULGULAR	43
4.1. Masson Trikrom Boyama Bulguları	43
4.2. Alan Renk Değerlendirmesi	54
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular	54
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ.....	69
KAYNAKLAR	71
EKLER.....	81
Ek-1. Etik Kurul.....	82
Ek-2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası	83
ÖZGEÇMİŞ	84

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Çizelge 2.1. Klinikte kullanılan prezervasyon solüsyonlarının içerikleri	29
Çizelge 2.2. Önemli bazı ROS ve RNOS molekülleri.....	30



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. L-Carnitin ve diğer kimyasal formlarının yapısı	35



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan gruba ait küçük büyültmeli incelemelerde uterus dokusu izleniyor. E: epitel, LP: lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum (Masson Trikrom X40).....	46
Resim 4.2. 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan gruba ait uterus dokusuna büyük büyültmeli incelemede, normal yapıda epitel (E), epitelin altında katman oluşturan bağ doku hücreleri (siyah ok), normal yapıda uterus bezleri (sarı ok), Derin lamina propriyada (DLP) yoğun kollagen lif demet içeriği ve miyometriyumda (MYO) kas tabakaları arasında yoğun kollagen lif demetleri (●) izleniyor. PM: perimetriyum (Masson Trikrom X100).	47
Resim 4.3. 4 saat HTK+L-car uygulanan gruba ait küçük büyültmeli incelemelerde, E: epitel, LP: kollagen lif içeriği zayıf lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum gözleniyor (Masson Trikrom X40).....	48
Resim 4.4. 4 saat HTK+L-car uygulanan gruba ait uterus dokusunun büyük büyültmeli incelemesinde, normal yapıda epitel (E) ve normal yapıda uterus bezleri (sarı ok) gözleniyor. Lamina propriyada (LP) seyrek kollagen lif içeriği ve tüm lamina propriyaya dağılmış bağ doku hücreleri (siyah ok) belirgin. MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum (Masson Trikrom X100).	49
Resim 4.5. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunun küçük büyültmeli incelemelerinde, epitelde (E) yer yer dejeneratif görüntü (⇓), lamina propriyada ödem (◆) ilgiyi çekiyor. E: epitel, LP: lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum. (Masson Trikrom X40).....	50
Resim 4.6. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusu büyük büyültmeli incelemelerinde dokunun tüm katmanlarında dejeneratif değişiklikler gözleniyor. Epitel (E) - bazal membran bileşkesinde ayrılmalar (⇓), epitel hücrelerinde yer yer ödem («) ve hiperplazi (❖), bağ doku hücrelerinin epitel altında yoğunlaştığı (siyah ok), derin lamina propriyada (DLP) çok yoğun kollagen lif demetlerin varlığı; kas tabakaları arasında yoğun bağ dokusu varlığından dolayı oluşan kesintiye uğramış (●) miyometriyum tabakası (MYO) izleniyor. PM: perimetriyum (Masson Trikrom X100).....	51

Resim**Sayfa**

Resim 4.7. 24 saat HTK + L-car uygulanan gruba ait küçük büyültmede uterus dokusu. E: epitel, LP: derin bölgelerde kollagen lif içeriği yoğun lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum (Masson Trikrom X40).....	52
Resim 4.8. 24 saat HTK + L-car grubuna ait büyük büyültmede uterus dokusu. Normal yapıda epitel (E), lokal alanlarda epitel altına lokalize bağ doku hücreleri (siyah ok), normal yapıda uterus bezleri (sarı ok), derin lamina propriyada (DLP) yoğun kollagen lif varlığı ve normal görünümde miyometriyum (MYO) ile perimetriyum (PM) görülüyor (Masson Trikrom X100).	53
Resim 4.9. 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunda fibronektin ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda endometriyum epitelinde (siyah ok) , uterus bezlerinde (sarı ok) ve damar duvarında (kırmızı ok) orta derecede tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).	56
Resim 4.10. 4 saat HTK+L-car uygulanan grupta yapılan fibronektin immünohistokimyasal boyamalarında endometriyum epitelinde (siyah ok) , uterus bezlerinde (sarı ok) ve damar duvarında (kırmızı ok) kuvvetli tutulum ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).....	57
Resim 4.11. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan gruba ait fibronektin immünoışaretlemede endometriyum epitelinde (siyah ok) , uterus bezlerinde (sarı ok) ve damar duvarında (kırmızı ok) zayıf immünreaktivite görülüyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).	58
Resim 4.12. 24 saat HTK + L-car grubunda fibronektin immünreaktivitesinin endometriyum epitelinde (siyah ok) ve uterus bezlerinde (sarı ok) kuvvetli, damar duvarında (kırmızı ok) ise orta dereceli olduğu izleniyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).	59

KISALTMALAR VE SİMGELER

TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling
SR	Serbest radikaller
ROS	Reaktif oksijen türleri
GnRH	Gonadotropik serbestleştirici hormon
FSH	Foliküler uyarıcı hormon
LH	Luteinize edici hormon
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotit
ATP	Adenozin trifosfat
KoA	Koenzim-A
HTK	Histidin-Triptofan-Ketoglutarat
UW	Wisconsin Üniversitesi
CEL	Celsior
SF	Saline
IVF	In vitro fertilizasyon
NO	Nitrik oksit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
SOD	Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

Son otuz yıl içerisinde bilim adamları, infertilite sorunlarını çözmek için büyük çaba harcamaktadırlar. Bu alanda yapılan çalışmalarla birlikte Üremeye Yardımcı Tedavi Tekniklerinde çok büyük gelişmeler yaşanmıştır [1,2].

Son on yıllık dönemde hem kadın hem de erkek infertilitesi tedavilerinde önemli gelişmeler olmuştur. İnfertilitede tıbbi tetkik istenen çiftlerin yaklaşık %40' ında kadına ait nedenler olduğu bilinmektedir. IVF tedavisinin başlaması, ovulatuvar bozukluklar ve tubal faktörler gibi kadın infertilitesine ait nedenlerin tedavi edilmesine yol açmıştır. Ancak uterus faktörüne bağlı infertilitede altta yatan anomalilerin çoğu tedavi edilebilir değildir. Yakın bir zamana kadar uterus faktörlü infertiliteye sahip hastaların genetik olarak anne olabilmeleri için tek seçenek taşıyıcı annelik olarak bilinmekteydi [3].

Bu aşamada Uterus nakli bu soruna bir çözüm sağlayabilmektedir. Güvenli bir prosedür ve pozitif bir sonuç ile uterus faktörlü infertil kadınların uterus nakli ile kendi çocuklarına sahip olma fırsatı olabilmektedir [1,2].

Uterusa bağlı infertilite tedavisinde Uterus nakli yeni bir fikir değildir. Deneysel çalışmalar 1960 ve 1970 yılları arasında rapor edilmiştir [1,2].

Bir insandan başka bir insana Uterus nakil girişimi, dünyada ilk kez 2000 yılında Suudi Arabistan'da gerçekleştirilmiştir. 46 yaşındaki canlı donör uterusu, doğum sonrası kanama ve yumurtalık kisti nedeniyle uterusu alınan 26 yaşındaki bir kadına nakledilmiştir. Transfer venöz grafların kullanımı ile uterin damarlardan eksternal iliac damarlara vasküler anastomoz yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak uygulamadan 90 gün sonra nakil yapılan kadının vücudunun uterusu reddettiği bildirilmiştir. Bu denemede doku reddinden ziyade damar torsiyonu ve uterusun yetersiz desteklenmesinden vasküler trombozis meydana geldiği rapor edilmiştir [4].

Bütün organ nakillerinde en önemli konu, donörden alınan organın transplante edilinceye kadar, hücre bütünlüğünü korumak ve hücrenin yaşamsal fonksiyonlarının devamlılığını sağlamaktır [5].

Donör organın alıcıya nakledilene kadar geçen sürede, organın canlılığını ve metabolizmasını korumak ve nakilden sonrada iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak için kullanılan bir takım koruma solüsyonları geliştirilmiştir. Ringer Laktad solüsyonu, Euro-Collins, Ross-Marshall, Wisconsin Üniversitesi (UW), Celsior ve Kyoto, Histidin Triptofan Ketoglutarat (HTK) solüsyonları yaygın olarak kullanılan solüsyonlardır.

HTK solüsyonu 1970' de Bretschneider tarafından Kardiyoloji solüsyonu olarak geliştirilmiştir. Daha sonra böbrek, pankreas ve karaciğer transplantasyonlarında kullanımı artmıştır. Bu sıvıda, mannitol ve histidin hem antioksidan hem de osmotik etki yaratırlar. Ketoglutarat ve triptofan ise membranoprotektif etkili olup, ketoglutarat aynı zamanda oksijensiz kalan hücrede kreps döngüsünün substratı olarak işlev görür. K^+ ve Na^{++} değerlerinin düşük olması nedeniyle, ilk olarak kalp transplantasyonunda kullanımı yaygınlaşmıştır. Daha hızlı soğutulabilmesi, 3 kat daha yüksek akım hızına sahip olması önemli özelliğidir. HTK düşük viskoziteye sahiptir. Histidin, düşük potasyum içerdiği için güçlü bir hidrojen iyon tamponu özelliği gösterir. Triptofan, membran stabilizatörü olarak görev yapar. Ketoglutarat, enerji substratı olarak bulunur [6-7].

Serbest radikaller canlı metabolizmasının doğal bir ürünü olarak ortaya çıkabildiği gibi çevre kirliliği, hava kirliliği, sigara dumanı, ağır egzersiz, radyasyon, ısı, pestisitler, kontamine sular, inflamasyon, enfeksiyon, ateşli hastalıklar, kemoterapötik ajanlar gibi vücut dışından gelen pek çok faktörün etkisi ile de oluşabilir.

Hücrelerde normal metabolik faaliyetler sonucu aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak serbest radikaller ortaya çıkar. Serbest radikallerin ömürleri çok kısa olmasına rağmen yüksek derecede reaktiftirler. Canlı sistemindeki protein, lipid, DNA, karbonhidrat ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyalle kolayca reaksiyona girerek hücre yapı ve işlevlerine zarar verirler[8-9].

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 [10].

Yapılan birçok araştırmada L-carnitin ve türevlerinin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir. L-carnitin, 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 H_2O ya indirgenen oksijenin konsantrasyonu azalır ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu azalmış olur [11].

Acetyl-L-carnitin, carnitin esterlerinden biridir ve vücutta en fazla yer alan carnitin türüdür. Acetyl-L-carnitin oluşumu, yağ asitleri, adenozintrifosfat (ATP) ve KoA kullanarak açıl KoA sentezleyen sitoplazmik tiokinaz ile başlar. Bu bileşik, carnitin ile carnitin palmitoil transferaz-I yoluyla birleşerek, açıl carnitin oluşturur. Mitokondrial matrikse carnitin-açıl carnitin translokaz sistemiyle taşınır. İç mitokondriyal membrandan geçen her açıl carnitin molekülü için bir carnitin dışarı atılır. İç mitokondriyal membranda, carnitin palmitoil transferaz-II, açıl carnitini carnitin çevirerek açıl KoA' yı serbest bırakır. Son olarak, mitokondriyal matrikste bulunan carnitin asetil transferaz, carnitin ve asetil-KoA' dan acetyl-L-carnitin ve KoA üretir [12].

Yardımcı üreme teknikleri hem erkek hem de kadın infertilite tedavisinde önemli aşamalar kaydedilmesini sağlamıştır. Ancak uterus faktörlü infertilite tedavi edilememektedir. Bu nedenle uterus transplantasyonu gelecek için mümkün bir tedavi olarak önerilmektedir. Organ koruma solüsyonları reperfüzyon hasarını azaltabilir. Bu nedenle, bu çalışmada antioksidan ajan olan acetyl -L-carnitinin 4 saat ve 24 saat HTK solüsyonunda soğuk depolama sonrasında rat uterusundaki fibrozis üzerindeki potansiyel koruyucu etkileri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti, genetik olarak daha döllenme anında belirlenmiş olmasına rağmen, erkek ve dişi yapısal özellikleri, embriyonik gelişimin 7. haftasında olur[13].

Cinsiyet farklanması, bazıları otozomal olan çok sayıda genin rol oynadığı karışık bir süreçtir [14].

Kromozomal cinsiyet, spermiyumun taşıdığı X veya Y kromozomuna bağlıdır. Önceleri cinsiyetin dişi yönünde farklanabilmesi için oositin X kromozomu taşıyan bir spermiyumla döllenmesinin yeterli olduğu düşünülürdü. Ancak son yıllarda primitif gonadın ovaryum' a dönüşebilmesi için bazı genlerin varlığına da gereksinim duyduğu anlaşılmıştır. Dişi cinsiyet gelişimi için Wnt-4 sinyal molekülü önemlidir. Dişilerde gestasyonun erken evrelerinde gonadal sırtta eksprese olan bu faktör erkeklerde baskılanmaktadır. Doğumda, Wnt-4 mutasyonlu erkeklerde gelişim normalken, Wnt-4 mutasyonlu dişilerde erkek özellikleri gözlenmektedir. Wnt-4, X kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan DAX1' i uyararak SF1 aktivitesini düzenlemekte, Sertoli ve Leydig hücrelerinin oluşmasını engellemektedir [5-14].

Dişi üreme sisteminin gelişimi; Pax-2, Lim-1, Emx-2 gibi genlerin yanı sıra Hedgehog (Hh) ve Wnt gen ailelerinin üyelerine de gereksinim duymaktadır[15]. Wnt-4, Wnt-5a ve Wnt-7a gibi WNT gen ailesindeki çok sayıda üye, Müller kanalının oluşumunda ve dişi üreme sisteminin çeşitli bölümlerinin yapısal farklanmasında önemli rol oynamaktadır. Müller kanal epitelinde ifade edilen bu transkripsiyon faktörlerinin yokluğunda Müller kanalı ve dolayısıyla dişi üreme sistemi oluşamamaktadır [16].

İntrauterin gelişimin erken evrelerinde, genital sistemler her iki cinste de benzer olduğundan genital gelişmenin bu dönemine “seksüel gelişmenin farklanmamış evresi” denir [17].

Dişi ve erkek embriyoların her ikisi de iki çift genital kanal içerir. Mezonefrik kanal (Wolffian kanalı) erkek üreme sisteminin gelişmesinde önemli bir yer tutarken, Paramezonefrik kanal (Müllerian kanalı) dişi üreme sistemi gelişiminde rol oynamaktadır. Embriyo 26-32 günlükken mezonefrik kanallar yukarıdan aşağıya inerek ilkel kloakaya açılır. 4. haftanın sonunda her ürogenital kıvrımın ventro-lateral kısmında, mezodermal katmana doğru epitelyal içe çökmeler şekillenir. Mezonefrik kanallara yan olarak yerleşmiş bu epitelyal girintiler paramezonefrik kanalları oluştururlar. 5-6. haftalarda genital sistem farklanmamış evrededir ve genital kanalların her iki çifti de mevcuttur [13-17].

Paramezonefrik kanal, 6. hafta sonunda mezonefrik kanalın yanında, Plika urogenitalis lateralis epitelinin kalınlaşması sonucunda huni şeklinde bir çöküntü olarak belirir. Paramezonefrik kanalın gelişmesi, büyük olasılıkla mezonefrik kanalın, çevresindeki dokuya yaptığı bir indüksiyon sonucu olaylanır. Deneysel olarak mezonefrik kanal çıkarıldığında paramezonefrik kanalın gelişimini sürdüremediği görülmüştür. Paramezonefrik kanallar ventralde mezonefrik kanalları çaprazlayıp kaudalde yan yana gelirler [18].

XY kromozomu içeren erkek embriyolarda testis yönünde farklanan gonadların yapısında bulunan Leydig hücrelerince sentezlenen testosteron, dişi embriyolarda olmadığı için, mezonefrik kanallar geriler. Sertoli hücrelerince salgılanan, Müller Baskılayıcı Madde (MIS) yokluğunda da paramezonefrik kanallar gelişir ve ileri farklanır. Erkek cinsiyet gelişiminin uyarılması için testosteron gerekli olmasına karşın, dişi cinsiyet gelişiminde ovaryum ve hormonların varlığı koşul değildir. Dişi genital yollarının çoğunluğu, paramezonefrik kanalca oluşturulur [13].

Dişilerde esas genital kanallar paramezonefrik kanallardan oluşur. Paramezonefrik kanal gonadların ve mezonefrik kanalların lateralinde ürogenital kabarıklığın ventro-lateral yüzeyinde kölom epitelinin uzunlamasına bir girintisi halinde belirir. Kanalin kranial uçları huni şeklinde kölom boşluğuna açılır [14].

Paramezonefrik kanalda başlangıçta üç kısım tanımlanabilir.

- a- Kölom boşluğuna açılan kranial vertikal parça

- b- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal parça
- c- Karşı taraftan gelen eşiyle birleşen kaudal vertikal parça

Ovaryumların aşağı inişiyle kranial vertikal parçadan ve horizontal parçadan tuba uterinalar gelişir [13]. Kanal, önce mezonefrik kanalın lateralinde uzanıp ve onu çaprazladıktan sonra kaudo-medial yönde gelişmeyi sürdürürken, orta hatta diğer paramezonefrik kanala aksi yönde yaklaşır. Karşı yönden gelen eşiyle birleşen kanallar başlangıçta bir septum ile ayrılmıştır. Daha sonra septumun ortadan kalkmasıyla kavite oluşumu gerçekleşir ve bu kaudal vertikal parça uterus kanalını ve vajinanın üst bölümünü oluşturur [14].

İkinci kısım horizontal parçaların, medio-kaudal yönde yer değiştirmesiyle ürogenital kabarıklıklar giderek daha transvers bir düzleme gelmeye başlar. Pelvik katlantı, kanallar orta hatta birleştikten sonra oluşur. Kaynaşmış haldeki paramezonefrik kanalların lateralinden, pelvis duvarına kadar uzanan bu katlantıya uterusun sınırlayıcı ligamenti denir. Uterus tüpleri bu ligament' in üst sınırında yer alırken, ovaryumlar arka yüzünde bulunur. Uterorektal ve uterovezikal boşluklar olmak üzere uterus ve sınırlayıcı ligamentler pelvisi ikiye böler. Uterusun korusu ve serviksi kaynaşan paramezonefrik kanallardan gelişir. Bunların çevresi uterusun kas katmanını ve periton örtüsü olan perimetriyumunu oluşturan bir mezenşim tabakasıyla sarılmıştır [14].

Serviks paramezonefrik kökenli olmasına karşın, müköz membranları ürogenital sinüsten köken alır.

Paramezonefrik kanalların kranial vertikal parçalarının açık üst uçları tuba uterinaların fimbriyalarını oluşturur. Kranial vertikal parçadan aynı zamanda tuba uterinaların infundibulum ve ampulla bölümleri oluşur. Horizontal parça ise isthmusu yapar. Başlangıçta vertikal olarak yerleşim gösteren tuba uterinalar, uterusun gelişmesi sırasında karın boşluğunun iç kısmına doğru hareket ederek horizontal konuma gelirler. Tuba uterinaların belirginleşmesi intrauterin gelişimin 16 ve 20. haftaları arasında olur [19].

4. ve 5. aylar boyunca; tuba uterinalarda belirgin bir büyüme erki görülür. Tüplerin boyu uzar ve ergin şeklini alır. Mukoza ve kas katmanı farklanır. Fimbriyalar gelişirken infundibulum, isthmus ve ampulla bölgeleri belirginleşir [20].

İnsanda uterus başlangıçta iki boynuzludur. Gelişim ilerledikçe son hali şekillenir. İnsanda uterus embriyolojik gelişim şekline bağlı olarak bazen iki boynuzlu (bikornis) kalabilir. Normalde bu iki boynuz arasında mezenşim çoğalması gözlenir ve uterus geliştiğinde bildiğimiz armut biçimini alır [18].

Paramezonefrik kanalların uzunlukları boyunca ya da herhangi bir bölgesinde kaynaşmamaları sonucunda uterus duplikasyonları oluşur. En şiddetlisi iki uterusun olmasıdır (uterus didelfis); en hafif şekli ise, uterus korpusunun ortasından lümen içine doğru hafif bir çıkıntının olduğu durumdur (uterus arkuatus). Sık görülen uterus anomalilerinden biri de, uterusun ortak bir vajinaya iki boynuz şeklinde açıldığı uterus bikornistir [14].

Paramezonefrik kanalların yetişkindeki yapıları dönüşmeleri sırasında, kanalların bazı kısımları, kalıntı yapılar olarak kalırlar. Dişilerde gelişim sırasında, bazen mezovaryumda bulunan, üst ve alt mezonefrik tübül kalıntıları da görülebilir. Bunların bazıları, ovaryum ve tuba uterina arasında, ovaryumda hizasında bulunan epoophoron' u oluştururlar. Uterusa yakın yerleşimli bazı rudimenter tübüller de paroophoron olarak kalırlar. Mezonefrik kanalın, duktus deferens ve ejakülatör kanala denk gelen bazı bölümleri; vajina duvarı içerisinde veya uterusun yan duvarları boyunca kalın ligament katmanları arasında "Gartner kanalı" olarak görülebilir. Bu kanal kalıntılarından da Gartner kistleri oluşabilir. Bu kalıntılar, patolojik değişikliklere uğramazlarsa, çok nadir farkedilirler [14].

Paramezonefrik kanalın kranial ucunun bir kısmı, tuba uterina infundibulumunun oluşumuna katılmaz ve veziküler bir yan oluşum olan Morgagni hidatiği olarak kalır [13].

2.2. Uterus Anatomisi

Uterus, içi boş, kalın duvarlı kassal bir organdır. Kaslı yapı, gebelik sırasında uterusun boyunun 3-6 kat arttırabilmesine, şekil ve duruş yönünden farklılık göstermesine olanak verir. Uterus, pelvis minor içerisinde, vücut orta düzleminde, mesanenin arka tarafında, rektumun önünde yerleşim gösterir. Uterusun üst kısmı tuba uterina, pelvis içindeki kısmı ise vagina ile devam eder. Uterus, önde excavatio uterina ve mesanenin üst yüzüyle, arkada sigmoid kolon ve ileum anslarıyla ve yanlarda lig. latum uteri ile ve üstten de ince bağırsak kıvrımları ile komşuluktadır. Uterusun abdominal bölümü tuba uterina ile; pelvik bölümü ise vagina ile birleşir [13-21-22].

Uterus tabanı yukarıda, tepesi aşağıda ters konumlu bir armut şeklindedir. Önden ve arkadan hafif basıktır. Organın uzun eksenini orta planda yerleşim göstermekle birlikte, uterusun pelvis eksenine uyan ve öne aşağıya bakan bir konkavitesi vardır. Ayrıca uterus, yakın komşuluğunda bulunan mesane ve rectumun dolu veya boş oluşuna göre durum değiştirir [23]. Hafif düzleşmiş bir armudu andıran uterus, gövdesinin ön yüzeyi neredeyse tamamen düz olmasına karşın, arka yüzeyi belirgin bir şekilde konvektir. Ağırlığı 50-80 gr arasında olup, doğum yapmış ve yapmamış kadınlarda değişiklikler göstermektedir. Uzunluğu yaklaşık olarak 8cm, genişliği 5cm, kalınlığı ise 2,5 cm' dir [24].

Uterusun üst kısmına fundus; buradan daha büyük ve merkezi olan kısmına corpus uteri veya uterus gövdesi denir. Uterusun alt kısmını oluşturan dar bölüme ise serviks uteri (uterus boynu) denir. Serviks, uterusun vajinaya açılan bölümüdür.

2.3. Uterus Histolojisi

Uterus histolojik olarak üç katmandan oluşur;

- Perimetrium (tunica seroza)
- Miyometrium (tunica muskularis)
- Endometrium (tunica mukoza)

Perimetrium

Peritonun viseral yaprağıdır. Tek katlı yassı hücrelerden oluşan bir epitel katmanı (mezotelyum) ile bunun altındaki gevşek bağ dokusundan yapılmıştır. Bu katman peritonsuz bölgede tunica adventitia olarak isimlendirilir [25-26].

Miyometriyum

Miyometriyum, uterusun en kalın katmanıdır. Bağ dokusu bölmeleriyle ayrılmış düz kas demetlerinden oluşmuştur. Dış kas katı, uzunlamasına düzenlenmiş düz kaslardan yapılıdır. Orta kas katı, büyük arterler, venöz pleksuslar ve lenf damarları içerir. Enlemesine ve uzunlamasına uzanan düz kas demetleri kapsar. İç kas katı ise, mukozanın altında uzunlamasına uzanan ince düz katmanından oluşur [27]. Miyometriyum, fundus ve corpus' un orta bölümlerinde daha kalınken tuba uterinanın (pars intramuralis tuba uterina) açılış yerinde daha ince bir yapı gösterir [28].

Uterus, bağ dokusu bölmeleriyle ayrılmış düz kas lif demetlerinden oluşmuştur. 12-15 mm kalınlığındadır. Her bir düz kas lifinin uzunluğu 40-90 mikrometredir. Gebelikte uterus yaklaşık 25 katı büyüklüğe ulaştığında liflerin hacmi artar ve uzunlukları 600 mikrometreye ulaşır. Kas liflerinin sayıca artması; var olan kas liflerinin mitoz ile çoğalması ile ya da kas demetleri arasında bulunan bağ dokusu hücrelerinin kas dokusu hücrelerine farklılaşmasıyla olaylanabilir. Kas kitlesinin artmasına karşın gebelikte miyometriyum, uterusun genişlemesi nedeniyle incelir [29-30-31-32].

Miyometriyumda 3 düz kas katmanı gözlenir;

İç kas katmanı (Stratum submucosum); Mukozanın hemen altında çok ince ve uzunlamasına seyreden kas katmanıdır. İçinde enlemesine ve çapraz uzanan lifler de bulunur.

Orta damarlı kas katmanı (Stratum vasculare); Enlemesine ya da spiral uzanan kas demetlerinden yapılmıştır. İnterstisyel doku içinde büyük kan damarlarını, özellikle venleri içerir.

Dış ince katmanı (Stratum supravasculare); Perimetriumun hemen altında uzunlamasına seyreden kas liflerinden oluşmuştur. Uterusu sabitleyen bağlardan lig. teres uteri ve lig. latum uteri ile bağlantıdadır [29-31].

Miyometriyum, fundus ve korpusun orta bölümlerinde daha kalın, tuba uterinaların açıldığı yerde (pars intramuralis tuba uterina) ise daha incedir.²⁸ Isthmus ve serviks doğru iç ve dış uzunlamasına kas katmanı zayıflar ve seyrekleşir. Isthmus ve serviksin başlangıcında, sadece enlemesine kas liflerinden yapılmış kuvvetli bir kas katmanı kalır. Bu kat; sfinkter oluşturmada tunica mucosa altında kanalı sarar. Serviksin son kısımlarında kas dokusu yavaş yavaş azalır; buna karşın kas demetlerini birbirinden ayıran kollagen ve elastik liflerden zengin bağ dokusunun miktarı artar. Bu seyrek kas demetleri vaginaya doğru uzanarak vagina'nın tunica muscularis katmanı içine karışır [31].

Gebelikte, miyometriyum bir büyüme evresine girer. Hipertrofi ve hiperplazi gösterir. Bu evrede, düz kas hücreleri protein salgılayan ve aktif kollagen sentezleyen hücrelerin ince yapı özelliklerini gösterirler [28]. Östrojen hormonunun fazla salınımıyla bağlantılı olarak, gebelik sırasında kas hücrelerinde büyüme görülürken, menstruasyonun başlaması ve östrojenin azalmasıyla kas hücrelerinde de küçülme görülür [33].

Gebelik sonrasında, bazı düz kas hücrelerinde harabiyet, diğerlerinin boyutlarında azalma ve kollagenin enzimatik yıkımıyla uterusun boyutları gebelik öncesine yakın değerlere iner [27].

Seksual uyarım uterus kasılmalarına neden olmaktadır. Doğum sırasındaki uterus kasılmaları ise hormonal olayların sonucu gerçekleşir. Kortikotropik hormon etkisiyle miyometriyum ve fetal membranlar prostaglandinleri üretirler. Hipofiz bezi oksitosin hormonunu salgılar. Prostaglandinler ve oksitosin uterus kasılmalarını düzenler [34].

Endometriyum

Endometriyum, fetusun yerleşip geliştiği uterusun en iç katmanıdır[27]. Epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propriya'dan oluşur. Lamina propriya yoğun, düzensiz kollagen lifler içeren bol hücreli, fibroblastlardan zengin, gevşek bağ dokusu yapısındadır. İğ biçimli bağ dokusu hücreleri, makrofajlar, lökositler ve çok sayıda retiküler lifler içerir[34].

Epitel tek katlı prizmatiktir (epithelium simplex columnare) ve iki tip hücre içerir; bunlar silyalı hücreler (epitheliocytus ciliates) ve mikrovilluslu salgı oluşturan hücrelerdir (epitheliocytus microvillosus). Epitel, altındaki lamina propriyaya doğru çöküntüler oluşturarak çok sayıda uterus bezlerini (glandula uterina) yapar. Bezler tübüler yapıdadır ve lamina propriyanın tüm kalınlığı boyunca uzanırlar.^{30,31} Uterus bezleri; birkaç dallı ya da çatallı olabilen basit tübüler tiptir. Ovaryum döngüsüne koşut olarak şekilleri ve büyüklükleri değişir. Kendilerini oluşturan tek katlı prizmatik epitelyum hücrelerinin apikal yüzlerinde kısa ancak düzenli yerleşik olan mikrovilluslar bulunmaktadır. Apikal sitoplazmalarında değişik büyüklük ve yoğunlukta salgı granülleri bulunur. Endoplazmik retikulum çekirdeğin altında, hücrenin bazal kısmında iyi gelişmiştir; sitoplazmada da çok sayıda ribozom bulunmaktadır [31]. Bezler, miyometriyuma yakın alt bölümlerinde ara sıra dallanmalar göstermektedir[34]. Uterus bezlerinin epiteli, yüzey epiteline benzese de silyalı hücreler daha azdır. Tek katlı prizmatik salgı yapan hücrelerden oluşurlar ve bazen dallı tübüler yapı gösterirler [30].

Proliferatif ve bazal tip hücrelerin çekirdek kromatinleri yoğundur ve belirsiz bir çekirdekçik içerirler. Sitoplazmaları bazofiliktir. Proliferasyon evresinde hücre sayısı artar ve çekirdeklerin çokluğu bez epiteline yalancı çok katlı epitel görünümü verir. Salgı yapıcı hücrelerin sitoplazmalarında müsinöz olmayan bir salgı vardır. Salgı önce çekirdek altı sitoplazmada birikir. Bu hücrelerin vakuollü, vakuolsüz ve tuba uterinadaki hücrelere benzeyen hücreler olarak üç tipi ayırt edilir [31]. Silyalı hücreler ise proliferasyon evresinde daha belirgin olup, genç silyalı hücreler bazal laminaya yakın piramit şeklindedir. Sitoplazmaları şeffaf açık renktedir. Sekresyon evresinde ince yapı düzeyinde dev mitokondriyonlar ve çekirdeklerinde kanal sistemi tanımlanmıştır [33].

Lamina propriya; yoğun, düzensiz kollagen lifler içeren bol hücreli gevşek bağ dokusudur. Retiküler lifler ve mezenşim hücrelerine benzeyen hücrelerden ve esas maddeden zengindir. Kollagen ve retiküler lif ağının arasında çok sayıda iç biçimli bağ dokusu hücreleri bulunur. Ayrıca; lenfositler, granüler lökositler ve makrofajları da içerir [29-31].

Endometriyum iki katmandan oluşmuştur. Endometriyum' un 1/3 derin kısmını oluşturan ve uterus bezlerinin son kısımlarını içeren miyometriyuma komşu bölgeye endometriyum bazalis (str. basale endometriale) denir. Bu katman menstruasyon sırasında atılmaz. Endometriyumun yenilenmesi buradan olur.

Endometriyumun 2/3 yüzeysel bölgesinde ise bezlerin boyun ve gövde kısımları yerleşiktir. Bu katman menstruasyonla atılır. Buraya endometriyum fonksiyonalis (str. functionale endometriale) denir. Fonksiyonel tabaka bezlerinde dört tip epitel kökenli hücre bulunur. Bunlar; proliferatif hücreler, salgı hücreleri, silyalı hücreler ve bazal hücrelerdir [34]. Buradaki lamina propriya sıkı fibröz bağ dokusundan yapılmıştır [29-30].

Gebelik ve sekresyon evresinde fonksiyonalis katmanı iki kattan oluşur. 2/3 üst bölümü bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içerir ve kompakt tabaka adını alır. Alt bölüm ise süngerimsi yapıdadır ve spongiöz tabaka (str. spongiosum endometriale) olarak adlandırılır [34].

Endometriyum özel bir kan-damar sistemi içerir. Uterus arteri, miyometriyumda anastomoz yapan 6-10 adet arkuat artere bölünür. Miyometriyumun orta bölümünde dairesel olarak yerleşmiş arkuat arterlerden iki dal endometriyuma doğru dik açılarla ışınsal ilerler. Bu ışınsal (radial) arterler dallanarak endometriyum bazalisteki kısa düz arterleri oluştururlar. Üst kısımlara doğru ilerleyen ışınsal arterin ana dalı kıvrımlanarak spiral arter adını alır. Spiral arterler, fonksiyonalis katmanının daha üst kısımlarında incelererek çok sayıda arteriole ve kapillere dönüşürler. Endometriyum bazalis, düz arterlerce kanlanırken endometriyum fonksiyonalis son derece kıvrıntılı spiral arterler tarafından kanlandırılmaktadır [32].

Endometriyumda ayrıca venüller ağı ve sinüsoidal genişlemeler yapan venöz sistem de bulunmaktadır. Menstruasyon evresinde, yalnızca spiral arterlerin distal kısımları östrojen ve progesteron hormonlarının etkisiyle büyük değişikliklere uğrarlar. Düz arterler ile spiral arterlerin proksimal kısımları, döngü süresince hormonların etkisiyle herhangi bir değişime uğramamaktadırlar [29-32].

Endometriyumun başlıca işlevi, geç blastosist evresindeki embriyonun gömülmesi için ortam hazırlamak ve plasentanın anneye ait olan kısmını oluşturmaktır. Ovaryum döngüsü ile eş zamanlı olarak endometriyumda yapısal ve işlevsel değişiklikler gözlenir [29].

Endometriyum yeni doğanda genellikle proliferasyon evresindeki görünümündedir. Doğumdan sonra iki hafta içinde bu görünüm gerileme gösterir. Endometriyum, incelik ve aktif olmayan bezler içerir [33]. Pubertede önce endometriyum epiteli tek katlı, alçak kübiktir ve ince bir stroma ile desteklenir. Epitelde stromaya doğru çökmüş az sayıda tübüler bezler görülür [35]. Doğurganlık evresinde epitel hücreleri, stromal hücreler ve damarlar hızlı bir şekilde çoğalırlar. Her menstrual döngüde endometriyumun yüzeyel 2/3 kısmı dökülerek bazalis tabakası tarafından yenilenir. Endometriyum menarş ve menapoz arasında, tek katlı prizmatik epitel ve altında lamina propriyadan oluşmaktadır. Miyometriyum ve endometriyum menopozda atrofiye uğrar ve endometriyum bezleri düzleşir. Bezler büyük oranda kaybolarak doku daha fibrotik bir görünüm alır [24].

Östrojen uygulanması ile uterus kan akımında hızlı artış, endometriyum ödemi, hücrelerde çoğalma ve büyüme, metabolik işlevde belirgin bir artış dikkat çekmektedir. Endometriyum yapısal değişiklikleri, ovaryum hormonlarının denetimi altında puberteden (yaklaşık 11-15 yaş) başlayıp kesintisiz olarak menopoza kadar (47-52 yaş) süren ve 28 günde bir yinelenen periyodik bir olgudur. Bu olguya menstruasyon ya da endometriyum döngüsü denir. Gebelik olaylanmamışsa, döngünün sonunda endometriyum fonksiyonals katmanının yıkımı ve dökülmesi gerçekleşir. Kan ile birlikte endometriyum dokusu, vaginadan menstruasyon akıntısı denilen ve 3-5 gün süren bir süreçle dışarı atılır. Bu olaya menstruasyon denir [29].

2.4. Menstrual Döngü

Menstrual döngü 3 evrede olaylanır;

- Proliferasyon Evresi (Foliküler Evre)
- Sekresyon Evresi (Luteal Evre)
- Menstruasyon Evresi (Kanama Evresi)³⁶

Proliferatif evre; döngünün 5 ile 14'üncü günleri arasında gerçekleşir. Ovaryum folliküllerinin gelişmesi ve östrojen hormonun üretimi ile ilgili evredir. Tüm evre boyunca hücrel çoğalma ile bezler ve endometriyumun yüzey epiteli artar [27]. Proliferatif evrenin erken döneminde endometriyum genellikle 2 mm den daha incedir. Tek katlı prizmatik epitel hücreleri içeren salgı bezleri dardır ve tübüler bezler bazal katmandan endometriyal boşluğun yüzeyine kadar genelde düz ve birbirlerine koştur yönde uzanırlar [24]. Bez hücrelerinde granüllü endoplazmik retikulum sisterna sayısında ve Golgi kompleksi boyutlarında giderek bir artış görülür. Bu şekilde hücreler salgılama erki için hazırlık yapar. Yenilenmekte olan stroma içine doğru spiral arterler ilerlerler [27]. Bezlerde glikojen birikimi başlamıştır. Hücreler iri, yoğun kromatinli çekirdek içerirler [34]. Geç proliferatif evrede bez epiteli ve stromada artış sonucunda endometriyum kalınlaşır. Endometriyumun fonksiyonals katmanındaki salgı bezleri bazaldeki dallanmış bölümleriyle karşılaştırıldığında birbirinden oldukça ayrıkırlar. Bazalde salgı son bölümleri daha çoktur ve stroma yoğundur. Ovulasyonun yaklaşmasıyla bez epitel hücreleri uzar ve yalancı katlanmalar oluştururlar [24]. Endometriyum, döngünün 14. gününde tümüyle yenilenmiştir. Bu evre ovulasyondan bir gün sonraya değin sürer ve sonunda endometriyum kalınlığı 3 mm' ye ulaşır [32].

Sekresyon (luteal) evresi; ovulasyonu izleyen 2-3 gün içerisinde başlayan ve 28. güne kadar süren evredir. Bu evre progesteron hormonu etkisiyle gerçekleşen menstruasyona hazırlık niteliğinde olan değışiklerin başladığı dönemdir [24]. Üreme döngüsünün 14.-27. günleri arasında gerçekleşen bu evrede; ovaryumda, ovulasyon olaylanmış ve LH uyarımı ile korpus luteum oluşmuştur [29]. Korpus luteum; progesteron ve az miktarda da östrojen hormonu salgılar. Bu hormonların etkisi altında endometriyum bezleri uzar ve son derece kıvrıntılı bir biçim alırlar

[29-37]. Ayrıca ovulasyondan sonra oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisi ile endometriyumda sekretuar değişiklikler olur. Bu değişikliklerin amacı, döllenmiş ovumun implantasyonu için uygun bir ortam oluşturmaktır [38]. Bu evrede, endometriyal bezlerden glikojen birikimi ve stromada ödem nedeniyle endometriyum kalınlaşması sürer. Endometriyum bu evrede en kalın (5mm) durumuna ulaşır. Bezlerin lümenini glikoprotein salgı ürünleri genişletir [34]. Salgı ürünleri ilk günlerde bez hücrelerinin çoğunda çekirdek altı bölgede yer alırken, ilerleyen günlerde çekirdek üstü bölgeye geçerler [33]. Spiral arterler kapillerler ve lakünaları oluşturmak için endometriyum yüzeyine kadar gelişip uzarlar. Genişleyen ve kanla dolan kapillerlerin geçirgenliği arttığı için kan sıvısı ve kan elemanları lamina propriaya geçerek endometriyuma yayılır. Endometriyumda ödem oluşturur [29-31-37]. Girintili çıkıntılı yapıdaki bezler ve ödemli stroma ile endometriyum süngerimsi bir görünüm alır. Endometriyum hücreleri büyür; glikojen ve lipid depolayarak açık renkli desidua hücrelerine dönüşürler. Desidua hücreleri; spiral arterler çevresinde ve epitelyum altındaki lamina propria katmanında gruplar haline gözlenirler. Sekresyon evresinde; endometriyumun deciduayı anımsatan bir yapı kazanması olayına desidual reaksiyon denir [29-30-31]. Sekresyon evresinde; hiperemi (kan ile dolma), ödem, yedek besin depolama ve aktif salgılama nedeniyle endometriyum desidua'ya dönüşür. Döllenme gerçekleşmiş ise bu yapı; blastosistin gömülerek gelişmesi için en uygun ortamdır. Döllenme olmazsa, sekresyon evresi sona erer. Korpus luteumun işlevi azalır. Progesteron ve östrojen hormonlarının da azalmasıyla menstruasyon evresi başlar [27].

Sekresyon evresi sonunda oluşan yapısal değişikliklerle ilgili olarak endometriyumda üç farklı bölge ayırdedilir;

Yüzeysel kompakt katman; bezlerin boyun kısımlarını içeren, oldukça az ödem gözlenen bölgedir.

Kalın spongiyöz katman; bezlerin kıvrıntılı kısımlarını içeren, oldukça fazla ödem gözlenen bölgedir.

Derin bazal katman; bezlerin son kısımlarını ve spiral arterlerin alt parçalarını içeren; menstruasyon ve doğum sırasında doku yitimine uğramayan bölgedir [29-37].

İskemi evresi; döngünün 27.-28. günleri arasında olaylanır. Döllenme gerçekleşmez ise korpus luteum 10 gün süresince aktif kalabilmekte ve hormon salgılamayı sürdürmektedir. Korpus luteum gerilemeye başladığında; endometriyumu uyaran bu hormonların kandaki düzeyi azalır ve endometriyum fonksiyonalisten bulunan damarlar saatler süren periyodik kasılmalar yaparlar. Endometriyum fonksiyonalistin kapiller ağına kan gitmez ve aslında ödemle şişmiş olduğu için soluk görünen endometriyum kansız ve daha beyaz bir görünüm alır. Damarların yanı sıra bezler de işlev yitimine uğrar ve salgılama yapamazlar. Endometriyum su yitirerek 3/4 oranında büzülür. Bunlara karşın endometriyum bazalisteki kan akımı normaldir [29-31-36].

Menstruasyon (kanama) evresi; Döngünün 1-4. günleri arasındaki evredir.³³ İskemi sonrası endometriyum fonksiyonalisten nekroz görülür. Kan yeniden damarlara akınca iskemik evrede yıpranmış olan arterler teker teker yırtılırlar; bu nedenle kanama şiddetli değil yavaştır, günlerce sürer [29-30-31]. Endometriyum bu evrede 0,5-3 mm kalınlığındadır [33]. Kan endometriyuma yayılır ve oradan da bezlerin lümenine akar. Kanla karışan endometriyum fonksiyonalist parçaları uterus lümenine dökülür. Nekrotik endometriyum ürünlerinin venlerin açık uçlarından sızan kanla birlikte bir vaginal akıntı şeklinde dışarı atılmasına menstruasyon kanaması denir ve 3-5 gün sürer. Yitirilen kan miktarı 35-50 ml kadardır. Bu kan pıhtılaşmaz [29-30].

Menstruasyonun sonunda, vaginal boşalmanın tamamlanmasından önce, endometriyum fonksiyonalist endometriyum bazal katmanından yenilenmeye başlar ve endometriyumun kan dolaşımı yeniden sağlanır; ve yeni döngünün proliferasyon evresi başlar [29-30]. İlk menstruasyona menarş denir. Belli bir dönemde (47-52 yaşları arası) periyodik değişikliklerin düzensiz olması ve sonunda kesilmesi olayına da menopoz adı verilir [29].

Menstruasyon kanaması her ay bir akıntı şeklinde olduğu için menore (menorrhea) ismini alır. Yunanca'da men-ay, rhea- akıntı anlamına gelmektedir. Kanama normal sınırlar içinde olursa ömenore (eumenorrhea); seyrek halde olursa oligomenore (oligomenorrhea) ya da hiç olmuyorsa amenore (amenorrhea) adını almaktadır. Sık olaylanmasına ise polimenore (polymenorrhea) denir. Kanama miktarının az olması hipomenore (hypomenorrhea) olarak adlandırılırken; normalden çok olmasına ise hipermenore (hypermenorrhea) denir. Kanamanın ağrılı olaylanmasına ise dismenore (dysmenorrhea) denmektedir [29].

2.5. Uterus Fizyolojisi

Dişi hormonal sistemi üç hormon grubunun etkisindedir.

Bunlar;

- a) Hipotalamustan sentezlenen hipotalamik serbestleştirici ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH).
- b) Gonadotropik serbestleştirici hormona yanıt olarak hipofiz ön lobunda gonadotrop hücreler tarafından sentezlenen, folikülleri uyaran hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH).
- c) Ovaryumdaki folikül ve corpus luteumdan salgılanan, steroid yapıda olan, östrojen ve progesteron [40-41].

Bunlar hipofiz ön lobundan salınan FSH ve LH'ye yanıt olarak salgılanırlar ve salgılanma miktarları ile salınım hızları genital döngünün farklı evrelerinde değişkendir [39]. Ovaryal hormonların dönemsel artış ve azalışlarına göre uterus endometriumu, üç evreli 28 günde bir tekrarlanan döngü geçirir [40]. Puberteden menapoza değin süren menstrual döngüde ovaryum hormonlarının etkisiyle endometriumda büyük değişimler olaylanır [20].

Bazal hipotalamus boyunca uzanan yaygın sinir ağları, nörotransmitter maddelerin etkisi ile salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipotalamusun üreme sistemi üzerindeki etkisini sağlar. Bu hormon, menstrual işlev için gerekli bir

anatomik bağlantı olan hipofiz sapı yardımı ile hipofiz ön lobuna ulaşarak asıl işlevini burada gösterir. Hipofiz ön lobu içerisindeki, özgül reseptörlere sahip gonadotrop hücreler, GnRH uyarısı ile FSH ve LH salgırlar. Bu hormonlar, dolaşıma verilerek ovaryumlara ulaşır. Aynı zamanda bu iki hormonun salgılanması, ovaryumlardan salgılanan östrojen ve progesteron adlı gonadal steroidlerin geri bildirim etkisi ile de düzenlenirler [40-41].

LH, androjenleri oluşturan teka hücrelerini uyarır. Androjenler FSH' nin etkisi ile granuloza hücrelerinde östrojene dönüştürölür. Östrojenler folliköler sıvıya girer. Östrojen düzeyi yükselince ilk olarak GnRH, daha sonra da FSH ve LH salınımı baskılanır. Döngünün yaklaşık 12- 13. günü çok yükselen östrojen düzeyi pozitif geri bildirim etki yaratarak LH salınımını artırır. Ovulasyondan yaklaşık 18 saat önce ani LH ve FSH artışı önce ovulasyona, daha sonrada korpus luteumun oluşumuna yol açar. LH' nin ovulasyon öncesi ani artışı olmazsa ovulasyon gerçekleşemez. Ovulasyondan sonra korpus luteumda çok yüksek yoğunlukta progesteron salgılanır [20-42].

Progesteron ve östrojen, GnRH, LH ve FSH' yi baskılar. Östrojen ve progesteronun geri bildirim etkisine ek olarak korpus luteum granuloza hücrelerinden salgılanan inhibin hormonu gibi hipofizden FSH salınımını baskılamaktadır. Menstruasyondan birkaç gün önce korpus luteum dejenere olur. Plazma da progesteron ve östrojen düzeyi düşer. GnRH, LH ve FSH baskılanmaktan kurtularak yeni döngü başlar [38].

Her aylık döngüde ovaryumlarda gelişmeye başlayan primer foliköl grubu FSH ve LH hormonlarının etkisiyle yüksek miktarda östrojen salgılar. Bu durum hipofiz hormonlarının salınımını baskılar. Döngünün 12-13. günü çok yüksek olan östrojen seviyesi pozitif geri bildirim yaparak LH salınımını artırır. Ovulasyondan yaklaşık 18 saat önce ani LH ve FSH artışı önce ovulasyona, daha sonra korpus luteumun oluşmasına neden olur. Ovulasyondan sonra korpus luteumdan progesteron salınımı başlar [43].

Ovaryum foliköllerinin teka interna hücrelerinden, granuloza hücrelerinden, korpus luteumdan ve plasentadan salgılanan östrojen uterusda endometriyal

proliferasyonu uyarır, uterusun kan akımını artırır, uterus kasının miktarını ve kasılma proteinlerinin miktarını artırarak kası daha kolay uyarılabilir hale getirir, uterusu oksitosin hormonuna daha duyarlı hale getirir [40-44-45].

Korpus luteum, plasenta ve ovaryum foliküllerinden salgılanan progesteron, endometriyumdaki gebelik öncesi değişiklikler ile serviks ve vajinadaki döngüsel değişikliklerden sorumludur. Miyometriyum hücreleri üzerinde östrojene antagonist çalışarak, bu hücrelerin uyarılabilirliğini, oksitosine duyarlılığını ve kendiliğinden oluşan elektriksel zar potansiyelini azaltır ya da artırır. Aynı zamanda endometriyumdaki östrojen reseptörlerinin sayısını azaltarak uterus üzerine etki eder [46].

Relaksin, kadınlarda korpus luteum, uterus, plasenta ve meme bezlerinde yapılan bir polipeptid hormondur. Gebelikte simfizis pubisi ve pelvisin diğer eklemlerini gevşetir, uterus kasılmalarını baskılar, uterus serviksini yumuşatır ve genişleterek doğumu kolaylaştırır. Gebe olmayan kadınlarda, menstrual döngünün salgı evresinde korpus luteum ve endometriyumda relaksin bulunur. Gebe olmayan kadınlardaki görevi bilinmemektedir [2-46].

Uterus gövdesinin devamı olan serviks, bazı özellikleri açısından farklılık gösterir. Servikal kanalda mukus üreten hücreler, döngüsel değişiklikler ile uyumlu olarak mukus üretirler. Serviks mukozasında dökülme olmaz, ancak serviksin mukus salgıları düzenli olarak değişir. Östrojen, mukusa daha ince ve daha alkali bir yapı kazandırarak spermiyumun taşınması ve yaşaması için uygun ortamı oluşturur. Progesteron ise servikal mukusu kalın, yapışkan ve hücre içeren bir hale getirir. Ovulasyon anında mukus en ince yapısında iken ovulasyondan sonra ve gebelik sırasında kalınlaşır [44-45-46].

Plasental insan koryonik gonadotropin hormonu (hCG) gebelik olduğu durumlarda, LH'nin görevini alarak, korpus luteumu progesteron salgılamak üzere sürekli olarak uyarır. Böylece korpus luteum, sekretuar endometriyumu destekleyerek gebeliğin devamlılığını sağlar. Bu durum gebeliğin 4. ayının sonuna kadar devam eder. Daha sonraki dönemlerde progesteron hormonu, gelişen plasenta tarafından salgılanır [45].

Gebeliğin oluşmadığı durumlarda ise korpus luteumun hormon desteği ortadan kalkar ve endometriyum incilir. Bu durumda spiral arterlerin kıvrımları artar. Endometriyumda nekroz odakları belirerek birleşirler. Spiral arterlerin duvarlarında önce spazm, sonra nekroz gelişerek menstrual kanama başlar [46].

2.6. Organ Transplantasyonu

Organ transplantasyonu, tedavisi mümkün olmayan hastalıklar nedeniyle görevini yerine getiremeyecek şekilde hasar gören organların yerine, canlı veya ölüden alınan sağlam organın nakledilmesidir [47].

Yirminci yüzyılın başlarında klinik ve deneysel cerrahi becerilerin hızla gelişmesi sonucunda deneysel organ nakli çalışmaları başlamış ve ilk başarılı uygulama Ullmann tarafından 1902’ de yapılmıştır. Bunu çok sayıda merkezde yapılan deneysel organ nakli çalışmaları izlemiş, insanda ilk ksenogreft böbrek nakli 1906’ da Jaboulay tarafından ve ilk allogreft böbrek nakli 1933’ te Voronoy tarafından uygulanmıştır. Canlı donörden ilk böbrek nakli ise Michon ve arkadaşları tarafından 1953 yılında yapılmıştır [48].

Organ transplantasyonu, organ reddi ve nakil sonrası uygulanan immunosupresif tedavilerin komplikasyonları nedeni ile genellikle kritik eşikte olan hastalar için yaşam kurtarıcı yaklaşım olarak gerçekleştirilmektedir. Uterus transplantasyonu ise genellikle infertilite nedeni olarak uygulanan bireyin fertilizasyon yeteneği kazanması için yapılan işlemdir [49].

2.6.1. Uterus transplantasyonu

Son otuz yıl içerisinde yardımcı üreme tekniklerinde çok büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. İnfertil bireylerde gonadotropin uyarımlı ya da gonadotropinsiz IVF/ICSI ile olumlu sonuçlar alınmıştır. Fakat uterusun doğuştan olmaması, embriyonun uterusu tutunamaması, uterusun fôtusa yataklık edememesi tedavi edilemeyen olgulardır. Bu sorunlar ya konjenital olabilir ya da sonradan oluşabilir. Konjenital olanlardan; Mullerian anomalilerinde uterus yoktur ya da yetersiz gelişmiştir. Rokitansky-Kuster-Hauser sendromunda anatomik olarak uterus

bulunmaz. Leimyoma, rahim içi adhezyon ve uterusun alınması, konjenital olmayan en yaygın problemlerdir [17-50].

Bu hastaların bir grubunun ovaryum fonksiyonları yeterli olduğu için bazı ülkelerde taşıyıcı annelik kabul edilmiştir. Ancak bu uygulama etik düşüncelere aykırı olduğu gerekçesiyle bazı ülkelerde yasadışı bırakılmıştır [50].

Uterus kaynaklı infertil bir kadının anne olması için overlerin korunduğu uterus nakli bir tedavi sağlayabilir. Dahası, uterus transplantasyonuna ait deneysel modeller, bazı genlerin implantasyon ve gebelik üzerine olan etkilerine ait çalışmalara da imkan sağlayabilir [51].

1960 ve 1970' li yıllardan beri uterus nakli üzerine hayvan deneyleri yapılmaktadır. Çalışmalarda uterus eksplante edilip allograft olarak aynı hayvana yerleştirilmiştir. Böylelikle yeniden damarlanma ve dokunun canlılığı değerlendirilmiştir [49].

Dünyada ilk kez bir insandan diğer bir insana uterus nakli 2000 yılında Suudi Arabistan'da gerçekleştirilmiştir. 46 yaşındaki canlı donör uterusu, doğum sonrası kanama ve yumurtalık kisti nedeniyle uterusu alınan 26 yaşındaki bir kadına nakledilmiştir. Transfer venöz grafların kullanımı ile uterin damarlardan eksternal iliak damarlara vasküler anastomoz yapılarak gerçekleştirilmiştir. Doku reddi Siklosporin A, Azatioprin ve prednizolon ile kontrol altına alınmıştır [18-19-20-52].

Transfer sonrası alıcıda komplikasyonlar gözlenmemiş; ancak transferden 3 ay sonra doku ölümü meydana gelmiştir ve uterus tekrar çıkarılmıştır. Bu denemede doku reddinden ziyade damar torsiyonu ve uterusun yetersiz desteklenmesinden vasküler trombozis meydana geldiği rapor edilmiştir [51-53-54-55].

2.7. Organ Korumanın Patofizyolojisi

Organların vücuttan çıkartılması, korunması ve nakledilmesi, organın iç yapısında bir takım değişiklikler meydana getirir. Organların çıkartıldıktan sonra korunması esnasında en önemli etken iskemi ve hipotermidir [56].

İskemi, organı veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak, geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre zedelenmesine neden olmaktadır. İskemi sonrasında hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Bunlardan biri, iskeminin hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak, hücre içi adenozin trifosfat (ATP) sentezinde azalmaya yol açmasıdır. Bu durum ise, hücre membranının ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunu bozarak hücreye daha fazla kalsiyum, sodyum ve su girmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu değişimin sonuçları:

1. Hücrenin iyon dengesini koruyan Na-K ATPaz ve Ca-Mg ATPaz enzimlerinin çok yavaşlamasına neden olur. Sodyum, Ca^{++} , H_2O ve Cl^- hücre içine girerken, K^+ ve Mg^{++} hücre dışına çıkar. Sonuçta hücre şişmeye başlar ve membrano-litik bir enzim olan fosfolipaz A enzimi aktive olur.
2. Anaerobik glikolizin artışına bağlı olarak hücre içi laktat düzeyi artar ve hücre içi pH düzeyi düşer. Bu durumda, lizozomal membranların dayanıklılığı azalır ve litik enzimler sitoplazmaya boşalarak yıkıma neden olur. Bu enzimler, taşıyıcı protein olan transferin ve ferritinin bakır ve demirden ayrışmasına sebep olur. Demir ise, reperfüzyon sonrasında serbest radikallere bağlı hasarda rol alır.

İskemi döneminde, ATP'nin fazla oranda katabolize olması sonucu hücrede hipoksantin miktarı artmaktadır. Normalde ksantin oksidoredüktaz enzimi, hipoksantinin ksantine ve daha sonra ürik aside dönüşümünü katalizler. Ksantin oksidoredüktaz, normal şartlarda dehidrogenaz formundadır ve enzimatik aktivitesinde, kofaktör olarak okside nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+) yer alır. Hipoksik koşullarda, enzimin dehidrogenaz formu oksidaz formuna dönüşmektedir. Enzimin oksidaz formu, aktivitesi sırasında elektron alıcısı olarak NAD^+ yerine moleküler oksijeni kullanmakta, bunun sonucu olarak da süperoksit anyon radikali ve hidrojen peroksit üretimine yol açmaktadır[57,58,59]. Bu enzimatik değişim, “serbest oksijen radikallerine (SOR) bağlı reperfüzyon hasarı” hipotezinin temelidir. Bu safhada oluşan SOR'leri hücre membran lipidlerinde peroksidasyonlara yol açarak, başta malondialdehit olmak üzere birçok sitotoksik ürün oluşumuna neden olur.

Organlardaki hasar iki safhada ortaya çıkar;

a- Sıcak iskemi dönemi ilk dönem olup, organın vücuttan çıkartılmasıyla, hipotermik koruyucu sıvı ile damarların yıkanması arasında geçen süredir.

b- İkinci dönem, soğuk iskemi süresidir. Koruyucu sıvılar içinde organın nakline kadar geçen süredir [56].

Organ korunmasının temel amacı, organı alıcıya nakledene kadar geçen sürede, doku fonksiyonunu korumak ve süreyi uzatarak daha uzak mesafelere nakledilebilmesini sağlamaktır. Bu da hücresel metabolizmayı azaltan, fakat tamamen yok etmeyen hipotermi ile sağlanır. Van't Hoff yasasına göre organ ısısındaki her 10°C' lik düşüşün metabolizmayı yaklaşık iki kat düşürdüğü gösterilmiştir. Isısı 37°C' den +4°C' ye düşen bir organın metabolizması yaklaşık 13 kat azalır. Pek çok araştırma derin hipotermisinin metabolik aktiviteyi anlamlı derecede azalttığını, fakat tamamen yok edemediğini göstermiştir. Hücre soğutulunca ATP kullanımı azalır. Genel olarak hipotermi, koruma yöntemi olarak geniş bir kullanım alanına sahip olsa da, potansiyel olarak 0°C' de donmaya ve kristalizasyona yol açma gibi potansiyel tehlikeleri de mevcuttur. Bu yüzden +3°C' nin altında hipotermi önerilmemektedir [56-60].

Hücrenin korunmasında, hücre zarı çok önemli bir yer tutar. İyon ve suyun geçişinde, ısı, pH ve ozmolariteye göre değişen bir fonksiyonu yürütür. Organdaki iskemi ve koruma sırasında, bu fonksiyonlar bozulur. Hipotermi, hücre zarı yapısında değişikliklere, hücre zarının geçirgenliğinin artmasına ve içeri sıvı çekerek hücrenin şişmesine yol açar [56].

Sodyum-potasyum adenosin trifosfat (Na-K ATPaz) pompası, hücrenin iyon yapısının korunmasını sağlar. Sodyum ve potasyumun yer değiştirerek potasyumun hücre dışına çıkmasıyla, hücre şişer ve parçalanır. Kullanılan koruyucu sıvıların elektrolit yapısı, hücre içi elektrolit yapısına yakındır. Böylece yüksek potasyum ve düşük sodyum konsantrasyonu arasındaki ozmotik fark en aza indirilmiş olur [61-62].

İskemik durumlarda organlarda hidrojen yapımı artar ve hücre içi pH düşer. Bu durumda aerobik metabolizmanın anaerobik hale dönmesiyle glikoz yıkılır (glikolizis), laktik asit oranı artar. İskemi ile birlikte kalsiyum geçirgenliği de artar. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması, damarların düz kaslarındaki miyofibril kontraksiyonunu başlatır. Bu da vazospazma ve iskemik hasara yol açar. [61].

2.8. Transplantasyon Sonrası İskemi-Reperfüzyon Ve Fibronektin- Fibrozis

Fibronektinler 450.000 Dalton boyutunda, genellikle dimerik yapıdaki glikoproteinlerdir. Hem plazmada çözünür formda (plazma fibronektin), hem de hücre dışı alanda çözünmez formda (sellüler fibronektin) bulunurlar[62]. Fibronektin opsonik aktivitesi nedeniyle retiküloendotelial sistemde (RES) ve pıhtı stabilizasyonunda rol oynar. Diğer fonksiyonlarının yanında hücre adhezyonu, migrasyonu, büyüme ve farklılaşmada görev alırlar. Başlıca üretim yerleri karaciğer hücreleri, endotelial hücreler ve fibroblastlardır [63-64-65].

Yara iyileşmesi birbiriyle kompleks oluşturmuş dört fazda incelenebilir. Bunlar; koagülasyon, inflamasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve matriks formasyonu yeniden yapılanmadır. Fibronektin'in bu fazların hepsinde fonksiyon gördüğü bilinmektedir[66]. Yangının iyileşme sürecinde gelişen granülasyon dokusunun oluşumunda fibronektin olmazsa olmaz denilebilecek derece roller üstlenir[67]. Fibronektin, kuvvetli opsonik bir alfa-2-glikoproteindir. Aynı zamanda kanı pıhtılaşmasında primer tıkaç oluşması için gerekli hücre göçünden sorumlu mediatörleri de üretir.

Ayrıca dolaşımdaki fibronektin, B-hücreli lösemi-2 gibi anti-apoptotik proteinleri arttırarak hücre ölümünü engeller ve iskemik hasar sonrası infarkt bölgesinin büyüklüğünü sınırlar[68]. Dolaşımdaki fibronektin ayrıca makrofajların partikül ve mikropları fagosite etme yeteneğini artırır. Fibronektinin tükenmesi, akciğer mikro dolaşımında bozukluklara neden olabilen, kan kökenli partikül ve mikropların akciğerde birikimini artırır [69-70].

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücreyel ölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanmasıyın yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR) dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağılı doku hasarı denir [71].

Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına karşılık çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasar sınırlandırılmaya çalışılır. Vücuttaki hücreyel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki bir denge oluşturmaktadır [72-73].

Hücre içinde oksijenin metabolize edildiğı her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik (enzimatik) olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerdir [74].

2.9. Organ Koruma Solüsyonları

Organ koruma solüsyonları, donörden alıcıya nakledilene kadar geçen sürede, organın canlılığını ve metabolizmasını korumak ve nakledildikten sonrada iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak için kullanılan solüsyonlardır. Organ koruma sıvılarının içeriğinin mantığı tüm koruma solüsyonları için hemen hemen aynıdır. Bütün sıvılarda içeriklerinin oranları değışse bile temel olarak; elektrolitler (Na, K, Cl, Glukonat, Mg), asiditeyi düzenleyiciler (sülfat, bikarbonat, fosfat, laktobiyonat), şeker (glukoz, trehaloz, rafinoz), kolloid (HES, Dextran), serbest oksijen radikal temizleyicileri (N-asetil sistein, alo pürinol, glutatyon) ve diğey bazı maddeler içerirler [63].

Elektrolitlerin kullanılmasında amaç, hücrenin iç ve dış ortamdaki elektrolit dengesini korumaktır. Soğuk organ korumada Na-K ATPaz pompasının fonksiyonu azalır. Na ve Cl hücre dışı ortamdaki hücre içine geçerken beraberinde su da çeker. Bu durum hücre ödemeine neden olur. Bazı solüsyonlarında Cl yerine glukonat kullanılmaktadır. Yüksek potasyumlu ve kalsiyum içeren sıvıların damarlarda kasılmaya neden olarak negatif bir etki yarattıkları bildirilmiştir. Bu nedenle organ koruma sıvıları genelde kalsiyum içermezler [63].

Sakkaridlerin dokuda ödem oluşumunu engellediği ve membran geçirgenliğini azalttığı bildirilmiştir. Sakkaridlerin diğer bir görevi de hücreye enerji sağlamaktır [64].

Kolloidlerin kullanım amacı, sıvının ozmolaritesini ayarlamaktır. Dekstranın trombosit agregasyonunu engellediği, endoteli koruduğu, bildirilmiştir [65].

Oksijen radikallerinin hücreye verdiği zararı engellemek için serbest oksijen radikal temizleyicileri kullanılmaktadır [64].

2.9.1. Koruyucu sıvılar

Organ korunması ve çıkartılan organın damar yoluyla yıkanması amacıyla çeşitli solüsyonlar kullanılabilir. Başlangıçta Ringer Laktad solüsyonu, daha sonraları Euro-Collins, Ross-Marshall, Wisconsin Üniversitesi (UW), Celsior ve Kyoto solüsyonları yaygın olarak kullanılmıştır. Her bir solüsyonun yapısı ve içeriği farklı olmakla beraber, hepsinin de amacı aynıdır; hücre ödemini önlemek, hücre harabiyetini geciktirmek ve daha sonra da en iyi organ fonksiyonunu sağlamak [56].

Euro-Collins Solüsyonu; Collins solüsyonu gibi ilk kullanılan koruyucu sıvıların içeriği, hücre içi elektrolit değerlerine yakındır. Potasyum, magnezyum, fosfat, sülfat ve glikoz değerleri yüksektir. Collins solüsyonunun geliştirilmiş şekli olan Euro-Collins' de potasyum (115 mM), fosfat (60 mM) ve glikoz (190 mM) çok daha yüksektir. Euro-Collins solüsyonu ile organların daha güvenli ve uzun süre

saklanması, korunması sağlanmıştır. Böbrek, kalp, karaciğer ve akciğerlerin korunmasında uygun olduğu görülmüştür [56].

Ross-Marshall Sitrat Solüsyonu: Collins solüsyonuna alternatif olarak geliştirilmiştir. Elektrolit içeriği aynıdır, yalnız fosfatın yerine sitrat ve mannitolün yerine glikoz konmuştur [56].

Wisconsin Üniversitesi (UW) Solüsyonu: Wahlberg, Southard ve Belzer tarafından Wisconsin Üniversitesinde önce pankreas nakli için geliştirildi. Daha sonra karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer koruması için başarılı bir şekilde kullanıldı. UW solüsyonu intrasellüler karakterdedir (düşük sodyum, yüksek potasyum), içindeki Na^+ yaklaşık 20 mEq/L' dir. İçeriğinde hücre ödemi engelleyecek geçirgen olmayan moleküller laktobionat (molekül ağırlığı 358), raffinöz (molekül ağırlığı 594) ve pentastarch bulunur. Osmolalitesi 320 mmol/k, oda ısısında pH'sı 7,4. dür. Ayrıca ATP öncüsü olarak adenosin, hücre zarı stabilizatörü olarak ve kalsiyumun hücre içine girişini engellemek için magnezyum sülfat, antioksidan olarak GSH ve serbest radikal oluşumunu engellemek için allopurinol bulunmaktadır [66].

Celsior Solüsyonu: Yakın zaman önce geliştirilmiş, ekstra-sellüler tipte bir solüsyondur [56].

Kyoto ET Solüsyonu: Kyoto Üniversitesi araştırmacılarının bulduğu bu solüsyonun sodyum konsantrasyonu yüksek, potasyum ve glukonat değeri düşüktür[56].

HTK solüsyonu, ilk olarak kardiyoplejik bir ajan olarak klinik kullanıma girmiş, sonraları prezervasyon solüsyonu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. İçinde asidozu engelleyen histidin, membran hasarını önleyen triptofan ve enerji metabolizması için substrat olarak kullanılan keto-glutarat bulunur [67-68]. HTK koloidal maddeler içermemesi nedeniyle vizkozitesi düşüktür. HTK'nın sahip olduğu elektrolit konsantrasyonu ile hücre içi elektrolit oranı benzerlik gösterir. Kalsiyum, Magnezyum, Sodyum konsantrasyonu düşüktür [69].

Çizelge 2.1. Klinikte kullanılan prezervasyon solüsyonlarının içerikleri

İÇERİK	UW	HTK	ET- KYOTO	UW- PEG	EU- COLL	FONKSİYONLARI
Adenosin(mmol/L)	5			5		ATP prekürsörü + radikal temizleyici +vazodilatatör
Allopurinol(mmol/L)	1			1		Ksantin oksidaz inhibitörü + radikal temizleyici
Deksametazon (mg/L)	8					Stabilizatör
Glukoz (gr/L)					195	
Glutasyon (mmol/L)	3			3		Antioksidan + radikal temizleyici
Hidroksietil starch(gr/L)	50		30			İnterstisyel ödemi azaltır + kolloid
Histidin (mmol/L)		180				Antioksidan
İnsülin-iu/lt	100					
K –toplama(mmol/L)	125	10	44	30	115	
Ketogluterat		1				Membranoprotektif etki
KH ₂ PO ₄ (mmol/L)	25		25		60	Tamponat – PH düzenler
K-Laktobiyonat	100			100		Hücrel şişmeyi önler
Mannitol (mmol/L)		30				Antiödem + antioksidan
MgSO ₄ (mmol/L)	5	4				Membran stabilizatörü
Na(mmol/L)	30	15	100	125	10	
Osmolarite(mosm/L)	320- 335	310	370		320-340	
PH	7,2- 7,4	7,2		7,2-7,4	7,3	
Polietilen glikol(mmol/L)				0,03		
Raffinase (mmol/L)	30					Hücre şişmesini önler
Triptofan (mmol/L)		2				Membranoprotektif etki
Bikarbonat (mmol/L)					10	Tampon
Glukonat(mmol/L)			100			Geçirgen olmayan anyon
Penisilin(İU/L)	40					

2.10. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlığına sahip ve çok etkin moleküllerdir [75]. Serbest radikal türevleri kararsızdır ve yüksek miktarda reaktiftirler. Nükleik asit, lipid, protein, karbohidrat ya da diğer moleküllerden elektron elde ederek kararlı hale gelirler; bu sırada da hücrel hasara ve daha sonra da hastalıklara neden olan zincirleme tepkime kaskadını başlatırlar [76].

Biyolojik sistemlerde serbest radikal tepkimeleri önemli bir yer tutar. Serbest radikaller; son yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan, kimyasal olarak çok aktif, zararlı moleküllerdir. Serbest radikaller; radikal olmayan bir atom ya da molekülden bir elektron çıkmasıyla veya radikal olmayan bir atom ya da moleküle bir elektron katkısıyla oluşurlar. Bu bileşikler organizmada normal

metabolik yolların işleyişi sırasında da dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam sürelidir, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok reaktif olan serbest radikaller, tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir ve yararlı biyomoleküllerin fonksiyonlarını yitirmesine neden olmaktadır [77].

Serbest radikaller; reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNOS) olarak iki esas grupta incelenebilir [76]. Organik moleküllerdeki yapısal öneminin dışında, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen, hayati bir öneme sahiptir. Aerobik organizmalar solunumla aldıkları oksijenin % 90'dan fazlasını Mitokondrial Elektron Taşıma Zinciri (ETZ) de enerji üretimi için kullanırlar. Oksijenin % 1-3'ü tam olarak suya dönüşemez ve süperoksit radikali ile hidroksil radikali oluşturur. Oksijenli ortamda, çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen türleri (RNOS); hücre protein, karbonhidrat, nükleotid ve lipidlerin kimyasal modifikasyonu ile doku hasarına neden olabilmekte ve kanser, ateroskleroz, artrit, yaşlanma, inflamasyon, iskemik-reperfüzyon hasarı ve birçok dejeneratif olayının patogeneğinde rol oynayabilmektedir.

Çizelge 2.2. Önemli bazı ROS ve RNOS molekülleri.⁷⁷

O_2^-	Süperoksit anyonu	Organizmada çeşitli kaynaklardan oluşur. Oluşum yerinden fazla uzağa difüzyon olmaz ve ROS oluşur.
H_2O_2	Hidrojen peroksit	Serbest radikal değildir. Fe, Cu gibi geçiş metalleri ile serbest radikal oluşturup, hücre membranını içe ve dışa geçebilir.
OH^-	Hidroksil radikali	Biyolojik moleküllere en hızlı atak yapan ve H_2O_2 varlığında, metal iyonu varlığında oluşan radikallerdir.
$RO^\cdot, R^\cdot, RS^\cdot$	Organik radikaller	Sırasıyla ROH, RH, RSH gibi yapıları moleküllerden köken alırlar.
$RCOO^\cdot$	Peroksil radikali	LOOH' olarak da gösterilen örneğin lipid yıkımında oluşan organik peroksit radikali
HOCl	Hipoklor asidi	Zararlı mikroorganizmaları yıkan, nötrofil oksidatif patlama reaksiyonunda üretilir. OCl halojenizasyon ve oksidasyon reaksiyonları için toksiktir.
O_2	Singlet oksijen	Yüksek oksijen basıncında UV ışını in vivo toksik etkisi yoktur.
NO	Nitrik Oksit	NO sentaz ile endojen iyonlara bağlanır. O_2 ve diğer O_2 içeren radikallere farklı RNOS'lar üretir.
$ONOO^-$	Peroksinitrat	Serbest radikal olmayan RNOS fakat Güçlü okside ajan olarak radikal olan NO_2 (Nitroendioksit) oluşturabilir.

Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir; Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar. Bölünme sonrası her bir parçada ortak

elektronlardan biri kalır. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron taşınımı ile oluşurlar [78]. Her ne kadar serbest radikal tepkimeleri, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır [79]. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde. Bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır [80]. DNA'nın hasarı nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı, tiyollere bağlı enzimlerin yapı ve işlevlerinin bozulması, hücre ortamının tiyol/disülfid oranının değişmesi, protein ve lipitlerle kovalent bağlar yapması, enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler, mukopolisakkaritlerin yıkımı, proteinlerin tahrip olması, lipid peroksidasyonu, membran yapısı ve işlevinin değişmesi, membran proteinlerinin destabilizasyon, taşıyıcı sistemlerin bozulması, steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi, kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşmasıdır[81]. ROS; oosit olgunlaşması, fertilizasyon,embriyo gelişimi ve gebelik gibi çok sayıda fizyolojik süreci etkilemektedir. Oksidatif stresin döllenmedeki yaşa bağlı düşüşü düzenlediği düşünülmektedir. Oksidatif stres, gebelikte normal doğum ve erken doğum süreçlerinde rol oynamaktadır [76]. Radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek mutasyona neden olur ve hücre ölümüne yol açarlar. Bu zararlı etki kromozom değişikliklerine neden olur. Hidroksil radikali bazılarla kolayca tepkimeye girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre fonksiyonlarının bozulmasına hatta ölümüne yol açar [82].

Reaktif oksijen türleri 100'den fazla hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Dişi üreme sisteminde fizyolojik ve patolojik rolleri vardır. Birçok hayvan ve insan çalışmasında; reaktif oksijen türlerinin ovaryumda, tuba uterinalarda, uterusu ve embriyoda varlığı gösterilmiştir. Reaktif oksijen türleri; fizyolojik üreme işlevlerinin (oosit olgunlaşması, ovaryan steroidogenezi, korpus luteal işlev ve luteolizis gibi) düzenlenmesine katılmaktadır [71].

2.11. Antioksidan Savunma Sistemleri

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 [10]. Normal koşullarda; antioksidanlar olarak bilinen tutulum molekülleri, reaktif oksijen türlerini H_2O 'ya dönüştürerek reaktif oksijen birikimini engellemektedir [76]. Tüm antioksidanlar etkilerini başlıca dört farklı şekilde gerçekleştirmektedir: [83].

- 1) Toplayıcı etki
- 2) Bastırıcı etki
- 3) Zincir kırıcı etki
- 4) Onarıcı etki

Antioksidanların, serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutması veya çok daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürmesine “toplayıcı etki”, serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girip, onlara bir hidrojen vererek aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmesine “baskılayıcı etki”, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye “zincir kırıcı etki” ve tamir işlevine de “onarıcı etki” denir.

Antioksidan özelliği bulunan birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmı besinlerle dışarıdan alınırken, bir bölümünü vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretir [84].

Antioksidanlar çok farklı özelliklerine göre çok farklı sınıflandırılabilirler. Antioksidanlar, kaynaklarına göre endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki ana sınıfta toplanır. Endojen kaynaklı olanlar vücudun kendisinin serbest radikallere karşı ürettiği doğal bileşiklerdir. Eksojen kaynaklılar ise vitamin, ilaç ve gıda gibi dışarıdan alınan bileşiklerdir.

Antioksidanlar çözünürlüklerine göre, Glutasyon, C vitamini, ürik asit gibi suda çözünenler ve A vitamini, E vitamini, ubikinonlar gibi lipidlerde çözünenler olmak üzere iki gruba ayrılır.

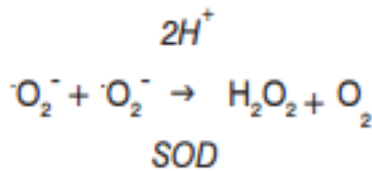
Yerleşimlerine göre de sınıflandırılan antioksidanlar, bu özellikleri baz alınarak iki grupta toplanır. Hücre içinde bulunanlar; katalaz, peroksidaz, ferritin gibi. Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda bulunanlar; transferrin, laktoferrin, seroloptazmin, haemopeksin, albumin gibi.

Antioksidanlar yapılarına göre, enzimatik olanlar ve enzimatik olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılır.

2.11.1 Enzimatik Antioksidanlar

Vücudumuzda doğal olarak bulunurlar.

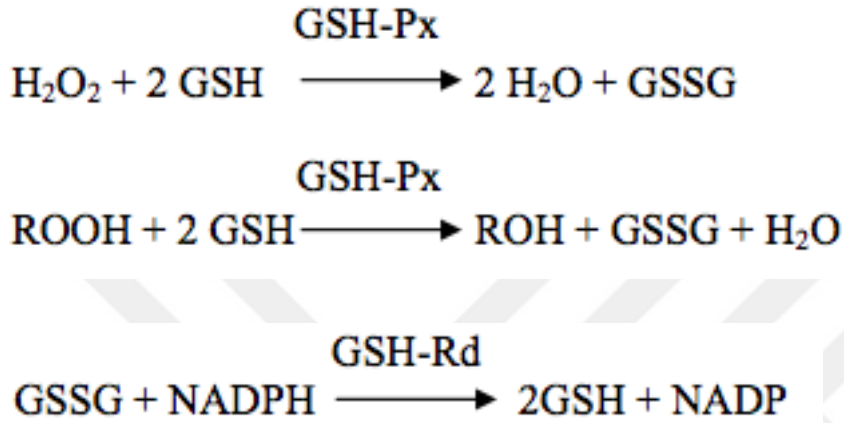
Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit radikalini (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve O_2 'ye dönüştürerek, süperoksit radikale karşı koruma sağlayan enzimdir.



SOD enzimi ile serbest radikallere karşı ilk antioksidan savunma sistemi gerçekleştirilir. Süperoksit dismutaz, sitosol ve mitokondriyonda bulunur. SOD enziminin aktivitesi dokudan dokuya farklılık gösterir. Karaciğer, böbrek üstü bezi, böbrek ve dalakta SOD enzim aktivitesi en yüksek düzeydedir. Hücre içinde oksijen

konsantrasyonu artması veya ROS türlerinin artması paralel olarak SOD enzim aktivitesinde de artışa neden olur.

Glutatyon peroksidaz ve Glutatyon reduktaz: Glutatyon (GSH) aerobik koşullarda metabolizma ile oluşan toksik peroksitlerin uzaklaştırılmasında rol alır.



GSH peroksidaz, 4 adet selenyum içeren etkin bölgeye sahiptir. Hücre zarı lipidlerini ve hemoglobini lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerine karşı korur. GSH redüktaz ise FAD içerir.

GSH peroksidaz daha çok sitozolde bulur. Karaciğerde en aktif, kalp, beyin ve akciğerlerde orta derecede aktif, kaslarda ise daha az aktiftir.

Katalaz: Her bir alt biriminde prostetik grup olarak Fe^{+3} bulunan protoporfirin içerikli bir enzimdir. Hücrede en çok peroksizomlarda bulunur.

Temel işlevi, süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da doğrudan oluşan H_2O_2 'nin su ve oksijene parçalanmasını sağlamaktır. Diğer bir işlevi ise etanol, formik asit ve nitrit oksidasyonunu katalizlemektir.

2.11.2.Enzimatik olmayan antioksidanlar

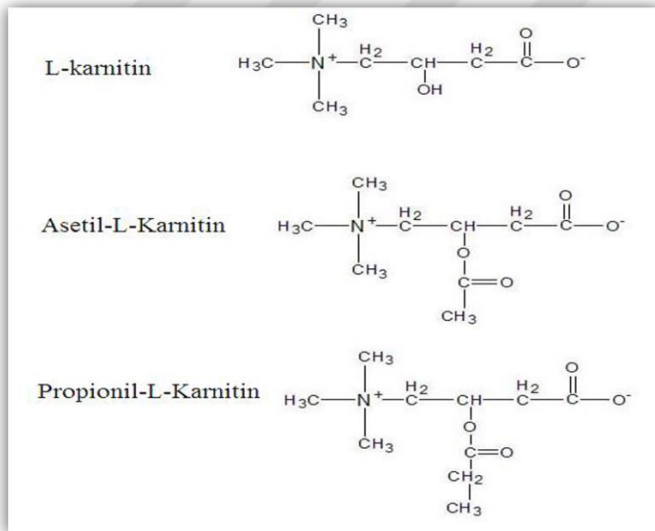
Diyetle alınan antioksidanlar: C vitamini, tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler, selenyum, bakır, çinko, taurin ve hipotaurin, glutatyon.

Diğer antioksidanlar: Bilirubin, dihidrolipoat, fibrinojen, koenzim Q, nitrik oksit, ürik asit, melatonin, L-Carnitin [9-86-87-88-89].

2.12. L-Carnitin

Carnitin, amino asitlere benzeyen ancak hiçbir protein yapısına girmediği için gerçek bir amino asit olarak kabul edilmeyen vitamin benzeri bir amindir. İlk kez 1905 yılında iki Rus bilim adamı Gulewitsch ve Krimberg tarafından hayvan kaslarından izole edilen bir bileşik olarak keşfedilmiş ve bu keşiften sonra latince et anlamına gelen “carnis” ismi verilmiştir. 1927 yılında L-Carnitin’ in kimyasal yapısı belirlenmiş ve suda çözünür bir madde olduğu saptanmıştır [90-91].

Carnitin 3-hidroksi-4-N-trimetilamino-bütirat yapısında olup kimyasal yapısı asetilkoline benzer. Bir asimetric karbon atomuna sahip olması nedeniyle D ve L formlarına sahiptir. Dokularda sadece L formu sentez edilir. Sadece bu formu metabolik olarak aktiftir. D formu ise kimyasal olarak üretilir. L-Carnitin’ in diğer kimyasal formları ise acetyl-L-Carnitin ve propionil-L-Carnitin’dir. (Şekil 2.1)



Şekil 2.1. L-Carnitin ve diğer kimyasal formlarının yapısı

2.12.1. Biyosentezi ve fizyolojik rolü

Carnitin sentezinde görev alan iki esansiyel aminoasit bulunur. Bunlar lizin ve metiyonin aminoasitleridir. Sentez, L-lizin aminoasidinin S-adenozilmetiyonin (SAM) ile metilasyonu ile başlar. Magnezyum, C vitamini, demir, B3 ve B6

vitaminleri, alfa ketoglutarat ve SAM sentezi için gerekli olan diğer kofaktörler (metiyonin, folik asit, B12 vitamini, betain) endojen Carnitin sentezinde rol almaktadır [92]. İnsanda iskelet kası, kalp, karaciğer, böbrek ve beyinde Carnitinin bir öncülü olan gamma-bütirobetain sentezlenirken, bu maddenin Carnitin dönüşümü ancak karaciğer, böbrek ve beyinde gerçekleşebilmektedir. Bu reaksiyonda görev alan enzim gamma-bütirobetain hidroksilaz enzimidir.

Bu enzimin aktivitesi fetus ve yenidoğanlarda çok düşüktür. İnsanlarda Carnitinin %75'i diyetten sağlanırken geri kalan %25'lik kısım endojen olarak sentezlenir [92].

Carnitin kaynakları çoğunlukla et, süt gibi hayvansal ürünlerdir [91-92]. Dışardan alınan ve endojen olarak sentezlenen Carnitin L- izoformundadır [92]. L-Carnitin aktif transport ve pasif difüzyon yoluyla barsaklardan emilir. Plazmada ve dokularda serbest ya da yağ asitlerine bağlı açilkarnitin türevi olarak bulunabilir[93]. Carnitinin kalp, iskelet kası, karaciğer, böbrekler ve epididimiste özel taşıma sistemi bulunur ve bu dokularda yoğunlaşmış durumdadır. Kan yoluyla taşınır. Çoğunluğu kalp ve iskelet kasında depolanır. Carnitinin vücuttan atılımı böbrekler vasıtasıyla gerçekleşir[91]. Glomerüler filtrasyonun ardından carnitinin proksimal tübüllerde bulunan özel bir taşıma sistemiyle tarafından reabsorpsiyonu yapılır. Böbrekteki bu taşıma sodium bağımlıdır ve diğer Carnitin türevleri ile engellenebilir [94-95].

Carnitin hücresel enerji metabolizmasının önemli bir elemanıdır. Serbest uzun zincirli yağ asitlerinin hücre enerji üretimi için beta oksidasyona gidebilmek üzere mitokondri iç zarından mitokondriyon matriksine geçişinde esas olan bir kofaktördür. L-Carnitin beta oksidasyonu hızlandırarak Acetyl Koa miktarını artırır, potansiyel toksik Acetyl KoA metabolitlerini tamponlar ve Acetyl KoA/KoA oranını dengeler. Bu oran sitrik asit döngüsü, glukoneogenez, üre döngüsü ve yağ asit oksidasyonunda rol alan birçok mitokondriyal enzim aktivitesi için önemlidir.^{91,96} Bunlara ek olarak Carnitin, dallı zincirli aminoasit metabolizması, keton cisimlerinin kullanımı, peroksizomal beta oksidasyonu, eritrosit zarında yağ asiti-fosfolipid dönüşümü gibi başka görevler de üstlenir [92-93].

Acetyl L-Carnitin, L-Carnitinin kısa zincirli ester türevidir. Bu Carnitin türevi, L-Carnitinin fizyolojik özelliklerine ilaveten içerdiği acetyl grubu nedeni ile yüksek enerji metabolizması ve anabolik reaksiyonlar sırasında önemli bir acetyl grubu donörü

olarak görev alır ve normal mitokondriyal fonksiyonda stratejik bir rol üstlenir [93]. Acetyl L-Carnitin, yağ asidi oksidasyonu esnasında Acetyl Ko-A'nın mitokondriye geçişini hızlandırır, asetilkolin üretimine katkı sağlar ve protein ve fosfolipid sentezini uyarır [92].

2.12.2 L-Carnitin ve antioksidan etki

Yapılan birçok araştırmada L-carnitin ve türevlerinin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir. L-carnitin, 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 H_2O 'ya indirgenen oksijenin konsantrasyonu azalır ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu azalmış olur. [11].

Yapılan bir çalışmada L-carnitin oksidatif stresi önlediği, nitrik oksit miktarını, hücre solunumu, oksidatif hasara karşı savunmaya yardımcı olan enzimlerin aktivitelerini düzenlediği belirtilmiştir [98].

Vücuttaki antioksidan savunma sisteminde glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri bulunur. L-carnitin bu enzimleri ileri peroksidatif bozunmaya karşı koruduğu ve yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan bozuklukları en aza indirdiği saptanmıştır [99].

2.12.3. L-Carnitin'in kullanım alanları ve eksikliği

Prematüreler ve yenidoğanlarda carnitin sentezini sağlayan gamma-bütirobetain hidroksilaz enzim aktivitesi düşük olduğundan primer carnitin eksikliği ortaya çıkabilir. Primer carnitin eksikliği sonucu organik asidüri gibi metabolik hastalıklarda oluşabilir. Açlık, yaşlılık ve hamilelikte serumda serbest carnitin oranı azalmaktadır. AK/SK oranının değiştiği ve carnitin eksikliğinin görüldüğü diğer durumlar siroz, kronik böbrek yetmezliği, ciddi enfeksiyon, barsak rezeksiyonu, valproik asit tedavisi, diyabet, kalp yetmezliği, Alzheimer Hastalığı ve kanserdir [95,100].

Eksojen Carnitin tedavisinin, anoreksi, kronik yorgunluk, kardiyovasküler hastalık, difteri, hipoglisemi, erkek infertilitesi, musküler myopati, Rett sendromu gibi

hastalıklarda faydası olduğu gösterilmiştir. Carnitin tedavisinin hemodiyaliz ve kanser hastalarında kronik inflamasyon ve oksidatif hasarı azalttığı da kanıtlanmıştır [85-97].

2.12.4. Carnitin eksikliği ile ortaya çıkan metabolik bozukluklar

a- Yağ asitleri enerji üretiminde kullanılamaz, özellikle kalp ve iskelet kaslarında enerji ihtiyacı açığa çıkar.

b- Serbest yağ asitleri ve trigliseridlerde artma gözlenir.

c- Yağ asitleri sitoplazmada birikir.

d- Kaslarda yağlanma meydana gelir.

e- Toksik etkiye bağlı metabolik bozukluklar oluşabilir.

f- Karbonhidratların aşırı kullanılmasına bağlı hipoglisemi oluşur.

g- Karbonhidrat metabolizmasının bozulması sonucu laktik asit birikmesi gözlenir.

h- Çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği ve tekrarlayan enfeksiyonlar gözlenir.

ı- Beta-oksidasyon için gerekli olan serbest KoA eksikliği oluşur [89].

2.12.5. Acetyl L-Carnitin

Acetyl-L-carnitin, carnitin esterlerinden biridir ve vücutta en fazla yer alan carnitin türüdür. Acetyl-L-carnitin oluşumu, yağ asitleri, adenosintrifosfat (ATP) ve KoA kullanarak açıl KoA sentezleyen sitoplazmik tiokinaz ile başlar. Bu bileşik, carnitin ile carnitin palmitoil transferaz-I yoluyla birleşerek, açıl carnitin oluşturur. Mitokondrial matrikse carnitin-açıl carnitin translokaz sistemiyle taşınır. İç mitokondriyal membrandan geçen her açıl carnitin molekülü için bir carnitin dışarı atılır. İç mitokondriyal membranda, carnitin palmitoil transferaz-II, açıl carnitini carnitin çevirerek açıl KoA' yı serbest bırakır. Son olarak, mitokondriyal matrikste bulunan carnitin asetil transferaz, carnitin ve asetil-KoA' dan acetyl-L-carnitin ve KoA üretir[12].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışma 01/2014-07 proje kodlu çalışmanın devamı olarak yürütülmüştür. Çalışma Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmada lisanslı Saki YENİLLİ Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarı'ndan sağlanan Wistar Albino cinsi, 200-250 gram ağırlığında 24 adet, dişi sıçanlar kullanıldı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı.

1. HTK - 4 saat
2. HTK + Acetyl L- Carnitin (10^{-8} M) - 4 saat
3. HTK - 24 saat
4. HTK + Acetyl L- Carnitin(10^{-8} M) - 24 saat

Bu çalışmada uterinal siklus evreleri göz önüne alınmadan randomize çalışılmış, sıklık değişiklikler bulgulara yansıtılmamış, ancak deney prosedürünü ilgilendiren sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır.

Her bir sıçana ketamin (50mg/ 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.

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 + Acetyl L-Carnitin 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 + Acetyl L-Carnitin solüsyonunda bekletildi.

Tüm çalışma gruplarındaki bikornis uterusun sol boynuzunun bir kısmı histomorfolojik ve DNA fragmentasyonunu ortaya koyan TUNEL yönteminin uygulanabilmesi için %10' luk nötral formalinde 72 saat tespit edildi. Daha sonra alışılagelmiş histolojik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı.

3.2. Masson Trikrom Üçlü Boyama Yöntemi

Deney gruplarına ait parafin bloklarından alınan 4 µm kalınlığındaki kesitler deparafinizasyon işlemi için, 37°C'lik etüvde bir gece kaldıktan sonra deparafinizasyonun devamında etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Daha sonra kesitler 2 kes 5' er dakika ksilole alınarak deparafinizasyonları sonlandırıldı. 2 kez 3 dakika %100'lük etil alkolden geçirildikten sonra sırasıyla %90, %80, %70 ve %50 azalan etil alkol serilerinden geçirildi. Kesitler daha sonra akan musluk suyunda yıkanarak boyamaya hazır hale getirildi. Kesitlere GBL Masson Trikrom Boyama Kiti (Cat no: 5022, Lot no: A0203) uygulandı. Haematoxylin Weigert's A ve Haematoxylin Weigert's B solüsyonları eşit miktarda karıştırılarak Weigert Hematoksilen hazırlandı. Kesitler sudan geçirildi. Weigert' s Demirli Hematoksilen ile 15 dk çekirdek boyaması yapıldı. Ardından lam silkelenerek ayıraç uzaklaştırıldı ve oda sıcaklığında 30 dk kurutuldu. Doku kesitleri Pikrik asit çöziltisi ile örtüldü ve 4 dk sonra distile suyla yıkandı. Ardından doku kesitleri Gelincik kızılı fuksin çöziltisi ile örtüldü ve 4 dk sonra distile suyla yıkandı. Doku kesitleri Fosfomolibdik asit çöziltisi ile örtülerek 10 dk bekletildi. Ardından yıkamadan 7 dk Masson anilin mavisi çözeltisi ile doku kesitlerinin üzeri örtüldü ve distile suyla yıkandı. Yıkanan kesitler alkol serilerinden geçirilerek ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı. Sonuç olarak nukleuslar mavi-siyah; sitoplazma ve kas kırmızı; kollagenler maviye boyandı.

Deneklere ait uterus kesitlerinde Masson Trikrom boyamasıyla elde edilen X40'lık büyültmedeki görüntülerde "Image J" programı ile mavi pikseller sayılarak ortalamaları alındı. Bu değerlere göre fibrozis alanları belirlendi.

3.3. İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal boyamalar için oluşturulan parafin bloklardan polilizinli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler 37°C' deki etüvde bir gece tutuldu, daha sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C' ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat, sonrasında 61 °C' de 20 dakika bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 20'şer dakika ksilol'e etkin bırakıldı. Daha sonra kesitler 10'ar dakika sırasıyla %100, %96,%90, %80 ve % 70'lik alkol serilerinden geçirildi. Dehidrate edilen kesitleri 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) (Lab Vision, Thermo Scientific, Fremont) ile mikrodalga fırında retriver işlemi uygulandı. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki kesitler 20 dakika dışarıda soğumaya bırakıldı. Daha sonra dokular sitrattan arındırılmak için 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilip, 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 yıkandıktan sonra, 15 dakika %3'lük hidrojen peroksit (Genemed Biotechnology, Cat: 10-0056, Lot: 31221197, Hannover, Germany) ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi sağlandı. İşlem sonrasında PBS ile yıkanan kesitlere 5 dakika UltraV block (Genemed Biotechnology, Cat: 54-0003, Lot: 40522067, Hannover, Germany) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, uygun dilusyonda Fibronektin (1:100, Abcam, ab2413, Lot no: GR248495-1) primer antikoruyla etkin bırakılarak 1 gece inkübasyonları sağlandı. Primer antikordan sonra kesitler 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 10 dakika biotinli sekonder antikor (Genemed Biotechnology, Cat: 54-0003, Lot: 40522067, Hannover, Germany) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kesitler enzimin biotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Lab Vision, Cat: TA-125-HD, Lot: HD31722, Fremont, CA, USA) etkin bırakıldı. İşlem sonunda kesitler yine 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı. Son olarak ortama diaminobenzedin içeren (DAB) substratı (Lab Vision, Fremont, CA, Cat no: TA-125-HD, Lot no: HD31722) eklenerek yaklaşık 5-10 dakika bekletilip mikroskop altında gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya

ıkması sağlandıktan sonra zemin boyası olarak Mayer'in hematoksilen'i kullanıldı. DAB ile işaretlenip zemin boyaması yapılan lamlar azalan alkol serilerinden ve ksilolden geçirildi. Sonrasında kesitlerin üzeri lamel ile entallan medyumunu kullanarak kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında fotoğrafları çekilerek immünohistokimyasal tutulum yoğunlukları incelendi.

3.4. İstatistiksel Yöntem

Deėiřkenlerin 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 karşılaştırılmaları 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. Masson Trikrom Boyama Bulguları

Masson trikrom boyamalarla yapılan incelemelerde gruplar arası bağ doku dağılımı, fibrozisin artış ya da azalışı yönünden, göreceli olarak değerlendirildi.

4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunda, doku genelinde yapının normal olduğu belirlendi. Endometriyum; epitel ve bez içeren lamina propriyası ile olağan yapısında izlendi. Epitel altında yer yer hücre yığılmasının yoğun olduğu alanlar görülmekle birlikte genel yapıda bir dejenerasyon olmadığı saptandı. Miyometriyumu oluşturan kas tabakası da olağan seyri ile izlendi (Resim 1). Büyük büyültmeli incelemelerde tek katlı prizmatik epitel ve lamina propriyadaki bezler olağan yapıları ile daha belirgin izlendi. Bağ doku hücrelerin epitelin altında bir katman oluşturacak şekilde organize oldukları ve bu bölgede kollagen miktarının göreceli olarak daha zayıf olduğu, açık renk boyanması ile ayırt edildi. Lamina propriyanın özellikle derin bölgelerinin sıkı bağ dokusu görünümü kazanacak biçimde yoğun kollagen içeriğine büründükleri koyu mavi boyanan lifleri ile ayırt edildi. Bu bulgu fibrozisin göstergesi olarak kabul edildi. Miyometriyumu oluşturan kas tabakaları ve ara bağ dokusu, içerdikleri damarlar ile normal yapıda gözlemlendi. Ancak kas tabakaları arasını dolduran ve koyu renkte boyanan kollagen lif demetlerine sahip bağ dokunun göreceli olarak arttığı ilgiyi çekti. Perimetriyum da mezotel ve bağ dokusu ile normal yapıdaydı (Resim 2).

4 saat HTK+Acetyl L-Carnitin solüsyonuna etkin bırakılan grupta uterus dokusu incelemelerinde küçük büyültmede en dikkat çekici bulgu doku genelinde mavi ile boyanan bağ doku liflerinin daha seyrek organize olduğuydu. Bir önceki gruba karşın daha açık renk boyanması ile bu bulgu ayırt edildi. Doku genelinde yapının normal olduğu belirlendi. Endometriyum; epitel ve bez içeren lamina propriya ile olağan yapısında izlendi. Miyometriyumu oluşturan kas tabakaları da ince bağ doku bölmeleri ile birbirinden ayrılmış olarak normal görünümde belirlendi (Resim 3). Büyük büyültmeli incelemelerde endometriyuma ait epitel ve lamina propriyadaki bezler normal yapıda izlenirken, kollagen lif dağılımı ve boyanma özelliği açısından bağ dokunun endometriyuma özgü gevşek bağ doku

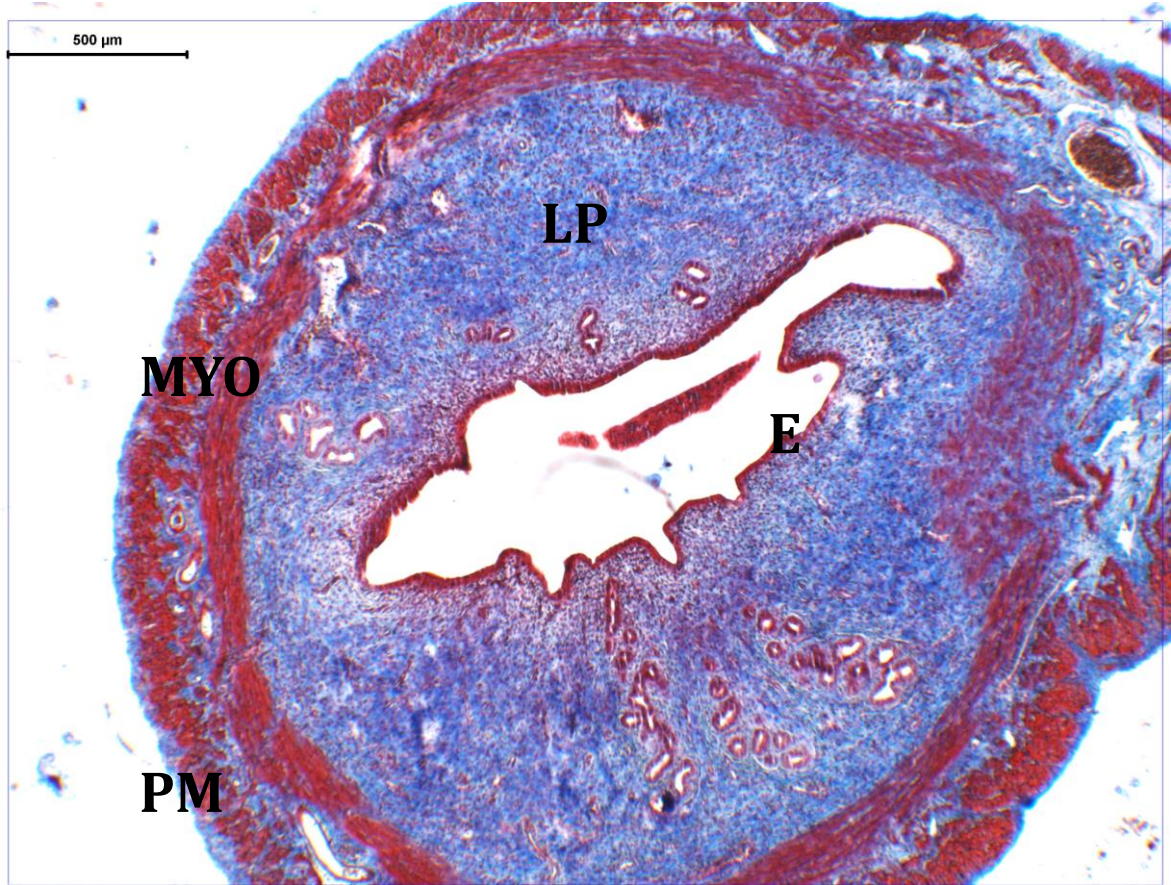
karakterinde olduğu, bir önceki gruba göre, lifler arasında dağılım gösteren bağ doku hücrelerinin göreceli olarak eşit dağılım gösterdiği ve tüm lamina propriyada yoğun olarak varlıkları tespit edildi. Miyometriyum ve perimetriyum bir önceki gruba benzer, normal yapıda idi (Resim 4).

24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusu masson trikrom boyamalarında küçük büyültmeli incelemelerde dokunun tüm katmanlarını içeren dejeneratif değişiklikler ilgiyi çekti. Endometriyuma ait epitel dokuda yer yer ayrılmalar ve bütünlük bozulması izlenirken, lamina propriyanın özellikle epitele yakın bölümlerinde yer yer ödem izlendi. Bağ doku hücrelerinin 4 saatlik uygulama yapılan gruba benzer şekilde epitel altında yığılım yaptığı göreceli olarak belirlendi. Lamina propriyanın derin bölgelerinde ise kollagen liflerin demetler yaptığı, bu görünümü ile fibrotik bir yapı sergilediği koyu mavi boyanma görüntüsü ile ayırt edildi. Miyometriyumda kas katmanları arasında yine 4 saatlik uygulama yapılan gruba benzer artmış bağ doku görünümü dikkati çekti (Resim 5). Aynı gruba ait büyük büyültmeli incelemelerde doku genelindeki dejeneratif değişiklikler daha belirgin olarak izlendi. Endometriyuma ait epitel örtüsünde bazal membran bölgesinden yer yer ayrılmalar dikkati çekti. Ayrıca epitelde yer yer ödem ve hiperplazik değişiklikler ilgi çekiciydi. Lamina propriya yüzeysel ve derin bölgelerinde 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan grup ile benzer özellik sergiliyordu; yüzeysel bölgede bağ doku hücrelerinin bir katman oluşturacak şekilde yığılım gösterdiği ve bu bölgelerde kollagen lif dağılımının daha zayıf olduğu, buna karşın derin lamina propriya bölgesinde fibrozisi temsil eder biçimde kalın kollagen lif demetleri ve daha seyrek yerleşim gösteren bağ doku hücreleri izlendi. Kollagen dağılımı boyanma yoğunluğuna göre yapıldı. Büyük büyültmeli incelemelerde dikkati çeken diğer bir bulgu ise miyometriyumu oluşturan kas tabakasında dejeneratif değişikliklerdi. Diğer gruplardan ayrıcalı olarak bu grupta özellikle sirküler düzenlenen kas tabakasında hücrelerin arasında bağ dokunun varlığı ve bu nedenle hücre bağlantılarında yer yer açılmalar ve organizasyonda bozulmalar belirlendi. Bazı alanlarda bağ dokunun varlığına bağlı olarak kas dokunun kesintiye uğradığı dikkati çekti. Perimetriyumda yapı normaldi (Resim 6).

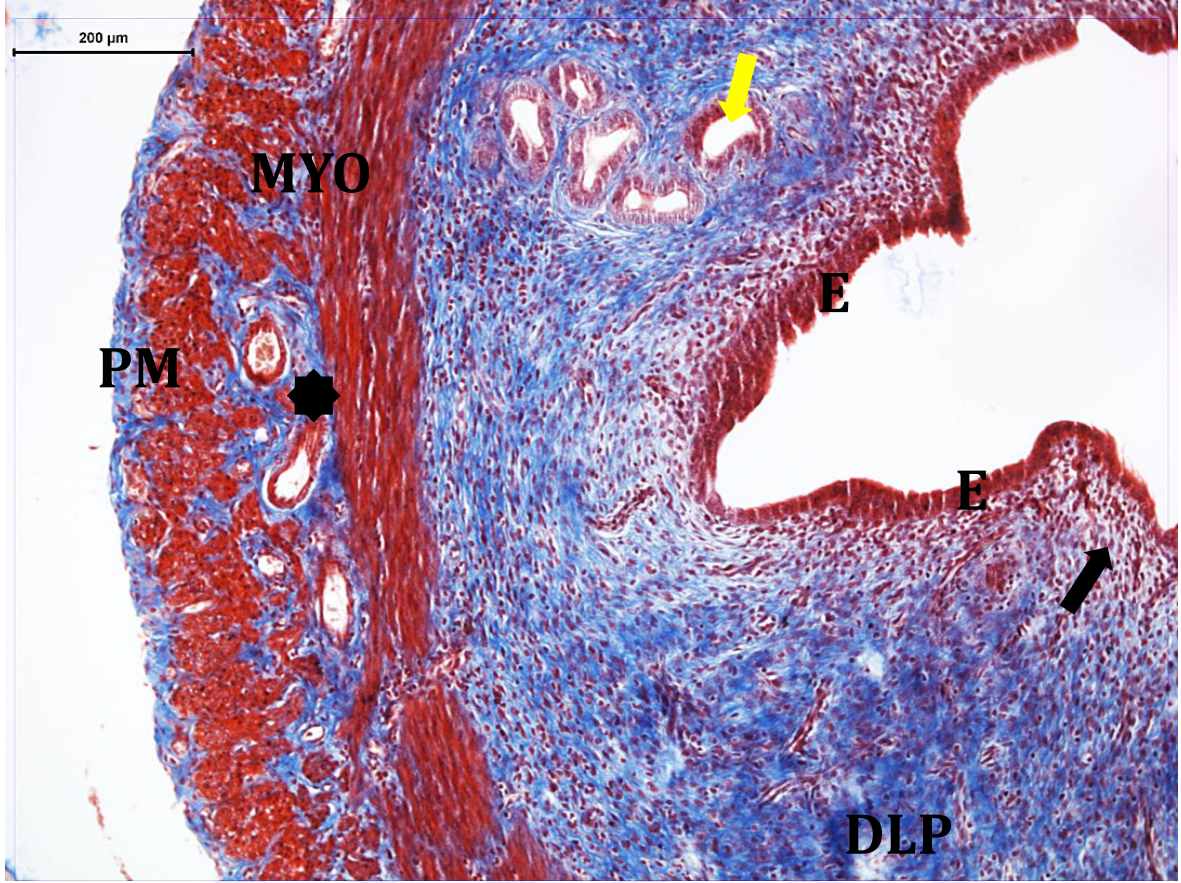
24 saat HTK + Acetyl L-Carnitin solüsyonuna etkin bırakılan grupta uterus dokusu masson trikrom boyaması sonrası küçük büyültmeli incelemelerinde doku

genelinde dejenerasyon izlenmedi. Endometriyuma ait epitel normal yapıdaydı. Lamina propriyada bağ doku hücrelerinin lokal alanlarda epitel altında yığılım gösterdiği belirlendi. Lamina propriya kollagen lif dağılımı açısından değerlendirildiğinde özellikle derin bölgelerde kollagen liflerin daha yoğun olduğu saptanırken, bu yoğunluğun 24 saat HTK uygulanan gruba göre göreceli olarak daha zayıf olduğu dikkati çekti. Miyometriyumu oluşturan kas doku ve perimetrium normal yapıda izlendi (Resim 7). Büyük büyültmeli incelemelerde, endometriyuma ait epitel normal seyrinde ve histolojik yapısında izlenirken, lamina propriyada epitel altında lokal alanlarda bağ doku hücre yığılımı belirgin olarak gözlemlendi. Kollagen lif dağılımının ise özellikle derin bölgelerde yoğunlaşma gösterdiği izlenirken, miyometriyumu oluşturan kas dokusu normal histolojik yapıda izlendi. Perimetriumda yapısal bir değişiklik gözlenmedi (Resim 8).

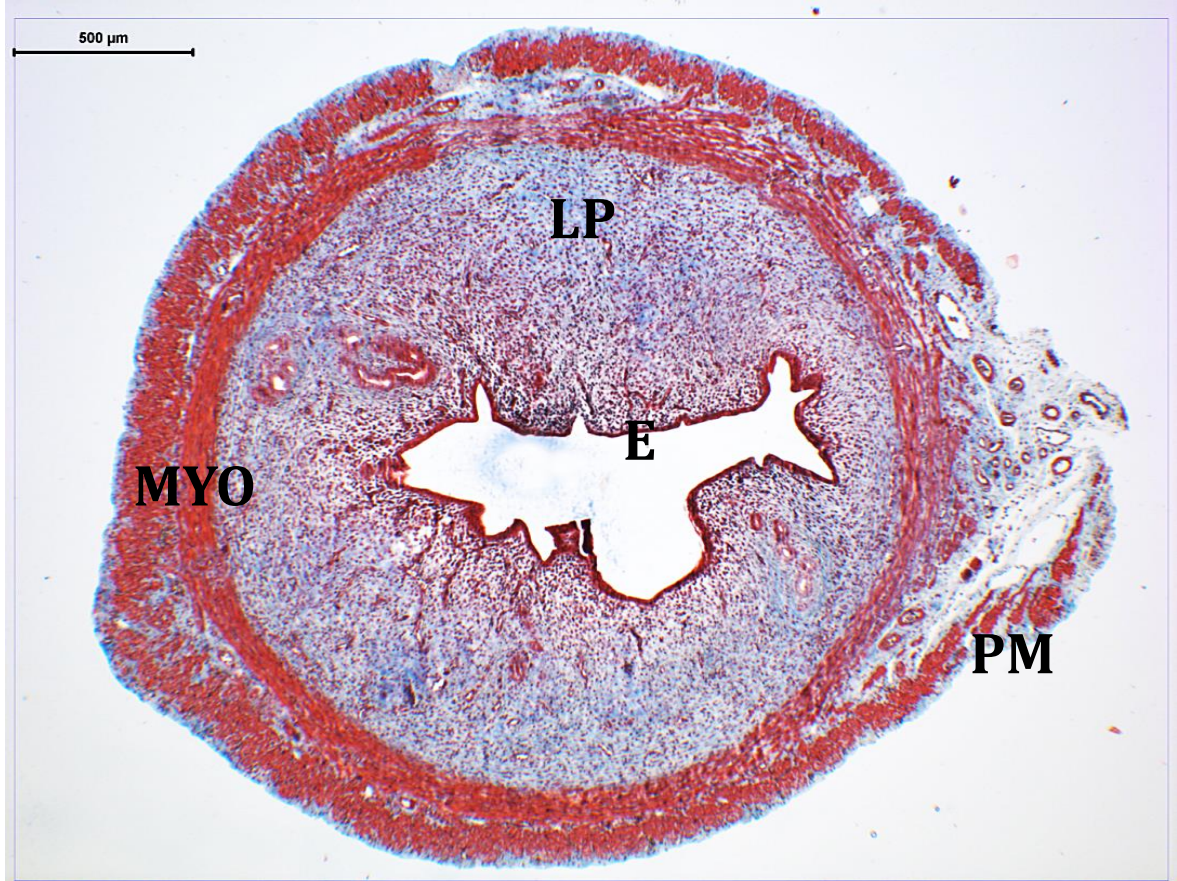
Bu bulgular ışığında lamina propriya bağ doku içeriğinin en iyi 4 saatlik HTK + Acetyl L-Carnitin grubunda korunabildiği sonucuna varıldı.



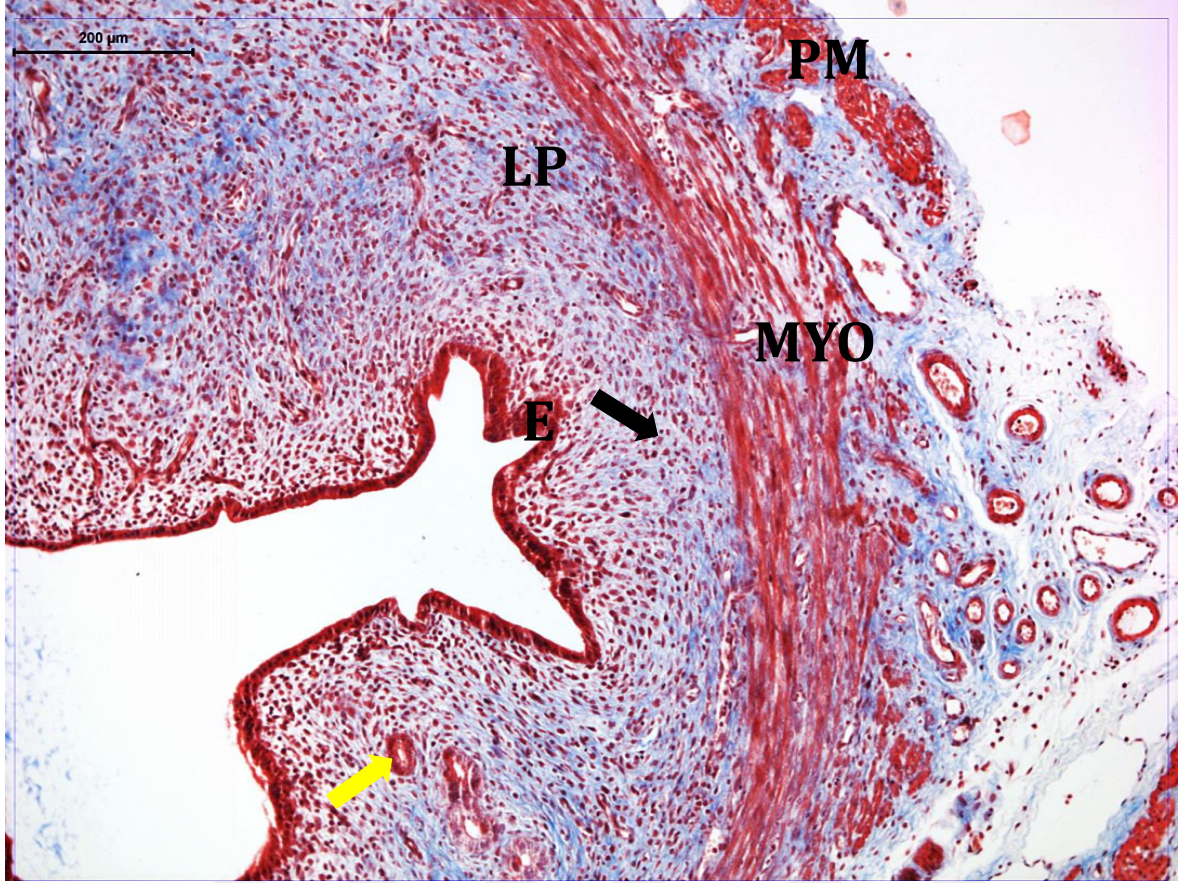
Resim 4.1. 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan gruba ait küçük büyültmeli incelemelerde uterus dokusu izleniyor. E: epitel, LP: lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum (Masson Trikrom X40).



Resim 4.2. 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan gruba ait uterus dokusuna büyük büyültmeli incelemede, normal yapıda epitel (E), epitelin altında katman oluşturan bağ doku hücreleri (siyah ok), normal yapıda uterus bezleri (sarı ok), Derin lamina propriyada (DLP) yoğun kollagen lif demet içeriği ve miyometriyumda (MYO) kas tabakaları arasında yoğun kollagen lif demetleri (★) izleniyor. PM: perimetrium (Masson Trikrom X100).



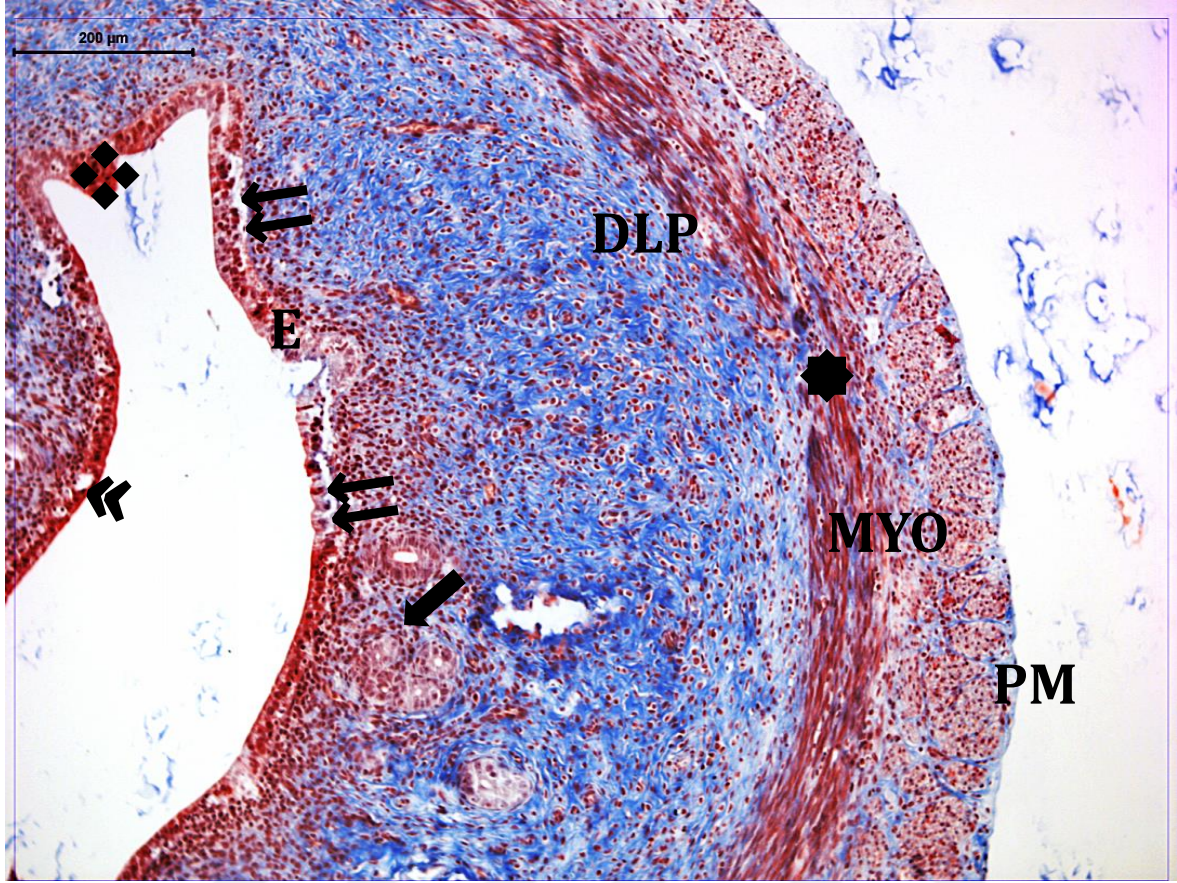
Resim 4.3. 4 saat HTK+L-car uygulanan gruba ait küçük büyültmeli incelemelerde, E: epitel, LP: kollagen lif içeriği zayıf lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum gözleniyor (Masson Trikrom X40).



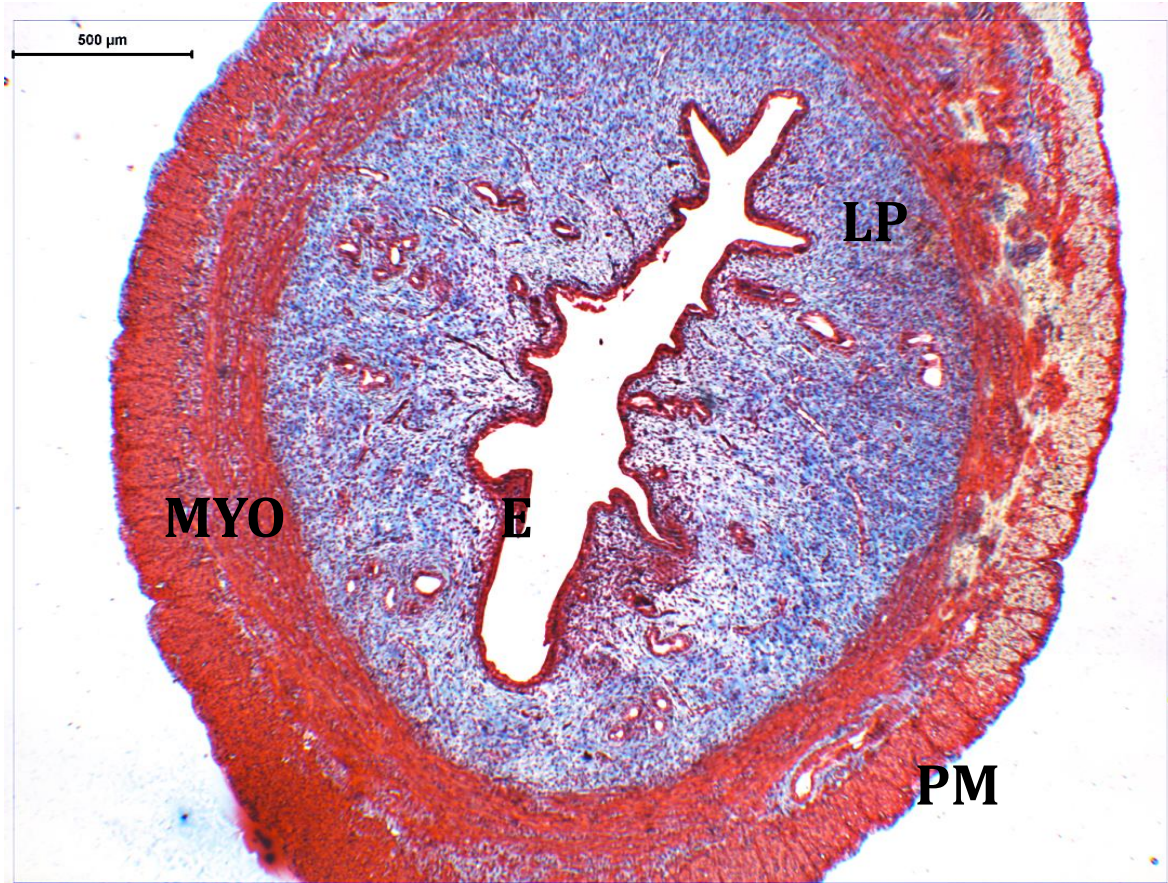
Resim 4.4. 4 saat HTK+L-car uygulanan gruba ait uterus dokusunun büyük büyültmeli incelemesinde, normal yapıda epitel (E) ve normal yapıda uterus bezleri (sarı ok) gözleniyor. Lamina propriyada (LP) seyrek kollagen lif içeriği ve tüm lamina propriyaya dağılmış bağ doku hücreleri (siyah ok) belirgin. MYO: miyometriyum, PM: perimetrium (Masson Trikrom X100).



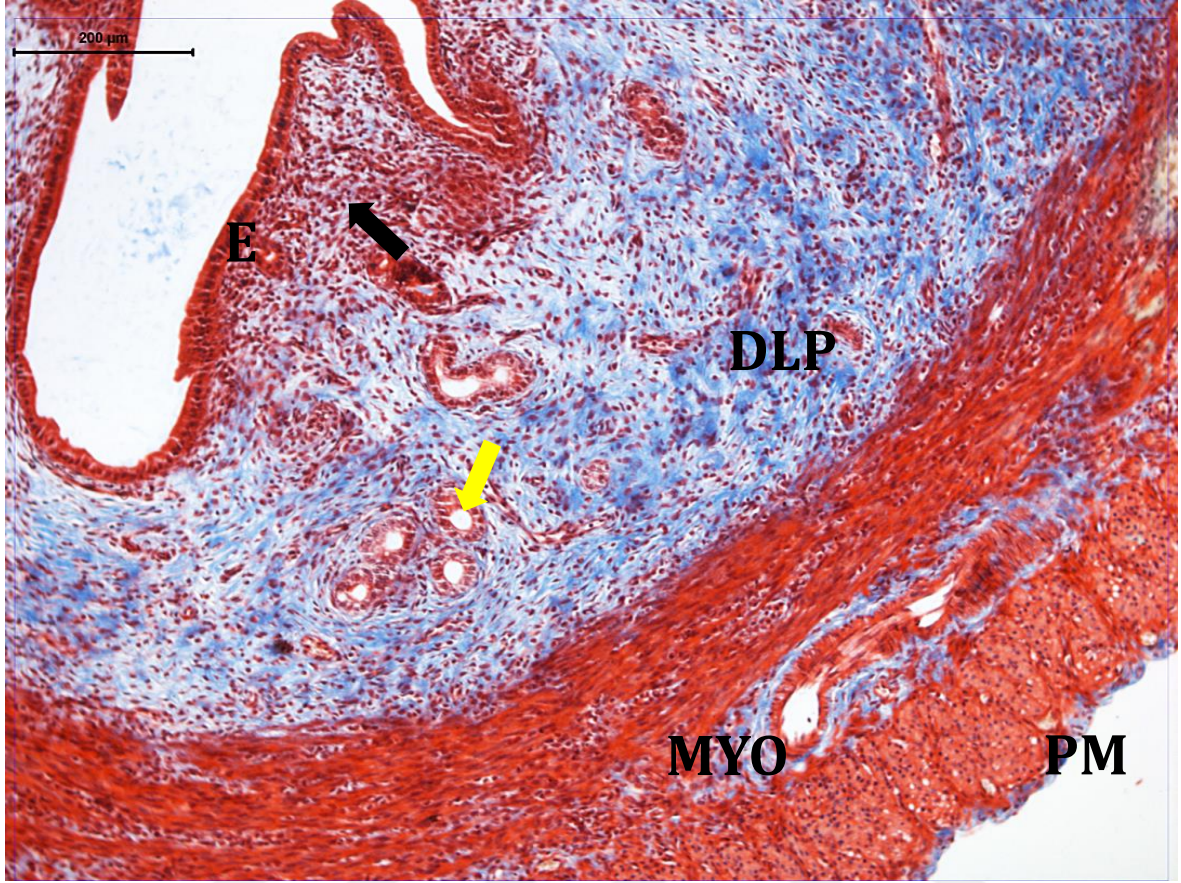
Resim 4.5. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunun küçük büyültmeli incelemelerinde, epitelde (E) yer yer dejeneratif görüntü (⇓), lamina propriyada ödem (◆) ilgiyi çekiyor. E: epitel, LP: lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum. (Masson Trikrom X40).



Resim 4.6. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusu büyük büyültmeli incelemelerinde dokunun tüm katmanlarında dejeneratif değişiklikler gözleniyor. Epitel (E) - bazal membran bileşkesinde ayrılmalar (⇓), epitel hücrelerinde yer yer ödem («) ve hiperplazi (❖), bağ doku hücrelerinin epitel altında yoğunlaştığı (siyah ok), derin lamina propriyada (DLP) çok yoğun kollagen lif demetlerin varlığı; kas tabakaları arasında yoğun bağ dokusu varlığından dolayı oluşan kesintiye uğramış (★) miyometriyum tabakası (MYO) izleniyor. PM: perimetrium (Masson Trikrom X100).



Resim 4.7. 24 saat HTK + L-car uygulanan gruba ait küçük büyültmede uterus dokusu. E: epitel, LP: derin bölgelerde kollagen lif içeriği yoğun lamina propriya, MYO: miyometriyum, PM: perimetriyum (Masson Trikrom X40).



Resim 4.8. 24 saat HTK + L-car grubuna ait büyük büyültmede uterus dokusu. Normal yapıda epitel (E), lokal alanlarda epitel altına lokalize bağ doku hücreleri (siyah ok), normal yapıda uterus bezleri (sarı ok), derin lamina propriyada (DLP) yoğun kollagen lif varlığı ve normal görünümde miyometriyum (MYO) ile perimetrium (PM) görülüyor (Masson Trikrom X100).

4.2. Alan Renk Değerlendirmesi

Deneklere ait uterus kesitlerinde Masson Trikrom boyamasıyla elde edilen X40'lık büyültmedeki görüntülerde "Image J" programı ile mavi pikseller sayılarak ortalamaları alındı. Bu değerlere göre fibrozis alanları belirlendi.

Uterusta fibrozis alan ortalamaları, HTK-4saat grubunda $144,92 \pm 39,15$; HTK+ALCAR-4saat grubunda $163,27 \pm 9,69$; HTK-24saat grubunda $163,59 \pm 20,89$; HTK+ALCAR-24saat grubunda $167,63 \pm 13,40$ olarak saptandı. Grupların ikili karşılaştırılması Mann Whitney U testi ile yapıldı.

HTK-4saat grubu ile HTK+ALCAR-4saat grubu ve HTK-24saat grubu ile HTK+ALCAR-24saat grubu kıyaslandığında uterustaki fibrozis alanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (sırasıyla $p=0.749$; 1.000).

Bilgisayar donanımlı fotoşık mikroskopta yapılan renk analizli alan hesaplarında kollageni lif rengi olan mavi alanlar karşılaştırılarak değerlendirilmiş, ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bunun nedeni ise gruplar arasında artan kollagen miktarından ziyade kollagen demetlerinin oluşumunun dolayısıyla sıkı bağ dokusuna formasyonun olması olarak değerlendirilmiştir.

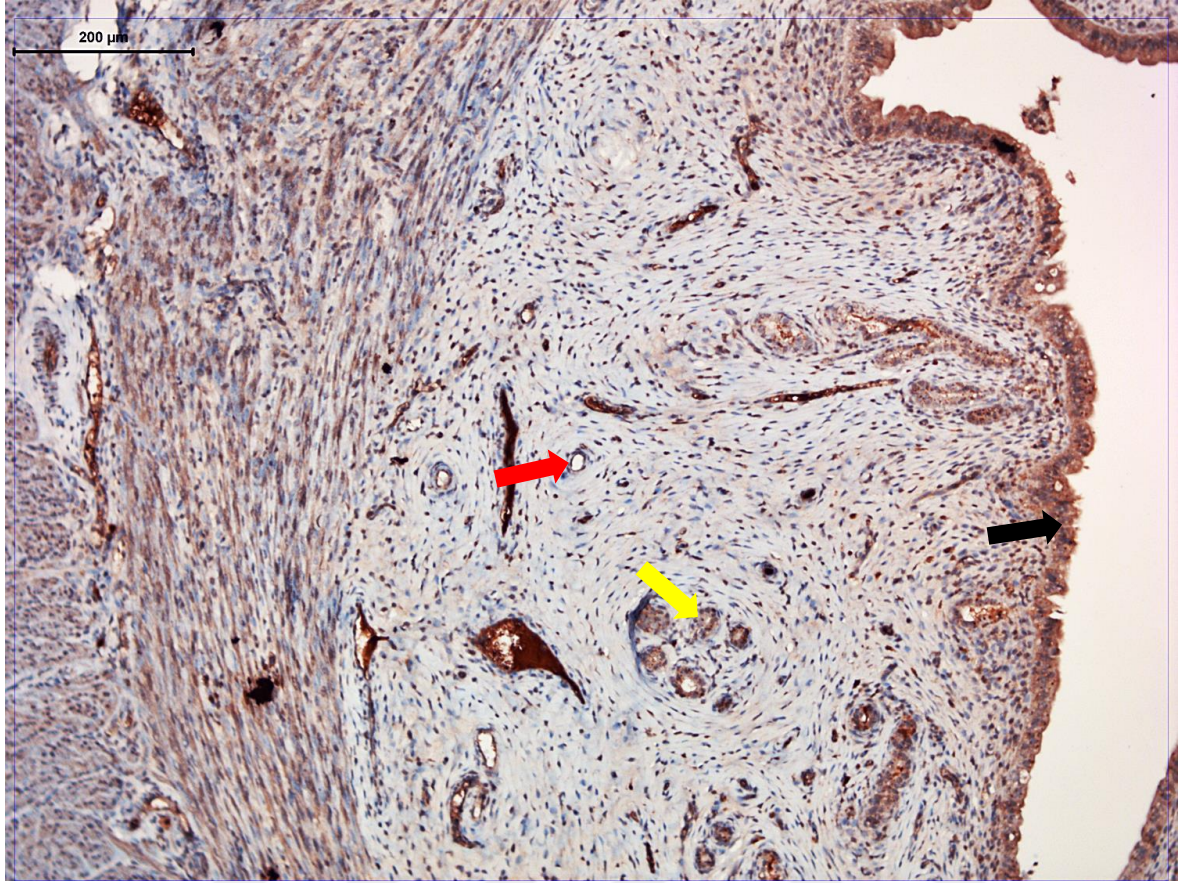
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

Özellikle epitel hücrelerinde sentezlenen ve bazal membranın önemli glikoproteinlerinden olan fibronektin ile yapılan immünohistokimyasal değerlendirmelerde gruplar arası bazal membran yapılarının düzenlenimi göreceli olarak değerlendirildi.

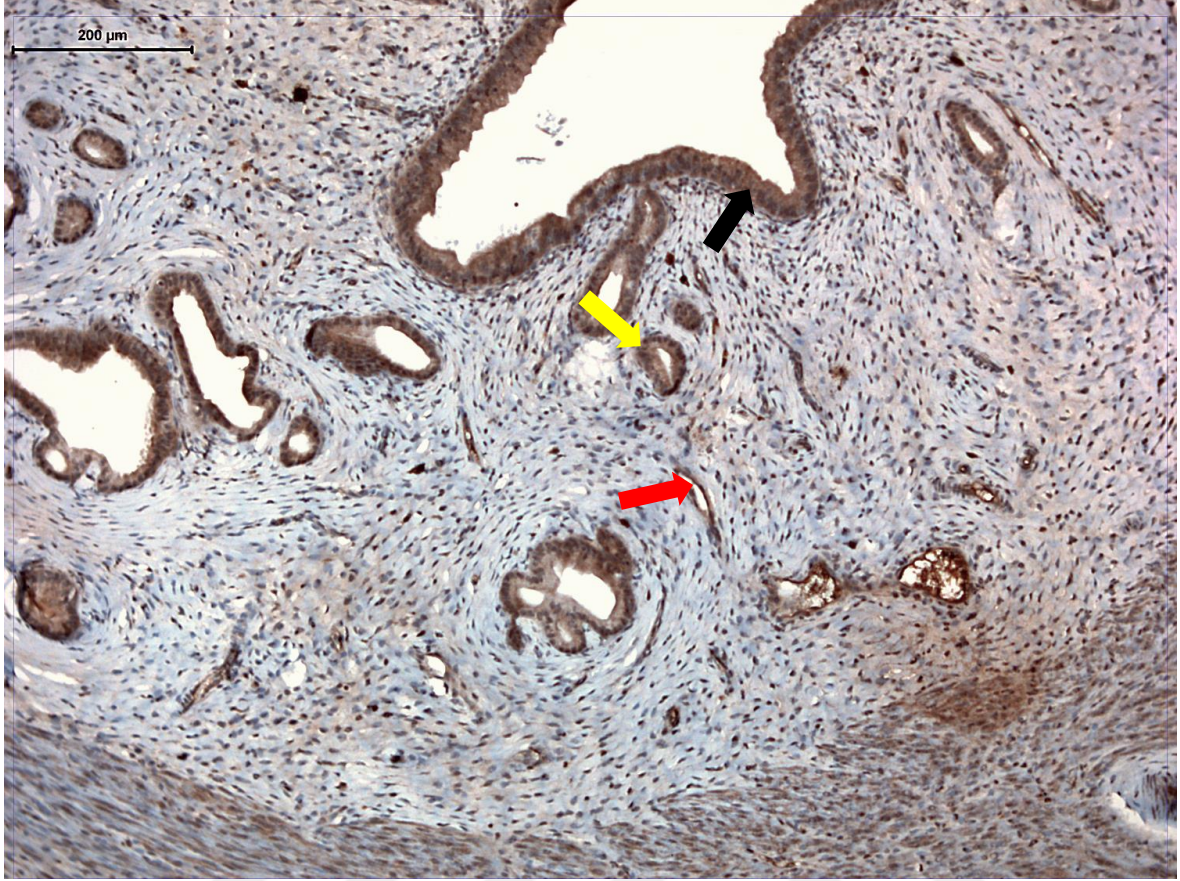
4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan grupta endometriyum epitel hücreleri ile bez hücreleri ve damar endotel hücrelerinde orta dereceli fibronektin tutulumu izlendi (Resim 9). Aynı saat ancak Acetyl L-Carnitin eklenmiş grupta ise belirtilen tüm bölgelerde fibronektin tutulumu kuvvetli olarak izlendi (Resim 10). 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunda ise tüm gruplar arasında en zayıf immünreaktivite ilgiyi çekti; tüm epitel hücrelerinde tutulum zayıftı (Resim 11).

24 saat HTK + Acetyl L-Carnitin solüsyonuna etkin bırakılan grupta ise epitel ve bez hücrelerinde kuvvetli tutulum izlenirken, damar endotel hücrelerindeki tutulumun aynı solüsyon karışımının 4 saat uygulanan grubuna göre orta dereceli olduğu belirlendi (Resim 12). Bu bulgular ışığında uterus bazal membran yapılarının en iyi 4 saatlik HTK+ Acetyl L-Carnitin grubunda korunduğu sonucuna varıldı.

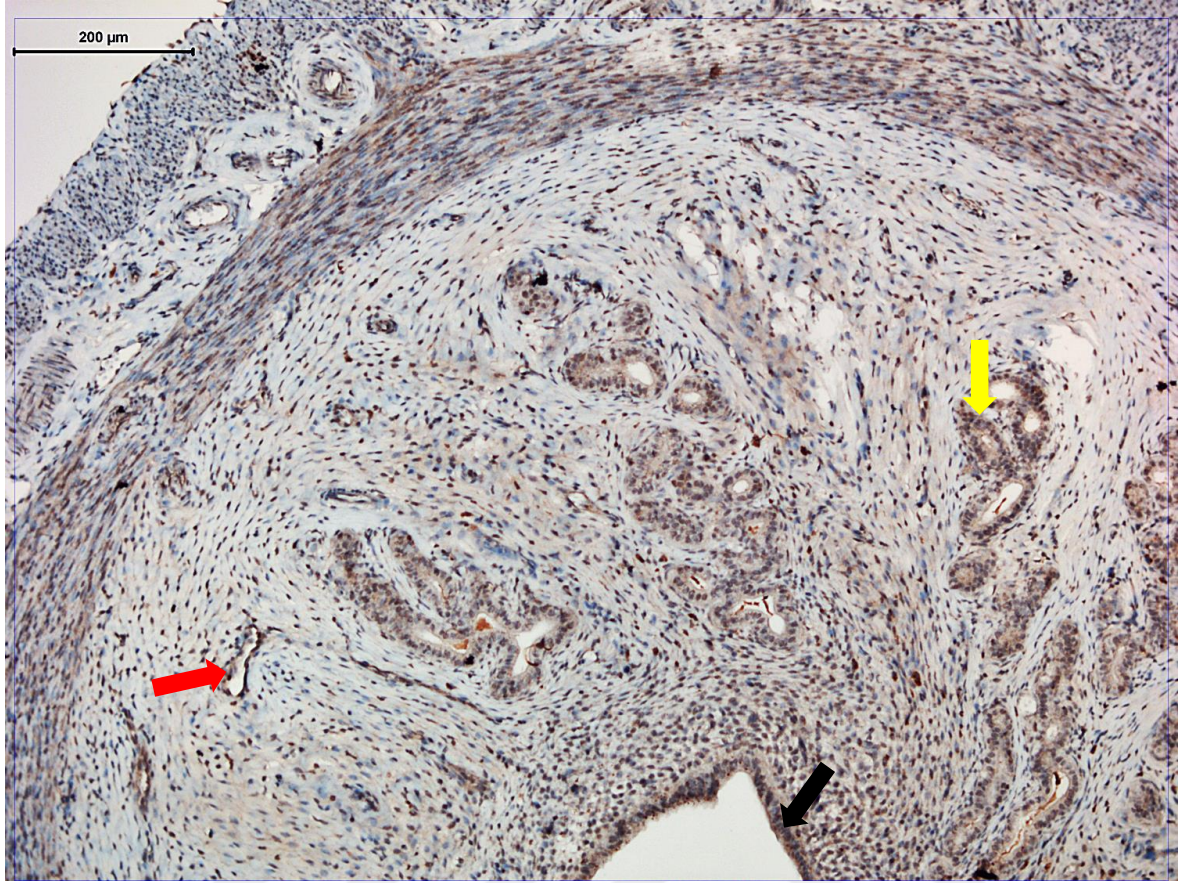




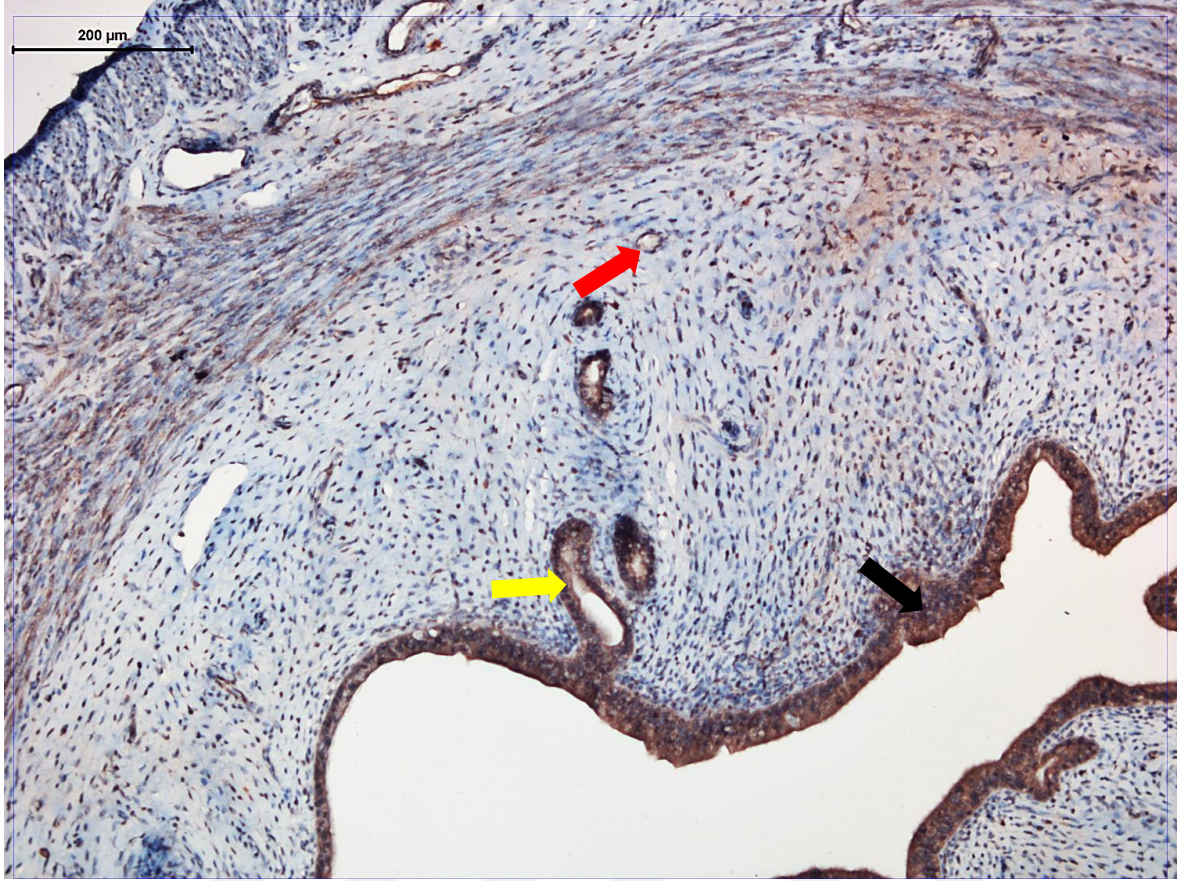
Resim 4.9. 4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunda fibronektin ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda endometriyum epitelinde (siyah ok) , uterus bezlerinde (sarı ok) ve damar duvarında (kırmızı ok) orta derecede tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).



Resim 4.10. 4 saat HTK+L-car uygulanan grupta yapılan fibronektin immünohistokimyasal boyamalarında endometriyum epitelinde (siyah ok), uterus bezlerinde (sarı ok) ve damar duvarında (kırmızı ok) kuvvetli tutulum ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).



Resim 4.11. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan gruba ait fibronektin immünişaretlemede endometriyum epitelinde (siyah ok) , uterus bezlerinde (sarı ok) ve damar duvarında (kırmızı ok) zayıf immünreaktivite görülüyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).



Resim 4.12. 24 saat HTK + L-car grubunda fibronektin immünreaktivitesinin endometriyum epitelinde (siyah ok) ve uterus bezlerinde (sarı ok) kuvvetli, damar duvarında (kırmızı ok) ise orta dereceli olduğu izleniyor (İmmünperoksidaz – Hematoksilen X100).



5. TARTIŞMA

Son 10 yıllık dönemde hem kadın hem de erkek infertilitesi tedavilerinde önemli gelişmeler olmuştur. İnfertilitede tıbbi tetkik istenen çiftlerin yaklaşık %40' ında kadına ait nedenler olduğu bilinmektedir. IVF tedavisinin başlaması, ovulatuvar bozukluklar ve tubal faktörler gibi kadın infertilitesine ait nedenlerin tedavi edilmesine yol açmıştır. Ancak uterus faktörüne bağlı infertilitede altta yatan anomalilerin çoğu tedavi edilebilir değildir. Yakın bir zamana kadar uterus faktörlü infertiliteye sahip hastaların genetik olarak anne olabilmeleri için tek seçenek taşıyıcı annelik olarak bilinmekteydi [3].

Uterus faktörlü infertil kadınların çocuk sahibi olabilmeleri için alternatifler, taşıyıcı anne kullanmak ya da evlat edinmektir. Bunlardan sadece taşıyıcı anne kullanımı ile çiftler kendi genetik yapısını taşıyan bir çocuğa sahip olabilir. Ancak taşıyıcı annelik bazı ülkelerde yasal değildir, ayrıca dini inançlar ya da etik sebeplerle bazı çiftler taşıyıcı anne seçeneğini uygun bulunmamaktadırlar. Uterus transplantasyonu taşıyıcı anneye ihtiyaç duymadan kadınlara kendi genetik yapısını taşıyan bir çocuk sahibi olma şansı verebilecek deneysel bir uygulamadır [101].

Uterus Transplantasyonu son yılların en güncel araştırma konuları içerisinde yer almaktadır. Uterus faktörlü infertilite için uterus transplantasyonu bir alternatif olarak görülmüştür [102].

İlk defa 2000 yılında Fageeh ve arkadaşları tarafından bir olguda insan uterus transplantasyonu yapılmıştır, ancak transplantasyondan üç ay sonra akut vasküler tromboza bağlı olarak uterus nekroza uğramış ve bu nedenle histerektomi yapılması gerekmiştir [103].

Racho ve arkadaşları farelerde yaptıkları deneylerde syngenetik uterus transplantasyonu sonucu embriyo transferi ile gebelik elde etmişlerdir. İmplantasyon ve gebelik oranları uterus transplantasyonu yapılmamış sağlıklı fareler ile benzer bulunmuş. Ayrıca elde edilen gebeliklerde fetal gelişim ve doğum ağırlığının normal olduğu bildirilmiştir [5].

Enskog, Johannesson ve arkadaşları insanlarda uygulanacak uterus transplantasyonuna yol göstermesi için babunlarda oto-transplantasyon deneyerek, cerrahi teknikleri geliştirmeyi amaçlamışlardır. On beş tane babun ile çalışmışlardır. Çalışmada beş tanesi anatomik inceleme için kullanılmış; on tanesine ise oto-transplantasyon yapılmıştır. Babunlardan bir tanesi operasyon sırasında taşikardi sonucu ölmüştür. Geriye kalan dokuz babundan beş tanesi yaşamsal döngülerine devam edebilmişlerdir. Beş babundan sadece iki tanesinde menstruasyon gözlenmiştir. Araştırmacılar, insanda uterus transplantasyonundan önce damarsal transplantasyon teknikleri için çok sayıda hayvan deneyi yapılması gerektiğini vurgulamışlardır [102].

Kisu, Mihara ve arkadaşları kısa bir süre önce pre-klinik teknikleri denemek için insanlardaki histerektomiye benzer şekilde iki Cynomolgus maymununun uteruslarına oto-transplantasyon denemesi yapmışlardır. Operasyondan iki gün sonra maymunlardan biri renal yetmezlik sonucu ölmüştür. Kırk gün sonra diğer maymuna laparotomi yapılarak uterusun normal morfolojik yapıda olduğu gösterilmiştir. 139 gün sonra ultrasonografide endometriyal proliferasyon gözlenmiş, uterus fonksiyonları yeniden çalışmış ve menstrasyon görülmüştür [104].

Bir insandan başka bir insana uterus nakil girişimi, dünyada ilk kez 2000 yılında Suudi Arabistan'da gerçekleştirilmiştir. 46 yaşındaki canlı donör uterusu, doğum sonrası kanama ve yumurtalık kisti nedeniyle uterusu alınan 26 yaşındaki bir kadına nakledilmiştir. Transfer venöz grafların kullanımı ile uterin damarlardan eksternal iliak damarlara vasküler anastomoz yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak uygulamadan 90 gün sonra nakil yapılan kadının vücudunun uterusu reddettiği bildirilmiştir. Bu denemede doku reddinden ziyade damar torsiyonu ve uterusun yetersiz desteklenmesinden vasküler trombozis meydana geldiği rapor edilmiştir [4].

Bütün organ nakillerinde en önemli konu, donörden alınan organın transplante edilinceye kadar, hücre bütünlüğünün ve yaşamsal fonksiyonlarının korunmasını sağlamaktır [105].

Organların vücuttan çıkartılması, korunması ve nakledilmesi, organın iç yapısında önemli değişikliklere neden olur. Organların çıkartıldıktan sonra korunması

esnasında en önemli etken iskemi ve hipotermidir. Hipotermi, hücre zarı yapısında değişikliklere, hücre zarının geçirgenliğinin artmasına ve içeri sıvı çekerek hücrenin şişmesine yol açar. Organ korunmasının temel amacı, organı alıcıya nakledene kadar geçen sürede, doku fonksiyonunu korumak ve süreyi uzatarak daha uzak mesafelere nakledilebilmesini sağlamaktır. Bu da hipotermik ortamda metabolizmanın yavaşlatılmasıyla sağlanır. Hücre soğutulunca ATP kullanımı azalır. Hücre zarı, hücrenin korunmasında çok önemli rol oynar. İyon ve suyun geçişinde ısı, pH ve ozmolariteye göre değişen bir fonksiyonu yürütür. Organdaki iskemi sırasında bu fonksiyonlar bozulur [53-106]. Buna ek olarak, nakledilen organlardaki hasarın büyük bir kısmı iskemiden değil, organın kanlanması yeniden sağlanmasıyla ortaya çıkar (reperfüzyon hasarı). Bunun nedeni, reperfüzyonla birlikte serbest oksijen radikallerinin, sitokinler ve nitrik oksidin açığa çıkmasıdır [107].

Antioksidan maddeler hücreyi serbest radikallere karşı koruyan ve onları nötralize eden maddelerdir. Reperfüzyon hasarı sürecinde gelişen hücre içi serbest radikalleri, bu maddeler ile ortadan kaldırılabilir. Bunların çoğu endojen kaynaklı iken, bir kısmı ekzojen kaynaklıdır. En sık üzerinde çalışılan antioksidanlar: triptofan, histidin, glisin, transferin, ferritin, laktoferrin, seruloplazmin, askorbik asit, E vitamini, A vitamini, çinko, selenyum, manganez asetilsistein-karbosistein, alfa glutatyon-s-transferaz, allopurinol, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz ve L-Carnitin' dir [108].

Carnitinin iskemik hasarın engellenmesine yönelik olan olumlu etkileri iki ana mekanizma üzerinden olabilir. Bunlardan ilki direkt etkisidir. Bu etki iskemi bulgularının azaltılması, pro-oksidan etki ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunun azaltılmasına yönelik faktörlerdir. Diğer ana mekanizma ise direkt hücrelerin apoptoza gidişinin azaltılmasıdır. Bu etkisi ise membran stabilizasyonu, kaspazların aktivitelerinin engellenmesi ve Fas/FasL sisteminin inhibisyonu yoluyla olmaktadır [109].

Önal, Astarçioğlu ve arkadaşları renal iskemi-reperfüzyon hasarı yaratılan sıçanlardaki L-Carnitin'in etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada gruplarının bir bölümüne ameliyattan önce 200mg/kg carnitin verilmiştir. Bir gruba 60 dakika; diğer gruba ise 90 dakika sol böbreğe iskemi-reperfüzyon uygulanmıştır. Çalışmada

carnitin ile tedavi edilen iki grup arasında, sağkalım, böbrek fonksiyon testleri ve histopatolojik bulgular açısından karşılaştırıldığında, uzamış iskemiye rağmen böbrek dokusunda anlamlı bir bozulma olmadığının, carnitin tedavisinin 90 dakika iskemi uygulanan grupta bile üçüncü günde anlamlı iyileşme sağladığı görülmüştür. Carnitinin bu yararlı etkileri, 90 dakikalık iskemi sonucunda hücresel ATP düzeylerinin iyice azalmış olmasına karşın, intramitokondriyal açıl CoA düzeyinin azaltılıp, ATP' nin artmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür [110].

Günümüzde pek çok koruma solüsyonu tanımlanmıştır. Bunlar arasında en fazla kullanılan HTK, UW, Collins, Euro-collins, UW-PEG, Polysol, Kyoto, New Kyoto v.b. sayılabilir.

HTK solusyonu (CUSTODİOL®, Odyssey Pharmaceutical Hanover-Germany); 1970' li yıllarda Bretschneider tarafından kardiyolojik transfer solüsyonu olarak geliştirilmiştir. Bu sıvıda, mannitol ve histidin hem antioksidan hem de osmotik etki yaratırlar. Ketoglutarat ve triptofan ise membranoprotektif etkili olup, ketoglutarat aynı zamanda oksijensiz kalan hücrede krep döngüsünün substratı olarak işlev görür. K^+ ve Na^{++} değerlerinin düşük olması nedeniyle, ilk olarak kalp transplantasyonunda kullanımı yaygınlaşmıştır. Daha hızlı soğutulabilmesi, 3 kat daha yüksek akım hızına sahip olması önemli özelliğidir [7].

Loganathan ve arkadaşları, ratlarda kalp transplantasyonu sırasında kullanılan koruyucu solüsyonlardan Bretschneider-HTK (HTK) solüsyonu ve HTK' nin değiştirilmiş formu olan Custodiol-N (Bretschneider-HTK) solüsyonunu, 24 saati aşan reperfüzyonun sonucunda karşılaştırarak, etkilerine bakmışlardır. Custodiol-N' in kalp transplantasyonundan sonra reperfüzyonun kritik evresi boyunca miyokardiyal ve endotelial foksiyonları geliştirdiği gösterilmiştir [111].

Simoes ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, in vitro ortamda ratların akciğer dokuları 6 ve 12 saatlik iskemi periyotlarında HTK, LPD ve SF solüsyonlarında bekletilmiştir. Histopatolojik bulguları için H&E boyama ile alveoler ödem, alveoler hemoraji, inflamatuvar infiltrasyon, parametreleri değerlendirilmiştir. 6 saatlik gruplarda en fazla alveoler ödem SF solüsyonunda bekletilen dokularda görülmüştür, en az ise HTK solüsyonunda bekletilen dokularda görülmüştür. 12 saatlik gruplarda 6 saatlik gruplara göre daha fazla alveoler ödem görülmüştür ve

en fazla SF solüsyonunda bekletilen dokularda alveoller ödem görülürken, en az LPD solüsyonunda bekletilen dokularda görülmüştür [112].

Bizim çalışmamızda ise masson trikrom boyamalarla yapılan incelemelerde yalın HTK gruplarında bağ doku dağılımı, fibrozisin artış ya da azalışı yönünden, histomorfolojik olarak değerlendirildi.

4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokusunda, doku genelinde yapının normal olduğu belirlendi. Tek katlı prizmatik epitel ve lamina propriyadaki bezler olağan yapıları ile daha belirgin izlendi. Bağ doku hücrelerin epitelin altında bir katman oluşturacak şekilde organize oldukları ve bu bölgede kollagen miktarının göreceli olarak zayıf olduğu, lamina propriyanın özellikle derin bölgelerinde ise sıkı bağ dokusu görünümü kazanacak biçimde yoğun kollagen formasyonu ayırt edildi. Bu bulgu ise fibrozisin göstergesi olarak kabul edildi. Miyometriyum ve perimetriyum katmanları normal yapıdaydı.

Ancak 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokuları incelendiğinde ise dokunun tüm katmanlarını içeren dejeneratif değişiklikler izlendi. Endometriyuma ait epitel örtüsünde bazal membran bölgesinden yer yer ayrılmalar dikkati çekti. Ayrıca epitelde yer yer ödem ve hiperplazik değişiklikler izlendi. Derin lamina propriya bölgesinde ise fibrozisi temsil eder biçimde kalın kollagen lif demetleri ve daha seyrek yerleşim gösteren bağ doku hücreleri izlendi. Miyometriyumu oluşturan kas tabakasında dejeneratif değişiklikler dikkat çekti. Özellikle sirküler kas tabakasında hücreler arası bağ dokunun varlığı ve bu nedenle hücre bağlantılarında yer yer açılmalar ve organizasyonda bozulmalar belirlendi.

Mölne ve arkadaşları insanlarda uterus transplantasyonunda kullanılacak solüsyonları araştırmak için deneysel bir çalışma yapmışlardır. İnsan uterusundan elde edilen dokuları RİN, UW ve PER solüsyonlarında 4°C' de 6 ve 24 saat bekletmişler ve iskemik hasarı değerlendirmişlerdir. Histolojik bulgular ışık mikroskopunda değerlendirilmiş ve transmission elektron mikroskopunda incelemeleri yapılmıştır. Işık mikroskopunda 6 ve 24 saatlik gruptaki dokularda histolojik bir fark gözlenmezken, elektron mikroskopunda RIN solüsyonunda bekletilen dokuların endometriyum bez epitel hücrelerinde dejenerasyon olduğunu göstermişlerdir. UW ve PER solüsyonlarında morfolojik olarak dejeneratif değişiklik gözlenmemiştir [113].

Mister, Noris ve arkadaşları böbrek transplantasyonu aşamasında meydana gelebilecek olan iskemi hasarında Propionyl-L-Carnitin'in etkisini incelemişlerdir. Propionyl -L-Carnitin'in, renal fonksiyon bozukluğu, oluşan serbest radikaller ve mitokondride oluşan ATP düzeyindeki etkisine bakılmıştır. Syngenic böbrek transplantasyon modelinde ve ratların isole edilmiş böbrek dokularında renal fonksiyon üzerinde propionyl-l-carnitin'in korucu etkisinin olduğu görülmüştür, propionyl-l-carnitin'in transplantasyon aşamasında doku fonksiyonlarında meydana gelen iskemik hasarı azalttığı gösterilmiştir [114].

Bizim çalışmamızda ise masson trikrom boyamalarla yapılan incelemelerde HTK'ya eklenmiş Acetyl L-Carnitin gruplarında bağ doku dağılımı, fibrozisin artış ya da azalışı yönünden, histomorfolojik olarak değerlendirildi. Yalın HTK solüsyonu kullanılan gruplar arası kıyaslamaları yapıldı.

4 saat HTK+ Acetyl L-carnitin grubundaki uterus dokuları değerlendirildiğinde, doku genelinde bağ doku liflerinin daha seyrek organize olduğu gözlemlendi. Doku genelinde yapının normal olduğu belirlendi. Endometriyum; epitel ve bez içeren lamina propriya ile olağan yapısında izlendi. Miyometriyumu oluşturan kas tabakaları da ince bağ doku bölmeleri ile birbirinden ayrılmış olarak normal görünümde olduğu belirlendi.

24 saat HTK+ Acetyl L-carnitin grubundaki uterus dokuları değerlendirildiğinde de doku genelinde dejenerasyon izlenmedi. Endometriyuma ait epitel normal yapıdaydı. Lamina propriya kollagen lif dağılımı açısından değerlendirildiğinde özellikle derin bölgelerde kollagen liflerin daha yoğun olduğu saptanırken, bu yoğunluğun 24 saat yalın HTK uygulanan gruba göre göreceli olarak daha zayıf olduğu dikkati çekti. Miyometriyumu oluşturan kas doku ise normal yapıda izlendi.

Bu bulgular ışığında lamina propriya bağ doku içeriğinin en iyi 4 saatlik muhafaza ile HTK solüsyonuna eklenen Acetyl L-Carnitin grubunda korunabildiği sonucuna varıldı.

Fibronektin, ekstraselüler matriksin önemli bir bileşenidir. Fibronektin, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks iletişimleri de dahil olmak üzere çeşitli hücresel aktivitelerin anahtar düzenleyicisidir.

Leppi, Furcht ve arkadaşları insan ve rat rahim serviksinde fibronektin lokalizasyonunu belirlemek için immunohistokimyasal boyama yapmışlardır. İmmunperoksidaz boyanma ile fibronektin güçlü bir şekilde boyanmıştır. Servikal epitelin bazal membranında ve bağ doku stromasında tutulum gözlenmiştir. Ayrıca kan damarları duvarlarında ve periferik sinir demetleri etrafındaki bağ dokusunda tutulum gözlenmiştir. Çalışmacılar, uterus serviks duvarının ekstra selüler matriksinde kollagen ve glikozaminoglikanlara ek olarak fibronektin olabileceğini savunmaktadırlar [115].

Grinnel, Head ve arkadaşları gebelik süresince endometriyumda in vivo olarak fibronektin ile hücre şekli arasındaki ilişkiye ve doğumdan sonra fibronektinin uterus katılımına bakmışlardır. Stromal fibroblastlara fibronektin katılımının desidual dönüşüm boyunca hücre şekliyle ilişkisi çalışılmıştır. Östrus endometriyal stromasındaki fibroblastlar elonge hücrelerdir. Gebeliğin 1.- 6. günlerinde bu hücrelerin şekilleri yuvarlaktır. Fibronektin katılımıyla bu hücre şekilleri değişir. Bu değişim fibroblastlar için spesifiktir. Bu çalışmanın diğer bir tarafı da proksimal desidual dokudaki azalan fibronektindir. Desidual doku fonksiyonları trofoblast invazyonuna bir bariyer görevi görür. Desidual matriksteki fibronektin yokluğu trofoblastın matriksten neden hareket etmediğini açıklayabilir. Sonuç olarak uterus lumen kalıntıları fibronektin kaplıdır ve bunlar fagositik hücrelerin bu kalıntıları ortadan kaldırmasında etkilidir. Ayrıca epitel stromal bazal membranla ilişkili fibronektinde reepitelizasyon sürecinde tekrar organize olmaktadır [116].

Biz de çalışmamızda özellikle epitel hücrelerinde sentezlenen ve bazal membranın önemli glikoproteinlerinden olan fibronektin ile yapılan immünohistokimyasal değerlendirmelerde gruplar arası bazal membran yapılarının düzenlenimi göreceli olarak değerlendirdik.

4 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan grupta endometriyum epitel hücreleri ile bez hücreleri ve damar endotel hücrelerinde orta dereceli fibronektin tutulumu izlenirken; 4 saatlik Acetyl L-carnitin eklenmiş grupta ise belirtilen tüm bölgelerde fibronektin tutulumu kuvvetli olarak izlendi. 24 saat HTK solüsyonuna etkin bırakılan uterus dokularında diğer gruplara göre immünreaktivitenin en zayıf olduğu belirlendi. 24 saat HTK + Acetyl L-carnitin solüsyonuna etkin bırakılan

grupta ise epitel ve bez hücrelerinde kuvvetli tutulum izlenirken, damar endotel hücrelerindeki tutulumun aynı solüsyon karışımının 4 saat uygulanan grubuna göre orta dereceli olduğu belirlendi. Bu bulgular ışığında uterus bazal membran yapılarının en iyi 4 saatlik HTK+ Acetyl L-carnitin grubunda korunduğu sonucuna varıldı.



6. SONUÇ

Masson trikrom boyama yöntemi kullanılarak hazırlanan preparatlarda yapılan ışık mikroskopik incelemelerde ve bazal membranın göstergesi olarak yapılan fibronektin immünohistokimyasal boyamalarında, HTK solüsyonunun özellikle uzun süreli uygulamalarında uterus dokusunda lamina propriada ödem ve epitel bazal membran yapılarında bozulmalar şeklinde dejeneratif değişikliklere neden olduğu; uygulanan tüm sürelerde ise fibrotik değişiklikler şeklinde değerlendirilebilecek sıkı bağ doku formasyonunu meydana getirdiği belirlenirken, Acetyl L-carnitin eklenmesinin bu dejenerasyonu engellediği ancak uzun süreli kullanımda minimal de olsa fibrozise neden olabileceği saptandı. Bu bulgu, uzun süreli etkin kalmada düşük fibronektin tutulumuna bağlı olarak yorumlanan denejene damar bazal membranından inflamasyonun tetiklenmiş olabileceği ve fibrozisin buna bağlı gelişmiş olabileceği şeklinde yorumlandı. Sonuç olarak 4 saatlik Acetyl L-carnitin eklenmiş uygulamanın uterus dokusunun normal histolojik yapısının korunmasında en uygun seçenek olabileceği kanısına varıldı.



KAYNAKLAR

1. Fageeh, W., Raffa, H., Jabbad, H., and Marzouki, A. (2002). Transplantation of the human uterus. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 76(3), 245-251.
2. Wranning, C. A., El-Akouri, R. R., Groth, K., Mölne, J., Parra, A. K., and Brännström, M. (2007). Rejection of the transplanted uterus is suppressed by cyclosporine A in a semi-allogeneic mouse model. *Human Reproduction*, 22(2), 372-379.
3. Brannstrom, M., Wranning, C. A., Marcickiewicz, J., Enskog, A., and Hanafy, A. (2007). Uterus transplantation-substantial progress in research but not yet ready for the clinic. *Middle East Fertility Society Journal*, 12(2), 86.
4. Brännström, M., Wranning, C. A., and Altchek, A. (2009). Experimental uterus transplantation. *Human Reproduction Update*, 6(3), 45-329.
5. El-Akouri, R. R., Kurlberg, G., Dindelegan, G., Molne, J., Wallin, A., and Brannstrom, M. (2002). Heterotopic uterine transplantation by vascular anastomosis in the mouse. *Journal of Endocrinology*, 174(2), 157-166.
6. Worku, D., Laluf, S., McGee, J., Goswami, M., VanMeter, K., and Slakey, D. P. (2011). P-selectin expression in cold preserved kidneys in University of Wisconsin and histidine-tryptophan-ketoglutarate solutions. *Journal of Surgical Research*, 169(1), 125-131.
7. Feng, L., Zhao, N., Yao, X., Sun, X., Du, L., Diao, X., and Li, Y. (2007). Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution vs. University of Wisconsin solution for liver transplantation: A systematic review. *Liver Transplantation*, 13(8), 1125-1136.
8. Koca, N, Karadeniz, F. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 32-36.
9. Kozluca O. Serbest Radikaller Ve Kanser, Kartal Eğitim Ve Araştırma Klinikleri.
10. Yalçın, A.S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, 11, 342-46.
11. Mayes PA. Lipids of physiologic significance. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. Harper's Biochemistry. 25th ed. Stamford: Appleton and Lange 2000;160-171.
12. Furlong JH, Altern ND, Acetyl-L-Carnitin: Metabolism and applications in clinical practice Med Rev 1996; 1(2): 85-93.
13. Moore KL, Persaud TVN. (2002). İnsan embriyolojisi. Yıldırım M, Okar Ş, Dalçık H (Çev), 6.Baskıdan Çeviri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri;

14. Sadler T. (2005). *Langman medikal embriyoloji*. Başaklar AC (Çev), 9. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık.
15. Aktümsek A. (2006). *Anatomi ve fizyoloji insan biyolojisi*. 3.Baskı. Ankara: Nobel Kitapevleri.
16. Taşkinalp O. (2003). Kadın genital sistemi. içinde: Gökmen Gövsa F, editör. *Sistematik anatomi*. İzmir: İzmir Güven Kitapevi.
17. Gürel, A. (2007). *Menstrüel siklusta tuba uterina'da epidermal büyüme faktör reseptörlerinin dağılımlarının immünohistokimyasal olarak gösterilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
18. Bartol, F. F., Wiley, A. A., and Bagnell, C. A. (2005). Uterine development and endometrial programming. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 62, 113-130.
19. Deutscher, E., Yao, H. H. C. (2007). Essential roles of mesenchyme-derived beta-catenin in mouse Müllerian duct morphogenesis. *Developmental Biology*, 307(2), 227-236.
20. Snell SR. (1975). *Clinical Embryology for Medical Students*. Little, Brown and Company.
21. Cunningham G F. Gant, F N. , Levono, J.K. , Gilstrap, CL. , Hauth, C J. , Wnstram, D K. (2001). *Williams Obstetrics 21*. Edition, 39-83, Medical Publishing Division, McGraw- Hill Companies, North America.
22. Sancak B, Cumhur M. (1999). *Fonksiyonel anatomi baş, boyun ve iç organlar*. (2. Baskı). Ankara: Odtü Geliştirme Vakfı Yayıncılık.
23. Junqueira, L., Carneiro, J., Kelley R. (1998). *Temel Histoloji*, 433-434,
24. Şefftalioglu, A. (1998). *Genel ve özel insan embriyolojisi*. (3. Baskı). Ankara: Tıp ve Teknik Yayıncılık.
25. Brandes, H., Albes, J. M., Haas, B., and Ziemer, G. (2001). Influence of high molecular dextrans on lung function in an ex vivo porcine lung model. *Journal of Surgical Research*, 101(2), 225-231.
26. Wahlberg, J. A., Southard, J. H., & Belzer, F. O. (1986). Development of a cold storage solution for pancreas preservation. *Cryobiology*, 23(6), 477-482.
27. Kierszenbaum, A.L. (2006). *Histoloji ve hücre biyolojisi: patolojiye giriş*. Demir R. (Çev). Ankara: Palme Yayıncılık.
28. Ross H.M., Kaye G.I., and Pawlina W. (2003). *Histology, A Text and Atlas*. 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.

29. Atasü, T., Şahmay, S. (1996). *Jinekoloji* (1. Baskı), İstanbul: Üiversal Bilimsel Yayınları.
30. Karaöz, E. (2002). *Özel histoloji*. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
31. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2003). *Tıbbi fizyoloji*. (10. Baskı). Solakoğlu Z (Çeviri Editörü). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
32. Attar, E, Ata, B. (2007). *Gomel' in jinekolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
33. Noyan, A. (2008). *Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji*. (17. Baskı). Ankara;
34. Ganong, W.F. (2002). *Tıbbi fizyoloji. Türk fizyolojik bilimler derneği* (Çev). (20. Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
35. Berek, J.S. (2004). *Novak jinekoloji*. (13. Baskı). Erk A (Çeviri Editörü). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
36. Ganong, W.F. (1995). *Tıbbi fizyoloji. Türk fizyolojik bilimler derneği* (Çev). (17. Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
37. Turhan, F. (2007). *Menstrüal döngüde sıçan uterus yapısındaki elektron mikroskopik değişiklikler*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
38. Aydın, H. (2010). *Meme tümörü oluşturulmuş sıçanlarda kemoterapi uygulamasının tuba uterina ve uterus dokuları üzerine etkisi ve çeşitli antioksidanların koruyucu rollerinin yapısal ve immünohistokimyasal düzeyde belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
39. Wranning CA, Marcickiewicz J, Enskog A, Dahm-Kähler P, Hanafy A, Brännström M. (2010). Fertility after autologous ovine uterine-tubal varian transplantation by vascular anastomosis to the external iliac vessels. *Hum Reprod*, 25(8), 9-1973.
40. Long J.A., Evans H.M. (1922). The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. *Memorial UniversityCalifornia.*, 6(1), 148.
41. Aslaner, A. (2008). Karnitinin böbrek soğuk iskemi hasarında koruyucu etkisi. Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi, Düzce.
42. Hanafy, A., DIAZ-GARCIA, C., Olausson, M., and Brännström, M. (2011). Uterine transplantation: one human case followed by a decade of experimental research in animal models. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 51(3), 199-203.
43. Hamilton, D. (1994) *Kidney Transplantation History*. Morris PJ, ed. Kidney Transplantation . 4th edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company,

44. Eraslan, S., Hamernik, R.J., and Hardy, J.D. (1966). Replantation of uterus and ovaries in dogs, with successful pregnancy. *Archives of Surgery*, 92(1), 9-12.
45. Barun, S, Özat, M, Göngör, T, Demiroğulları, B, Sökmensüer, LK, Aksakal, FN, Erçin, U, Gülbahar, Ö, ve Müftüoğlu, S. (2011). The use of a prostacyclin analog, iloprost, as an adjunct to uterus preservation with histidin-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution. *Transplant Proc* 43(5), 1998-2003.
46. El-Akouri, R. R., Wranning, C. A., Mölne, J., Kurlberg, G., and Brännström, M. (2003). Pregnancy in transplanted mouse uterus after long-term cold ischaemic preservation. *Human Reproduction*, 18(10), 2024-2030.
47. Yalın, A, Keskinöz, E.N, Kızaran, A. (2011). Organ korunması. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık bilimleri Dergisi*, (2) 1.
48. Siemionow, M., Arslan, E. (2004). Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*, 24, 468- 75.
49. Kayyali, U. S., Donaldson, C., Huang, H., Abdelnour, R., and Hassoun, P. M. (2001). Phosphorylation of xanthine dehydrogenase/oxidase in hypoxia. *Journal of Biological Chemistry*, 276(17), 14359-14365.
50. Wiezorek, J. S., Brown, D. H., Kupperman, D. E., and Brass, C. A. (1994). Rapid conversion to high xanthine oxidase activity in viable Kupffer cells during hypoxia. *Journal of Clinical Investigation*, 94(6), 2224.
51. Eren, E, Kýrali, K, Güler, M, ve Yakut, C. (2004). Kalp transplantasyonunda verici kalp prezervasyonu. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahi Dergisi*, 12, 145-150.
52. Vainio, S., Heikkila, M., Andreas, K., Chin, N., and McMahon, A.P. (1998). Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature*, 397, 405-409.
53. Belzer, F. O., Southard, J. H. (1988). Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation*, 45(4), 673-676.
54. Starzl, T. E. (2000). History of clinical transplantation. *World Journal of Surgery*, 24(7), 759-782.
55. Yeğinsu A. Ergin M. Özyurt H. Elmas Ç. Göktaş GÇ. Organ Koruma Sıvısı Hazırlamak İçin Basit Bir Yöntem. *Türkiye Klinikleri J Med SCI* 2009; 29(1): 57-63.
56. Chen F, Nakamura T, Wada H. Development of new organ preservation solutions in Kyoto University. *Yonsei Med J* 2004; 45(6): 14 -1107.

57. Brandes H, Albes JM, Haas B, Ziemer G. Influence of high molecular dextrans on lung function in an ex vivo porcine lung model. *J Surg Res* 2001; 101(2): 31-225.
58. Wahlberg, J. A., Southard, J. H., and Belzer, F. O. (1986). Development of a cold storage solution for pancreas preservation. *Cryobiology*, 23(6), 477-482.
59. Mangus, R. S., Tector, A. J., Agarwal, A., Vianna, R., Murdock, P., and Fridell, J. A. (2006). Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution (HTK) and University of Wisconsin solution (UW) in adult liver transplantation. *Liver transplantation*, 12(2), 226-230.
60. Falasca, L., Tisone, G., Palmieri, G., Anselmo, A., Di Paolo, D., Baiocchi, L., and Angelico, M. (2001). Protective role of tauroursodeoxycholate during harvesting and cold storage of human liver: A Pilot Study in Transplant Recipients1. *Transplantation*, 71(9), 1268-1276.
61. Bessems, M., Doorschodt, B. M., Albers, P. S., Meijer, A. J., and Van Gulik, T. M. (2006). Wash-out of the non-heart-beating donor liver: a matter of flush solution and temperature?. *Liver International*, 26(7), 880-888.
62. Ballegeer, V., Spitz, B., Kieckens, L., Moreau, H., Van Assche, A., and Collen, D. (1989). Predictive value of increased plasma levels of fibronectin in gestational hypertension. *American journal of obstetrics and gynecology*, 161(2), 432-436.
63. Brubaker, D. B., Ross, M. G., & Marinoff, D. (1992). The function of elevated plasma fibronectin in preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*, 166(2), 526-531.
64. Hynes RO: Fibronectins. *Sci Am* 254: 42-51, 1986.
65. Pussell, B. A., Peake, P. W., Brown, M. A., and Charlesworth, J. A. (1985). Human fibronectin metabolism. *Journal of Clinical Investigation*, 76(1), 143.
66. Cheng, C. Y., Martin, D. E., Leggett, C. G., Reece, M. C., and Reese, A. C. (1988). Fibronectin enhances healing of excised wounds in rats. *Archives of dermatology*, 124(2), 221-225.
67. Repesh, L. A., Fitzgerald, T. J., and Furcht, L. T. (1982). Fibronectin involvement in granulation tissue and wound healing in rabbits. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 30(4), 351-358.
68. Sakai, T., Johnson, K. J., Murozono, M., Sakai, K., Magnuson, M. A., Wieloch, T., and Fässler, R. (2001). Plasma fibronectin supports neuronal survival and reduces brain injury following transient focal cerebral ischemia but is not essential for skin-wound healing and hemostasis. *Nature Medicine*, 7(3), 324-330.
69. Baluna, R., Sausville, E. A., Stone, M. J., Stetler-Stevenson, M. A., Uhr, J. W., and Vitetta, E. S. (1996). Decreases in levels of serum fibronectin

- predict the severity of vascular leak syndrome in patients treated with ricin A chain-containing immunotoxins. *Clinical Cancer Research*, 2(10), 1705-1712.
70. Cohler, L. F., Saba, T. M., Lewis, E. D. W. A. R. D., Vincent, P. A., and Charash, W. E. (1987). Plasma fibronectin therapy and lung protein clearance with bacteremia after surgery. *Journal of Applied Physiology*, 63(2), 623-633.
 71. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. (1995). *Temel patoloji*. Çevikbaş U (Çev.) 5. Baskı. İstanbul: Nobel ve Yüce.
 72. DELABAR, J. M., NICOLE, A., JACOB, Y., SINET, P. M., JÉRÔME, H., D'AURIOL, L., and MEUNIER-ROTIVAL, M. (1987). Cloning and sequencing of a rat CuZn superoxide dismutase cDNA. *European Journal of Biochemistry*, 166(1), 181-187.
 73. Slater, T. F. (1988). Free radical mechanisms in tissue injury. In *Cell Function and Disease* (pp. 209-218). Springer US.
 74. Akkuş İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza Yayınları.
 75. Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emami, B., Fooladian, F., and Zafari, K. (2003). Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(3), 331-336.
 76. Agarwal, A., Gupta, S., and Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*, 3(1), 28.
 77. Gümüştas MK, Atukeren P. (2008, Mart). Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. *Sempozyum Dizisi* (62), 329-340.
 78. Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları.
 79. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE (1992) Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 119(6), 598-620 165.
 80. Serafini M, Del Rio D (2004) Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool. *Redox Report* 9(3), 145-152.
 81. Uysal M. (1998). Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmadaki prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*. 11, 336-41.

82. Agrawal, A., Kale, R. K. (2001). Radiation induced peroxidative damage: mechanism and significance. *Indian Journal Experimental Biology*, 39, 291.
83. Kurt N. (2008). *Yaşa bağlı olarak antioksidan enzimlerinin süperoksit dismütaz, katalaz aktivitelerinin ve malondialdehit seviyesinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
84. Cabadak H. Hücre Siklusu ve Kanser. ADÜ Tıp Fak Der 2008; 9 (3): 51-61.
85. Ahmad S. L-carnitin in dialysis patients. *Semin Dial* 2000; 14: 209- 217.
86. Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis Akdeniz Üniversitesi Tıp
87. Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD derleme Delibaş N, Özçankaya R. (1995). Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2(3),11-17.
88. Çetinkaya A. (2009). Ratlarda N-asetil sistein ve L-Karnitin'in karbon tetraklorür ile oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.
89. Odabaşı, D. (2006). *L-karnitin'in rat aortik iskemi-reperfüzyon modelinde akciğer ve endotel hasarı üzerine etkisi*. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
90. Stephens, F. B., Constantin-Teodosiu, D., and Greenhaff, P. L. (2007). New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 581(2), 431-444.
91. Matera, M., Bellinghieri, G., Costantino, G., Santoro, D., Calvani, M., and Savica, V. (2003). History of L-carnitine: implications for renal disease. *Journal of Renal Nutrition*, 13(1), 2-14.
92. Arslan A. (2010). *Diyabetik sıçanlarda karnitinin yara iyileşmesi ve flep yaşayabilirliğine etkisi: Deneysel çalışma*. Uzmanlık tezi. Karaelmas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
93. Gülçin, I. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid. *Toxicology*, 217, 213-220.
94. Llansola, M., Erceg, S., Hernández-Viadel, M., & Felipo, V. (2002). Prevention of ammonia and glutamate neurotoxicity by carnitine: molecular mechanisms. *Metabolic Brain Disease*, 17(4), 389-397.
95. Monograph. (2005). L-carnitin. *Alternative Medicine Review*, 10, 42-50.
96. Cetinkaya, A., Bulbuloglu, E., Kantarceken, B., Ciralik, H., Kurutas, E. B., Buyukbese, M. A., and Gumusalan, Y. (2006). Effects of L-carnitine on oxidant/antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 51(3), 488-494.

97. Calvani, M., Benatti, P., Mancinelli, A., D'iddio, S., Giordano, V., Koverech, A., and Brass, E. P. (2004). Carnitine Replacement in End-Stage Renal Disease and Hemodialysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1033(1), 52-66.
98. Kalaiselvi T. and Panneerselvam, C. (1998). Effect of L-carnitin on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 9, 575-581.
99. Koeck T. and Kremser K, (2003). L-carnitin alters nitric oxide synthase activity in fibroblasts depending on the peroximal status. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 35(2),149-156.
100. Calabrese, V., Stella, A. M. G., Calvani, M., and Butterfield, D. A. (2006). Acetylcarnitine and cellular stress response: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(2), 73-88.
101. Brännström, M., Diaz-Garcia, C., Hanafy, A., Olausson, M., and Tzakis, A. (2012). Uterus transplantation: animal research and human possibilities. *Fertility and Sterility*, 97(6), 1269-1276.
102. Enskog, A., Johannesson, L., Chai, D.C., Dahm-Kähler, P., Marcickiewicz, J., Nyachio A., Mwenda J.M., and Brännströmi M. (2010). Uterus transplantation in the baboon: methodology and longtermfunction after auto transplantation. *Hum Reprod*, 25(8), 7-1980.
103. Saravelos, S. H., Cocksedge, K. A., and Li, T. C. (2008). Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: a critical appraisal. *Human Reproduction Update*, 14(5), 415-429.
104. Kisu, I., Mihara, M., Banno, K., Hara, H., Yamamoto, T., Araki, J., and Aoki, D. (2012). A new surgical technique of uterine auto-transplantation in cynomolgus monkey: preliminary report about two cases. *Archives of gynecology and obstetrics*, 285(1), 129-137.
105. Haberal, M., Emiroğlu, R. (2005). *Karaciğer transplantasyonu, temel ve sistematik cerrahi* (Gulay H), (1. Basım). İzmir: Güven Kitapevi.
106. Belzer, F. O., Southard, J. H. (1988). Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation*, 45(4), 673-676.
107. Clavien, P. A., Harvey, P. R., and Strasberg, S. M. (1992). Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation*, 53(5), 957–978.
108. Minor, T., Akbar, S., and Tolba, R. (2000). Value of α glutathione S-transferase for in vitro evaluation of preservation injury in normal and steatotic livers. *Transplant International*, 13(S1), 4-551.

109. Mutomba, M. C., Yuan, H., Konyavko, M., Adachi, S., Yokoyama, C. B., Esser, V., and Gottlieb, R. A. (2000). Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylcarnitine. *Febs Letters*, 478(1-2), 19-25.
110. Önal, A., Astarcioglu, H., Örmən, M., Atila, K., ve Sarıoğlu, S. (2004). Sıçandaki renal iskemireperfüzyon Hasarında L-Karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travma Dergisi* 10(3),160-167.
111. Loganathan, S., Radovits, T., Hirschberg, K., Korkmaz, S., Koch, A., Karck, M., and Szabó, G. (2010). Effects of Custodiol-N, a novel organ preservation solution, on ischemia/reperfusion injury. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 139(4), 1048-1056.
112. Simões, E. A., Cardoso, P. F. G., Pêgo-Fernandes, P. M., Canzian, M., Pazetti, R., Braga, K. A. D. O., and Jatene, F. B. (2012). An experimental rat model of ex vivo lung perfusion for the assessment of lungs regarding histopathological findings and apoptosis: low-potassium dextran vs. histidine-tryptophan-ketoglutarate. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 38(4), 461-469.
113. Wranning, C. A., Mölne, J., El-Akouri, R. R., Kurlberg, G., and Brännström, M. (2005). Short-term ischaemic storage of human uterine myometrium—basic studies towards uterine transplantation. *Human Reproduction*, 20(10), 2736-2744.
114. Mister, M., Noris, M., Szymczuk, J., Azzollini, N., Aiello, S., Abbate, M., and Remuzzi, G. (2002). Propionyl-L-carnitine prevents renal function deterioration due to ischemia/reperfusion. *Kidney International*, 61(3), 1064-1078.
115. Leppi, T. J., Repesh, L. A., Furcht, L. T., Bartzen, P. J., and Holt, G. E. (1982). Immunohistochemical localization of fibronectin in human and rat uterine cervixes. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 30(5), 413-417.
116. Grinnell, F., Head, J. R., and Hoffpauir, J. (1982). Fibronectin and cell shape in vivo: studies on the endometrium during pregnancy. *Journal Cell Biol*, 94(3), 597-606.





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, Doğru Doğru

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile Gazi Üniversitesi
Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve
Deneyisel 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.


Prof. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER
Rektör


Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN
Merkez Müdürü


Prof. Dr. Leyla AÇIK
Etik Kurul Başkanı

Sertifika No. 2012/12-38

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,
Seçer DOĞRU
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 : DOĞRU, Doğa
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : Rize, 1989
Medeni hali : -
Telefon : 0554 724 54 89
e-mail : dogadogru@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2012
Lise	Çankaya Milli piyango Anadolu Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
.....		

Yabancı Dil

.....

Yayınlar

.....

Hobiler

.....



GAZİ GELECEKTİR..

