

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı**

**SIÇAN OVERİNDEKİ İSKEMİ-REPERFÜZYON  
HASARINDA YABAN MERSİNİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

**Hazırlayan  
Özlem KARA**

**Danışman  
Prof. Dr. Birkan YAKAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Kasım 2016  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı**

**SIÇAN OVERİNDEKİ İSKEMİ-REPERFÜZYON  
HASARINDA YABAN MERSİNİNİN KORUYUCU ETKİSİ  
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Özlem KARA**

**Danışman  
Prof.Dr. Birkan YAKAN**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
Tarafından TYL-6251 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Kasım 2016  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Özlem KARA

İmza:

## **YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

**“Sıçan overindeki iskemi-reperfüzyon hasarında yaban mersininin koruyucu etkisi”** adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Tezi Hazırlayan**

Özlem KARA

**Danışman**

Prof.Dr. Birkan YAKAN

**Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Prof.Dr. Birkan YAKAN

**Prof. Dr. Birkan YAKAN** danışmanlığında **Özlem KARA** tarafından hazırlanan ‘**Sıçan overindeki iskemi-reperfüzyon hasarında yaban mersininin koruyucu etkisi**’ adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji-Embriyoloji** Anabilim Dalı **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../2016

### JÜRİ

### İmza

Danışman: Prof. Dr. Birkan YAKAN (Erciyes Ü. Histoloji-Embriyoloji AD)

Üye : Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR ... (Erciyes Ü. Histoloji-Embriyoloji AD)

Üye : Doç. Dr. E. Oğuzhan OĞUZ (Pamukkale Ü. Histoloji-Embriyoloji AD)

:

### ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ...../...../..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2016

**Enstitü Müdürü**

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde ve lisansüstü eğitimim süresince benden hiçbir zaman yardımlarını, desteğini ve tecrübelerini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Birkan YAKAN'a ve bana yol gösteren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR, Doç. Dr. Arzu YAY ve Uzm. Dr. Esra BALCIOĞLU'na en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın deneysel bölümünde yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Mustafa KARA'ya, arkadaşlarım Emin, Hande, Betül, Betül, Ayşe, Pınar, Gözde ve Özge'ye, DEKAM'dan Veteriner Hekim Sn. Zeynep Hanım'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her anında karşılıksız sevgilerini, maddi-manevi desteklerini benden esirgemeyen, varlıklarıyla ve davranışlarıyla her zaman gurur duyduğum sevgili eşim Mustafa KARA, çocuklarım Elif ve Ali KARA'ya bana her zaman özel olduğumu hissettirdikleri için teşekkür ederim. Her an, her koşulda yanımda oldukları için ve bana hayata pozitif bakmayı öğrettikleri için onlara en içten sevgi ve saygılarımı sunuyorum ve bu tezimi sevgili aileme hediye ediyorum.

**Özlem KARA**

## SIÇAN OVERİNDEKİ İSKEMİ-REPERFÜZON HASARINDA YABAN MERSİNİNİN KORUYUCU ETKİSİ

**Özlem KARA**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2016**

**Danışman: Prof. Dr. Birkan YAKAN**

### ÖZET

**Amaç:** İskemi sonrasında meydana gelen doku ve organ reperfüzyon zararı, iskemi reperfüzyon (İ-R) hasarı olarak adlandırılmaktadır. Yaban mersininin ovaryan İ-R hasarı üzerindeki koruyucu etkisini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada sıçan ovaryumundaki iskemi-reperfüzyon hasarında yaban mersininin koruyucu etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** Toplam 48 adet Wistar-Albino cinsi dişi sıçan kullanılarak 5 grup oluşturuldu: Grup 1'e (Kontrol grubu) (n=8) ilaç verilmedi ya da herhangi bir işlem yapılmadı. Grup 2'ye (Yaban mersini kontrol grubu) (n=10) gavaj yoluyla tek doz 200 mg/kg yaban mersini verildi ve herhangi bir işlem yapılmadı. Grup 3 (İ-R grubu) (n=10): Herhangi bir ilaç verilmedi, 1 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı. Grup 4 (İ-R öncesi yaban mersini grubu) (n=10): İskemiden 2 saat önce gavaj yoluyla tek doz 200 mg/kg yaban mersini verildi. Daha sonra 1 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı. Grup 5 (İ-R sonrası yaban mersini grubu) (n=10): Önce 1 saat iskemi yapıldı. Gavaj yoluyla tek doz 200 mg/kg yaban mersini verildi ve sonra 2 saatlik reperfüzyon uygulandı. Bütün gruplarda sağ ovaryum dokusu cerrahi olarak çıkarıldı. Ovaryum doku örneklerinde ve kanda malondialdehit (MDA) düzeyleri ve superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri çalışıldı. Ovaryum doku örneklerinde TUNEL yöntemi kullanılarak DNA hasarı ve apoptozis değerlendirildi. Işık mikroskobu bulgularına göre histopatolojik değerlendirme yapıldı.

**Bulgular:** Grup 3 diğer gruplarla karşılaştırıldığında ovaryum dokusunda ve kanda MDA düzeyleri anlamlı şekilde daha yüksek, SOD ve CAT enzim aktiviteleri ise anlamlı şekilde daha düşük olarak bulundu ( $p<0.05$ ). Histopatolojik incelemede, ovaryum dokusundaki hasar grup 5'te diğer gruplara göre anlamlı şekilde daha yüksekti

( $p<0.05$ ). Aynı şekilde grup 3'te diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde daha yüksek DNA hasarı ve apoptozis saptandı ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Özellikle İ-R öncesinde yaban mersini verilen grupta (grup 4) biyokimyasal bulgular daha hafif ve histopatolojik hasar daha az olarak gözlenmiştir. Sonuç olarak, yaban mersini ovaryum İ-R hasarının önlenmesi ve kısa süreli tedavisinde etkili gibi görünmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yaban mersini, iskemi-reperfuzon, over, sıçan



## PROTECTIVE EFFECT OF BILBERRY ON ISCHEMIA- REPERFUSION INJURY IN RAT OVARY

Özlem KARA

Erciyes University, Institute of Medical Sciences

Department of Histology and Embriyology

MSc Thesis, November 2016

Supervisor: Prof. Dr. Birkan YAKAN

### ABSTRACT

**Objective:** Tissue and organ reperfusion damage that occurs after ischemia is called ischemia reperfusion (I-R) injury. There is no study demonstrating the protective effect of bilberry on ovarian IR injury. Therefore, it is aimed to evaluate the protective effect of bilberry on IR injury in rat ovary.

**Materials and methods:** A total 48 female Wistar–Albino rats were utilized to form five groups: Group 1 (control group)(n=8), neither drug was given was performed and nor procedure was performed. Group 2 (bilberry control group)(n=10), single dose 200 mg/kg bilberry was administered by gavage and no procedure was performed. Group 3 (I-R group)(n=10), no drug was given, 1-h ischemia and 2-h reperfusion was performed. Group 4 (bilberry before I-R group)(n=10), single dose 200 mg/kg bilberry was administered by gavage before ischemia. Then 1-h ischemia and 2-h reperfusion was performed. Group 5 (bilberry after I-R group)(n=10), first 1-h ischemia was performed. Single dose 200 mg/kg bilberry was administered by gavage and then 2-h reperfusion was performed. Right ovaries were surgically extirpated in all groups. In ovarian tissue samples, malondialdehyde (MDA) levels and enzymatic activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) were studied. In ovarian tissue samples, DNA damage and apoptosis were assessed by using TUNEL method. Histopathologic examination was performed by light microscopic findings.

**Results:** When group 3 was compared with another groups, MDA levels were significantly higher, enzymatic activities of SOD and CAT were found to be as significantly lower in ovarian tissue and blood ( $p<0.05$ ). In histopathologic examination, ovarian tissue damage in the group 5 were significantly higher than other groups ( $p<0.05$ ). Also, DNA damage and apoptosis were significantly higher in group3 than than other groups ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Biochemical findings were lower and histopathologic damage was less especially in bilberry before I-R group (group 4). In conclusion, bilberry seems to be effective in prevention of ovarian I-R and short-term treatment.

**Keywords:** Bilberry, ischemia- reperfusion, ovary, rat



## İÇİNDEKİLER

<b>BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK</b> .....	<b>ii</b>
<b>YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI</b> .....	<b>iii</b>
<b>ONAY</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>x</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Ovaryum.....	3
2.1.1. Ovaryum anatomisi.....	3
2.1.2. Ovaryum embriyolojisi.....	4
2.1.3. Ovaryum histolojisi .....	5
2.2. İskemi ve reperfüzyon .....	6
2.2.1. İskemi .....	6
2.2.2. Reperfüzyon.....	7
2.2.3.Ovaryumda iskemi- reperfüzyon .....	8
2.3. Serbest radikaller .....	8
2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri .....	9
2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin hücre hasarındaki rolü .....	9
2.3.3. Lipid peroksidasyonu ve Malondialdehit .....	10
2.4. Antioksidanlar .....	11
2.4.1. Oksidatif stres ve antioksidanlar.....	11
2.5. Yaban mersini.....	12
2.5.1. Yaban mersininin antioksidan etkileri .....	13

<b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>14</b>
3.1. Deneysel çalışma.....	14
3.2. Işık mikroskobu incelemeleri .....	16
3.2.1. Doku takibi .....	16
3.2.2. Hematoksilen & Eozin boyama.....	17
3.2.3. Histopatolojik analiz.....	18
3.3. TUNEL.....	18
3.4. Biyokimyasal analizler .....	19
3.4.1. Malondialdehit (MDA) düzey tayini .....	19
3.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini .....	19
3.4.3. Katalaz (CAT) aktivite tayini .....	19
3.5. İstatistiksel Analiz.....	19
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>200</b>
4.1. Histolojik bulgular.....	20
4.2. İmmünohistokimyasal bulgular .....	27
4.3. Biyokimyasal bulgular .....	32
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>34</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>38</b>
EK 1. ETİK KURUL KARARI .....	45
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>46</b>

## KISALTMALAR

<b>ROS</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>ETZ</b>	: Elektron Transport Zinciri
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>4-HNE</b>	: 4-hidroksinonenal
<b>LOOH</b>	: Lipid hidroperoksitleri
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>OMİ</b>	: Oosit Olgunlaşma İnhibitörü
<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer lökositler
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>DAPI</b>	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
<b>DEKAM</b>	: Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi
<b>TUNEL</b>	: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated Deoxyuridine Triphosphate DNA Nick-End Labelling
<b>EPO</b>	: Eritropoetin

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1.	Dişi üreme sistemi.....	3
Şekil 2. 2.	Dişi ratlarda üreme sistemi.....	4
Şekil 2. 3.	Ovaryumun histolojik yapısı.....	5
Şekil 2. 4.	İskemideki serbest radikal mekanizması.....	7
Şekil 4. 1.	Kontrol grubuna (Grup 1) ait ovarium dokusu. Hematoksilen & Eozin boyama x 20 (1).....	22
Şekil 4. 2.	Kontrol grubuna (Grup 1) ait ovarium dokusunda Hematoksilen & Eozin boyama x 20 büyütme (2).....	23
Şekil 4. 3.	Yaban mersini Kontrol grubuna (Grup 2) ait ovarium dokusu. Hematoksilen & Eozin x 20 .....	24
Şekil 4. 4.	1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan Grup 3' te Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji( ↓ ) ve ödem ( * ) x 20 .....	25
Şekil 4. 5.	İskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta ( Grup 4) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji odakları (↓) x20.....	26
Şekil 4. 6.	1 saat iskemi ve iskemiden sonra 200 mg/kg yaban mersini verilip 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta ( Grup 5) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji odakları (↓) x20.....	27
Şekil 4. 7.	Kontrol grubu ( Grup 1) apoptotik hücreler ( ↓ ) TUNEL x20. ....	28
Şekil 4. 8.	Yaban mersini Kontrol grubu (Grup 2) apoptotik hücreler ( ↓ ) TUNEL x20.....	29
Şekil 4. 9.	1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 3) apoptotik hücreler ( ↓ ) TUNEL x20.....	30
Şekil 4. 10.	İskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 4) apoptotik hücreler (↓)TUNEL x20 .....	31
Şekil 4. 11.	1 saat iskemi ve iskemiden sonra 200 mg/kg yaban mersini verilip 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup ( Grup 5) apoptotik hücreler ( ↓ ) TUNEL x20.....	32

## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2. 1. 100 gram yaban mersini meyvesinin içeriği .....	12
Tablo 3. 1. Doku takip yöntemi .....	16
Tablo 3. 2. Hematoksilen Eozin boyama yöntemi.....	17
Tablo 4. 1. Ovaryumun histolojik hasarı için kullanılan skorlama tablosu .....	21
Tablo 4. 2. Histolojik hasarın gruplara göre dağılımı.....	21
Tablo 4. 3. Grupların doku örneklerinde ortalama süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA), katalaz (CAT) ölçümleri.....	33
Tablo 4. 4. Grupların serum örneklerinde ortalama süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA), katalaz (CAT) ölçümleri .....	33

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ovaryum torsiyonu, % 2.7 insidans ile jinekolojik aciller içinde beşinci sırada yer almaktadır (1). İskemi sonrasında meydana gelen doku ve organ reperfüzyonunun, dokulardaki ve organlardaki hasarı artırması iskemik reperfüzyon hasarı olarak adlandırılmaktadır (2). Ovaryum torsiyonunda ani başlayan şiddetli karın ağrısı en tipik belirtidir. Bulgular ve semptomların sadece ovaryum torsiyonuna özgü olmaması tanıya gecikmesine ve istenmeyen ciddi sonuçlara neden olabilir. Genellikle ovaryan kist, ovaryan kitle ya da polikistik ovaryum sendromu gibi başka nedenlere bağlı olarak büyümüş olan yumurtalıklarda ortaya çıkar. Tüplerin aşırı uzun olması gibi doğuştan gelen bazı nedenler de torsiyona yol açabilmektedir. Ovaryum torsiyonu daha çok sağda görülür ve tek taraflıdır. Yumurtalıklar ovaryan arter ve uterin arterin ovaryan dalı olmak üzere iki farklı damar tarafından beslenirler. Bu yüzden bu damarlanmanın iskemik-reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde etkisi vardır. Çünkü yumurtalıkların kanlanması kısmen de olsa uterin arterin ovaryan dalı tarafından devam eder (3, 4).

Fertilizasyonun korunmasında erken tanı ve tedavi önemli rol oynamaktadır. Torsiyon erken dönemde fark edilirse, cerrahi müdahale ile kalıcı hasar önlenir. Bununla birlikte, ihmal edilmiş ya da geç kalınmış olgularda kan akımı uzun süre kesildiği için ovaryum dokusunda nekroz meydana gelir. Bu durumda torsiyona uğramış ovaryumun cerrahi olarak alınmasını gerektirmektedir. Bu da ilerleyen dönemde hem fertilizasyonu hem de menopoza yaşını olumsuz yönde etkilemektedir. Erken tedavide, torsiyona uğramış segmentin detorsiyone edilmesi ile ovaryumların reperfüzyonuna bağlı lokal ve sistemik etkiler meydana gelmektedir. Detorsiyon işlemi ile birlikte iskemik dokuların oksijenlenmesi reaktif oksijen moleküllerinin üretilmesine neden olmaktadır. Torsiyon sonucu hasarlanan dokunun reperfüzyonuna bağlı olarak aktive olmuş nötrofiller ile hidroksil radikalleri, superoksit anyonu, hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikalleri (ROS) salınmaktadır. Salınan ROS'ların hücre membranındaki çoklu doymamış yağ

asitlerini parçalayarak nekroz ve apoptoz yolu ile hücrel hasara neden olduğu bilinmektedir (5, 6).

Torsiyon sonucu oluşan hasarın önlenmesi ya da azaltılması için yapılan birçok deneysel çalışmada edaravon, vardenafil, eritropoetin, E ve C vitamini gibi antioksidan özellik gösteren birçok kimyasal madde kullanılmıştır (7-10).

Latince adı *Vaccinium bilberry* olan yaban mersini, ülkemizde likapa olarak da bilinen çiçekli bir bitkidir. Besin değeri yüksek bir meyve olan yaban mersini, yapısındaki antosiyanin, flavonoid ve polifenol gibi bileşikler sayesinde güçlü bir antioksidan özelliğe sahiptir (11, 12). Beyin iskemi-reperfüzyon hasarı, kalp iskemi-reperfüzyon hasarı, intestinal iskemi-reperfüzyon hasarı gibi yapılmış deneysel çalışmalarda antioksidan etkisi nedeniyle yaban mersini, ROS oluşumunu engelleyerek ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek etkisini göstermiştir (13-15).

Birçok iskemi-reperfüzyon hasarında kullanılan yaban mersininin ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu etkisini gösteren herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir.

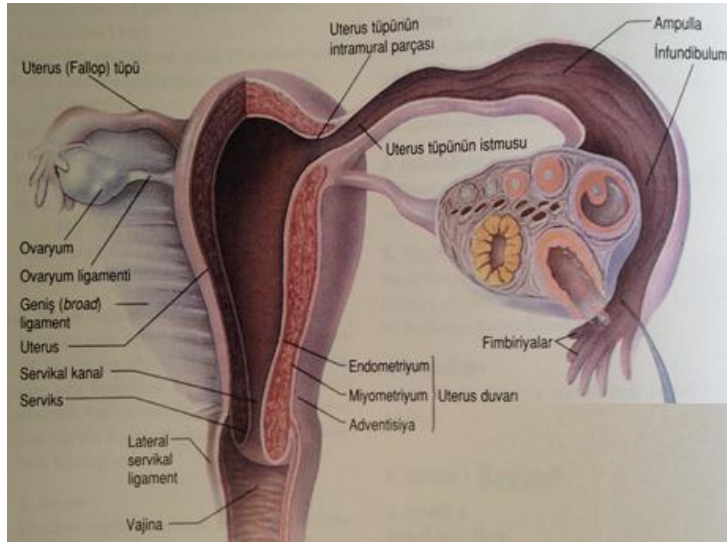
Çalışmamızın amacı, sıçan ovaryumunda oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarında yaban mersininin koruyucu etkinliğini araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ovaryum

#### 2.1.1. Ovaryum anatomisi

Dişi hayvanlarda bulunan ovaryum, uterusun her iki yanında yerleşmiş bir çift iç genital organdır. Beyaz ya da grimtrak renkteki ovaryumun ağırlığı, canlının yaşına, fizyolojik durumuna göre değişkenlik göstermektedir ve yaklaşık 5-8 gr ağırlıktadır. Uterusun her iki yanında lateral pelvik duvara yakın bir şekilde yer alırlar. Her iki Ovaryum iki katlı periton kıvrımıyla (mezovaryum) broad ligamanının arka yüzüne asılıdır (16), (Şekil 2.1).

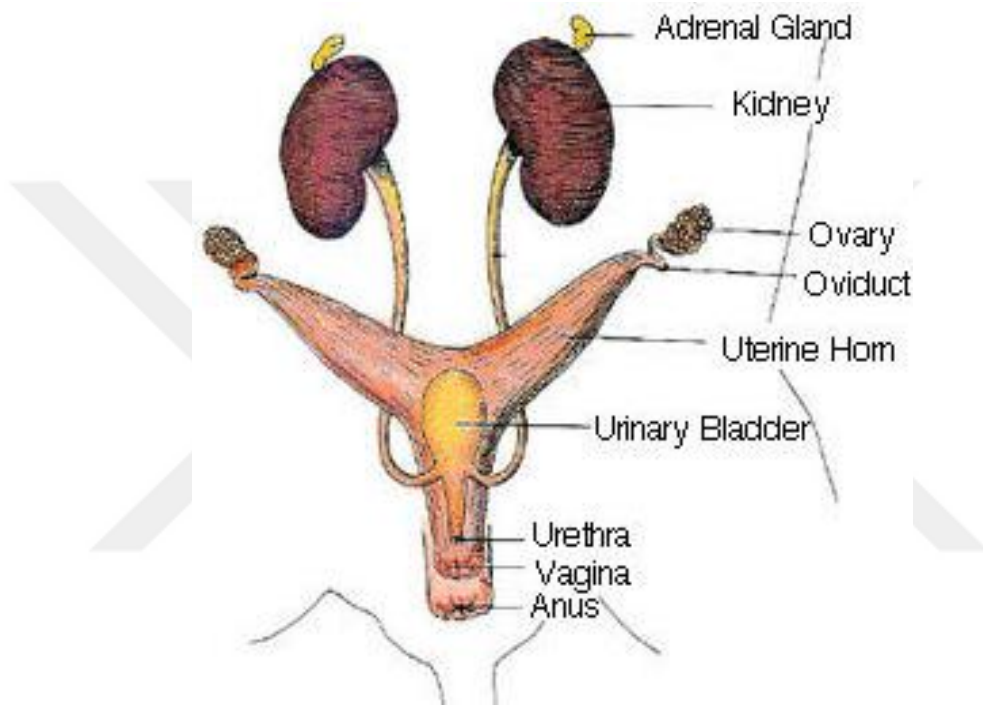


Şekil 2. 1. Dişi üreme sistemi (17).

Yetişkin sıçanlarda foliküllerle dolu bir yapıda olan ovaryum, böbreklerin kranial kısmında yer alırlar. Dorsal vücut duvarına mezovaryum ligamentleri ile asılı olan ovaryumlar, helezonik yapıdaki ovidukt ile bikornual yapıdaki uterusu bağlanırlar. Her

bir ovaryum kendisini abdominal kaviteden ayıran bir kapsül tarafından çevrenmiştir. Ovaryum medulla ve korteks olmak üzere sınırları kesin olmayan iki tabakadan oluşmuştur.

Her ovulasyon sonrasında yumurtanın yerinde korpus luteumun oluşması bütün hayvanlarda ovaryumun kabartılı görünümüne neden olur (18,19), (Şekil 2. 2).



Şekil 2. 2. Dişi sıçanlarda üreme sistemi (20).

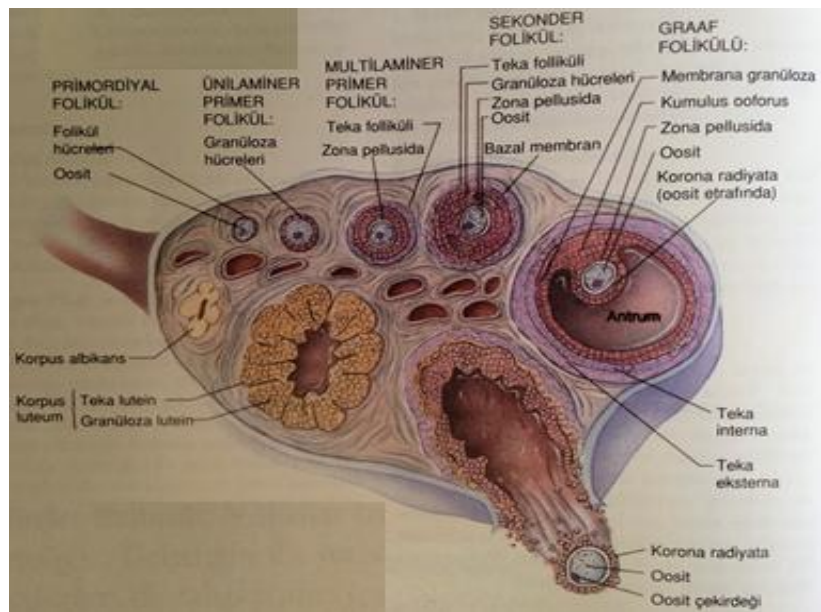
### 2.1.2. Ovaryum embriyolojisi

Oogenez, primitif germ hücrelerinin (oogonia) olgun oositlere dönüşmesi sırasında gerçekleşen olaylar dizisidir. Doğum öncesi dönemde başlayan bu süreç, pubertede tamamlanır ve menopoza kadar devam eder (21). Vitellus kesesi duvarından köken alan primitif germ hücreleri, erken fetal dönemde çoğalarak gelişmekte olan gonadlara doğru ameboid hareketlerle göç ederler. Oogoniumlar ovaryumlara ulaşarak mitoz bölünme ile çoğalırlar ve primer oositleri oluşturmak üzere büyürler. Primer oositler, ovaryum stromal hücreleri ile çevrilirler ve kortekste tek sıralı epitel hücreleri ile çevrenmiş primordial folikülleri oluştururlar. Her iki ovaryumda yaklaşık 500 bin primordial folikül içinde primer oosit, 1.mayoz bölünmenin profaz aşamasına girer ve diktiat fazda

bekler. Primer oositi çevreleyen folliküler hücrelerin oosit olgunlaşma inhibitörü (OMİ) salgılayarak oositin mayoz bölünme sürecini durdurduğu düşünülmektedir. Cinsel olgunluk dönemi içinde bir kısım foliküller atreziye ve apoptozise giderken bir bölümü de gelişimlerini sürdürürler. Yenidoğan bir kız çocuğunun ovaryumlarında 2 milyon civarında primer oosit vardır (22).

### 2.1.3. Ovaryum histolojisi

Tek katlı yassı ya da kübik epitel ile kaplı ovaryumların yüzey epiteli germinal epitel olarak adlandırılır. Germinal epitelin altında tunika albuginea olarak adlandırılan ve ovaryuma beyazımsı rengini veren sıkı bir bağ dokusu tabakası bulunur. Tunika albugineanın altında yer alan kortekste bol miktarda oositleri içeren ovaryum follikülleri bulunur. Folliküller, korteksin bağ dokusu (stroma) içinde gömülürler. Bu stroma tipik iğ biçiminde fibroblast içerir ve bu fibroblastlar, hormonal uyarılara diğer organların fibroblastlarından farklı yanıt verir. Ovaryumun en iç kısmı gevşek bağ dokusu içinde zengin bir damar yatağı içeren medüller bölgedir (Resim 2. 3). Korteks ile medulla bölgeleri arasında kesin bir sınır yoktur (23).



Şekil 2. 3. Ovaryumun Histolojik Yapısı (17).

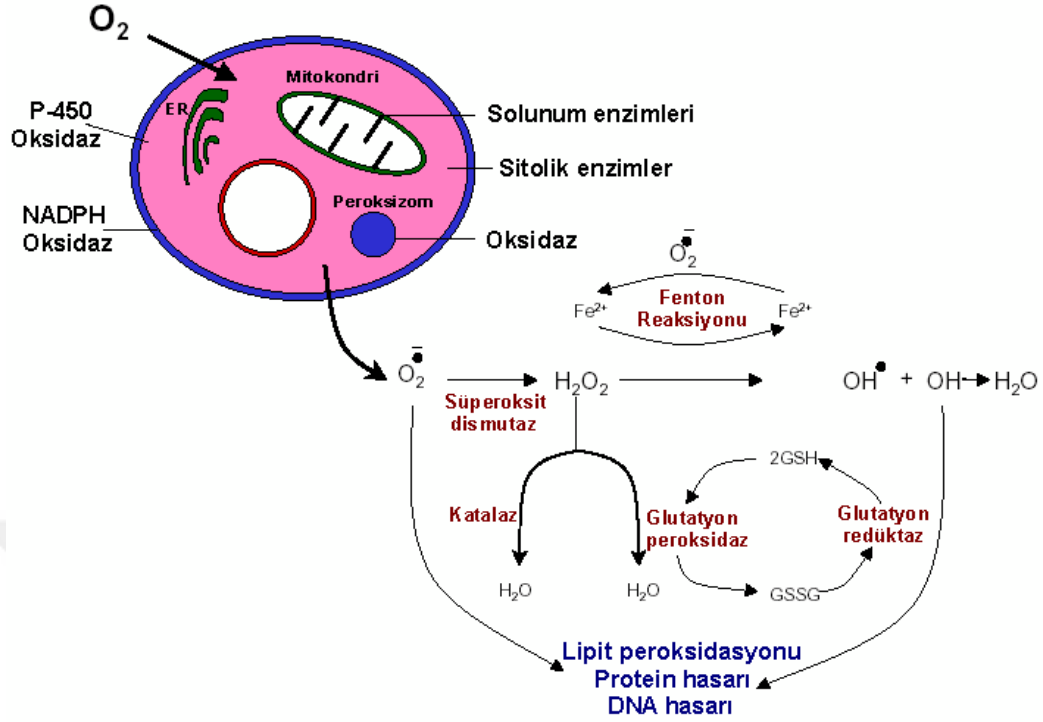
Sıçan ovaryumu tek sıralı kübik ya da prizmatik epitel ile örtülü olup bu epitel bursa ovarica tek katlı yassı epiteline hilusta karışarak kaybolur. Sıçan ovaryum foliküllerinin

ortalama büyüklükleri, primordial 25-30 µm, büyüme aşamalarında 30-400 µm, Graff follikülünde 650-700 µm.dir. Sıçan ovaryum oositlerinin ise primordial 18-20 µm, primordial folikülden graff folikül oluşumuna kadar olan büyüme aşamalarında 40-60 µm ve Graff folikülü 80-90 µm olduğu bildirilmektedir (24).

## **2.2. İskemi ve reperfüzyon**

### **2.2.1. İskemi**

İskemi Yunanca “iskho” engelleme ve “hàima” kan kelimelerinden köken almaktadır. İskemi, organ ya da dokulara ait damarların pıhtı nedeniyle ya da mekanik etkenlerle tıkanmasına bağlı olarak dokunun oksijensiz kalması ve beslenememesi şeklinde tanımlanır (25,26). İskemi, dokuya kan akımının gitmesinin engellenmesi nedeniyle ya da kan basıncındaki düşme sonucu glikoz ve oksijenin dokuya dağıtımının ve metabolik artıkların dokudan uzaklaştırılmasının zayıflaması ile meydana gelen patolojik bir durumdur (27). İskeminin ilk etkisi mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon üzerine olmaktadır. Sitoplazmik bir organel olan mitokondri, normal koşullarda hücre içi oluşan O<sup>-2</sup>'nin başlıca kaynağıdır. Hücrelere giren oksijenin %90'ı Elektron Transport Zinciri'nde (ETZ) suya indirgenirken %1-2'lik bir kısım ETZ' den elektron kaçağına bağlı olarak süperoksit'e dönüşür. Normalde oluşan bu süperoksitler, SOD enzimi tarafından hızlıca dismutasyona uğratılır (Şekil 2. 4.). İskemik dokuda en büyük hasar reperfüzyondan sonra meydana gelmektedir (28). İskemi sonrası reperfüzyon, organ ya da dokulardaki hasarı arttırmakta ve bu olay iskemi-reperfüzyon hasarı olarak adlandırılmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında iskemideki hipoperfüzyona ek olarak inflamatuvar yanıt ve birçok organda disfonksiyona bağlı sendromlar ortaya çıkmaktadır (29).



Şekil 2. 4. İskemideki serbest radikal mekanizması

### 2.2.2. Reperfüzyon

İskemi sonrasında dokunun iskemiye önlemek için geliştirdiği mekanizmalar sonucu dokudaki oksijen miktarının artmasına yani iskemi oluşmuş dokudaki kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denilmektedir (25,30). Reperfüzyon sonucunda dokudaki endotel hücreleri hasarlanır ve serbest oksijen radikalleri artar. Kompleman sistemi aktifleşerek polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) göçü başlar. Reperfüzyon sırasında bu faktörlerin gözlenmesi dokuda iskemi ile oluşan hasardan daha büyük hasara yol açabilir (31,32). Reperfüzyon hasarı, hücrel ve humoral olaylarda rol oynayan faktörlerin tam olarak aydınlatılmadığı fizyopatolojik bir süreçtir (25, 26, 33). İskeminin kritik süresi dolmadan önce dokunun reperfüze edilmesi hücreleri ölümden kurtarabilmektedir. Doku reperfüze edilse bile iskemi süresinin uzaması ölüm riski olan hücrelerin sayısını artırarak bu hücrelerin geri dönüşümsüz doku hasarı fazına girmesine ve nekrozuna neden olmaktadır. Reperfüzyon hasarının büyük bölümünden serbest radikaller sorumlu tutulmaktadır (33).

### 2.2.3. Ovaryumda iskemi-reperfüzyon

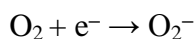
Ovaryumda iskemi-reperfüzyonda en sık görülen patolojik durum ovaryum torsiyonudur ve sıklıkla sağ ovaryumda görülür (30). Ovaryum torsiyonuna yol açan nedenler ovaryan kitleler, ovaryan kistler ve yardımcı üreme tekniklerinde ovaryumların gonadotropinler tarafından aşırı uyarılması olarak sıralanabilir (3, 34). Ovaryum torsiyon hasarında erken müdahale ile ovaryum doku hasarı önlenerek fertilitate korunabilir (25). Ovaryum torsiyonu dışında daha nadir olarak ovaryan arter trombozları da iskemi-reperfüzyon hasarına yol açabilmektedir (26). Ovaryumlar, ovaryan arter ve uterin arterin ovaryan dalı olmak üzere iki farklı damar tarafından beslenmektedirler ve bu damarlanma iskemi-reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde rol oynamaktadır. Ovaryumların kanlanması kısmen de olsa uterin arterin ovaryan dalı tarafından devam eder (35).

### 2.3. Serbest radikaller

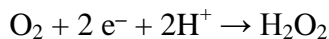
Serbest radikaller, son yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran kimyasal olarak aktif atom veya moleküllerdir. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Serbest radikaller oldukça reaktif ve kısa ömürlüdürler. Radikal olmayan maddelerle kolay etkileşime girerek onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatabilmeleri nedeniyle oldukça tehlikelidirler. Aerobik hücrelerde herhangi bir patolojik durumda yan ürün olarak oluşabilirler ve hücrelerde geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz değişikliklere neden olabilirler. Yapılan çalışmalarda serbest radikallerin hücre molekül değişimlerine ve gen mutasyonlarına yol açtığı, yaşlanma ve doku yıkımında rol aldığı kabul edilmektedir (36,37). Serbest radikaller, organizmada enerji üretimi, lipitlerin ve proteinlerin parçalanması, inflamatuvar süreçler gibi hücrel tepkimelerin yan ürünü olarak sürekli oluşmaktadır. Hücreler serbest radikallerin hasar verici etkilerine karşı kendilerini korumak için hücre içi ve hücre dışı kimyasal mekanizmalarla donatılmışlardır. Serbest radikaller, antioksidan savunma gücü ile belirli bir dengede oldukları zaman organizma için yararlı olmaktadır. ROS üretimi ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki denge bozulduğunda, serbest oksijen radikallerinin düzeyi artmaktadır. Radyasyon, oksijen toksisitesi, infeksiyonlar, enflamasyonlar gibi etkenler, ateroskleroz, karsinogenez, diyabet ve nörolojik hastalıklar ROS üretimini arttırmaktadır (38,39)

### 2.3.1. Serbest oksijen radikalleri

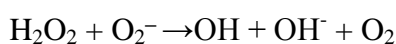
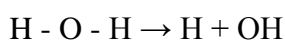
Serbest radikallerin en önemlileri özellikle reaktif oksijen türleri içerenlerdir. Bunlar; hidrojen peroksit, alkoksit ve ozon gibi eşleşmemiş elektronu bulunmayan oksijen türevleri ile hidroksil, peroksil, azot oksit, azot trioksit ve süperoksit radikallerini içerir (36). Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ) doğal oksijen molekülünün bir elektron alması ile oluşmaktadır ve en büyük kaynağı elektron transport zinciridir (40).



Süperoksit radikali hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kaynağıdır ve oksitleyici, metal iyonlarını redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır (37). Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması ya da süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması ile oluşan peroksinin iki proton ( $H^+$ ) ile birleşmesi sonucu meydana gelir (39).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar.  $Fe^{+2}$  ya da diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ile süperoksit radikalının varlığında ise Haber-Weiss reaksiyonu ile reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil ( $OH$ ) radikalini oluşturur.  $OH$  radikali son derece reaktiftir, yarılanma ömrü çok kısadır (37).



### 2.3.2. Serbest oksijen radikallerinin hücre hasarındaki rolü

Başlıca mitokondrilerde üretilen serbest radikaller metabolik reaksiyonlar sonucunda ve normal koşullarda sürekli olarak üretilmektedirler. Nötrofiller gibi fagositik hücreler uyarı aldıklarında göç ederek biyolojik hedefleri yok etmek için serbest radikal

oluşturur. Serbest radikal düzeyleri belirli sınırlarda olduğu sürece organizma için yararlı ve olumlu iken yüksek düzeylere ulaştıklarında protein, lipid ve nükleik asit gibi hücre bileşenleri ile etkileşerek hücrelerde önemli yapı ve fonksiyon bozukluğuna yol açar (41). Düşük konsantrasyonlardaki serbest oksijen radikallerinin yararlı etkileri zararlı etkilere karşı gelişen hücresel cevap sonucu oluşmaktadır (42). Hücre dışında oluşan serbest oksijen radikalleri hücre içi diğer komponentlere ulaşabilmek için hücre membranından geçerken hücre membranında toksik etki yaratır. Serbest oksijen radikalleri nükleik asitlerde mutasyona neden olmakta ve kanser oluşumuna yol açmaktadırlar. Serbest radikal artışı DNA yapısının ve diğer makromoleküllerin bozulmasına yol açtığına organizma bunu düzeltir ancak düzeltmeye yetişemediği ve kapasitesini aştığı durumlarda yaşlanma meydana gelir (43). Serbest radikaller, hücrelerin oksidan savunma kapasitelerini aşan oranlarda oluştuğlarında organlarda çeşitli bozukluklara yol açarlar (44). Serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilen yüzün üzerinde hastalık vardır. Serbest radikaller, sinir sistemi hastalıklarında, gözlerde katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumunda, akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuvar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığında, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar ve enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (45).

### **2.3.3. Lipid peroksidasyonu ve Malondialdehit**

Hücre membranında bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve poliansatüre yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksit, alkol, aldehid, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi zararlı ürünlere dönüşmesi lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır (42). Lipid peroksidasyonu, başlangıç, zincir gelişimi ve sonlanma olmak üzere üç aşamada gerçekleşir. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki  $\alpha$ -metilen gruplarından hidrojen atomunu uzaklaştırması ile başlar ve lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona erer. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan ürünlerden en önemlileri; malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE)'dir (36,46). MDA, linolenik asit ve araşidonik asit gibi üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşur ve tiyobarbitürik asit ile ölçülebilir. Yüksek reaktivitesi ile MDA, hücre içi ve dışındaki

protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki eder ve membranlarda çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olarak esneklik kaybı, iyon transportu, enzim aktivitesinde bozukluklar gibi geri dönüşümsüz hasarlara yol açar (36).

## **2.4. Antioksidanlar**

Serbest radikaller, üzerinde elektron fazlalığı ya da eksikliği nedeniyle yüklü olan kimyasal olarak aktif atom ya da moleküllerdir. Serbest radikallerin en önemlileri özellikle reaktif tür oksijen içerenlerdir. Bu serbest radikalleri ortadan kaldıran, oksidasyonunu engelleyen ya da oksidasyon reaksiyonunun gecikmesine neden olan maddelere antioksidanlar bu olaya da antioksidan savunma denir (47). Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirip, reaksiyonları yavaşlatıp, sonlandırıp ya da serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini azaltmaya çalışırlar (36). Antioksidan savunma, radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre hasarının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması şeklinde beşe ayrılabilir. Bazı araştırmacılar antioksidan savunmayı enzimatik savunma ve nonenzimatik savunma olarak gruplandırmışlardır. SOD, CAT, GPx ve GST'nin rol aldığı antioksidan aktivitelerini "enzimatik antioksidan savunma", vitamin A, vitamin E, askorbat, glutatyon ve ürik asit gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini ise "nonenzimatik antioksidan savunma" şeklinde adlandırmışlardır (48). Yapılan çalışmalar, antioksidanların serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrelerin zarar görmesini engellediğini ortaya koymuştur (49).

### **2.4.1. Oksidatif stres ve antioksidanlar**

Oksidatif stres, canlı organizmadaki prooksidan-antioksidan sistem dengesinin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Oksidatif stres temel olarak süperoksit ve nitrik oksit üretimine dayanmaktadır ve mitokondriyal elektron taşınımı ya da bazı norepinefrin, dopamin gibi nörotransmitterlerin otooksidasyonu sonucundaki oksidan oluşumunu ve doku hasarını tetiklemektedir (50).

## 2.5. Yaban mersini

Yaban mersini (*Vaccinium bilberry*), asitli ve organik maddece zengin bölge topraklarında yetiştirilebilen bir bitki türü olup fundagiller familyasında yer almaktadır. Günümüzde ticari amaçlı yetiştirilen yaban mersini, 1906'dan itibaren Amerika Birleşik Devletleri'nde başlatılan seleksiyon çalışmalarının ürünüdür. Bu çalışmalarla seçilen yabanmersini tipleri daha sonra kendi aralarında melezlenerek yeni çeşitler elde edilmiştir. Üzümü meyve grubundaki yaban mersini başta Karadeniz Bölgesi olmak üzere, Marmara Bölgesi ve Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetişmektedir ve farklı isimlerle tanınmaktadır. Rize'de likapa, kaskanaka, çela olarak adlandırılırken Trabzon'da ligarba, lifos, Ordu ve Giresun'da ise çalı çileği olarak adlandırılır. Bazı illerde çay üzümü, çoban üzümü ya da ayı üzümü olarak da bilinmektedir (51).

Yaban mersini, benzoik asit, hidoksinnamik asit ve ellajik asit gibi fenolik asitler ve flavonol, flavan-3-ol, antosiyanin ve proantosiyanin gibi flavonoidler bakımından zengin bir meyvedir (52,53). 100 gram yenilebilir yaban mersini meyvesinin bileşimi tablo 2. 1' de verilmiştir. İçerdiği fenolik bileşikler, antosiyaninler, antioksidanlar ve vitaminlerden dolayı sağlık meyvesi olarak nitelendirilmektedir (54). Yaban mersininin yapısındaki antosiyanin doğadaki temsilci pigment olması sebebiyle boya maddesi adaydır. Çoğu bitki ve meyvede çekici görünümdeki kırmızı, mor ile mavi renkten sorumludur (55). Yapılan çalışmalarda bu fenolik bileşenlerin, idrar yolu enfeksiyonu, mide ülserleri gibi hastalıklarda ve ağız sağlığında koruyucu etkisinin olduğu bildirilmektedir (56-58). Ayrıca yaban mersini polifenollerinin kardiyovasküler hastalık riskini düşürdüğü ve diyabet hastalarında kandaki şeker oranını dengelediği bildirilmektedir (59). Yapılan pek çok çalışma ile yaban mersini fenolik bileşenlerinin antibakteriyel, antikarsinojenik ve antioksidan aktivitelerinin olduğu bildirilmiştir (60-62).

**Tablo 2.1.** 100 gram yaban mersini meyvesinin içeriği (50)

Sıra	Madde	Oran	Sıra	Madde	Oran
1	Su %	83	4	Karbonhidrat %	15
2	Protein %	0,7	5	Lif %	1,5
3	Yağ %	0,5	6	Kalori kCal	62

### 2.5.1. Yaban mersininin antioksidan etkileri

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bilim adamlarının dikkatini gıdaların antioksidan özellikleri çekmiş ve bunların insan sağlığına etkileri pek çok araştırmada in vivo ve in vitro yöntemlerle incelenmiştir. Karotenoidler, askorbik asit ve  $\beta$ -tokoferol gibi doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesi ve bu aktiviteyi sağlayan etken maddeler saptanmıştır (63). Yaban mersini yüksek askorbik asit içeriği ile dikkat çeker ama bu meyvelerin antioksidan özelliklerinin ana kaynağı doğal askorbik asit içeriğinden değildir (64). Yaban mersini askorbik asit dışında fenolik asit, taninler, flavoneller ve antosiyaninleri de içerir ve mükemmel bir antioksidan kaynağıdır (65). Yaban mersini, antosiyaninlerinin antioksidan etkileri ve kan damarları duvarındaki pozitif etkisi nedeniyle araştırmacılarca büyük ilgi görmektedir. Diğer flavonoidler gibi antosiyaninler güçlü serbest radikal kovuculardır. Yaban mersini ekstraktları da yüksek radikal kovucu aktivite gösteren yüksek miktarda antosiyanin içerir. Çeşitli *Vaccinium* türlerinde antosiyanin içeriği ile oksidatif radikal absorban kapasitesi (ORAC) arasında korelasyon bulunmuştur (66). Üzümsü meyveler olarak bilinen “*Vaccinium*” türleri yüksek radikal kovucu kapasite göstermektedirler. Bu özelliği ile yaban mersini birçok kronik hastalığı azaltmaya yardımcı olmaktadır (65). Son yıllarda yapılan çalışmalar, antosiyaninlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu özellikleri nedeniyle serbest radikallerle ilişkili olan kanser, kardiovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıklara karşı olumlu yönde etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır (55, 67). Roy ve arkadaşları (68) yapmış oldukları bir çalışmada yaban mersini antioksidanlarının enfeksiyonlarla savaşıp, antimikrobiyal ajan olarak idrar yolunda zararlı bakterilerin emilimini önlediğini ve büyük antosiyanin moleküllerinin idrar yolundaki *E. coli* bakterisinin emilimini ve hücre çoğalmasını düşürdüğünü bildirmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE METOD

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan 12.08.2015 tarih ve 15/104 nolu karar ile onay alınarak yapılan bu çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) Uluslararası Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesine uygun olarak Veteriner Hekim kontrolünde gerçekleştirilmiştir. Bu proje Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-6251 proje no ile desteklenmiştir.

Çalışmamızda 8-10 haftalık, 150-220 gr ağırlığında 48 adet dişi Wistar-Albino tipi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 8 kafeste 5, 1 kafeste 8 sıçan olmak üzere toplam 5 grup olacak şekilde özel kafeslere yerleştirilmiştir. 18-22 °C oda sıcaklığında standart laboratuvar diyeti ve su ile beslenen hayvanlara, aydınlık/karanlık (12 saat / 12 saat) fotoperiyodu uygulanmıştır. Sıçanlar uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alınmışlardır.

#### 3.1. Deneysel çalışma

Dişi sıçanlar 5 gruba ayrıldı:

**Grup 1:** Kontrol (n=8)

**Grup 2:** 200 mg/kg yaban mersini (n=10)

**Grup 3:** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon ( n=10)

**Grup 4:** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon + 200 mg/kg yaban mersini ( iskemiden 2 saat önce) ( n=10)

**Grup 5:** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon + 200 mg/kg yaban mersini (iskemiden sonra) (n=10)

Grup 1 kontrol grubuydu ve herhangi bir işlem yapılmadı. Deney sonunda intraperitoneal (i.p.) olarak ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Biyokimyasal analizleri için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alındı ve hedef organ olan sağ ovaryum çıkarıldı.

Grup 2'ye günde tek doz 200 mg/ kg yaban mersini gavaj yolu ile verildi ve herhangi bir işlem yapılmadı. Deney sonunda i.p. olarak ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Biyokimyasal analizleri için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alındı ve hedef organ olan sağ ovaryum çıkarıldı.

Grup 3'e i.p. olarak ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Sağ ovaryuma 1 saat iskemi oluşturulduktan sonra 2 saatlik reperfüzyon sonrası biyokimyasal analizleri için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alındı ve hedef organ olan sağ ovaryum çıkarıldı.

Grup 4'e tek doz 200 mg/ kg yaban mersini verildikten 2 saat sonra i.p. olarak ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Sağ ovaryuma 1 saat iskemi oluşturulduktan sonra 2 saatlik reperfüzyon sonrası biyokimyasal analizleri için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alındı ve hedef organ olan sağ ovaryum çıkarıldı.

Grup 5'e i.p. olarak ketamin (27 mg/kg) + xylazin (3 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Sağ ovaryuma 1 saat iskemi oluşturulduktan sonra tek doz 200 mg/ kg yaban mersini verildi. Reperfüzyon işlemi gerçekleştirilmek için i.p. olarak ketamin (18 mg/kg) + xylazin (2 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. 2 saatlik reperfüzyon sonrası biyokimyasal analizleri için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alındı ve hedef organ olan sağ ovaryum çıkarıldı.

Histopatolojik incelemeler ve Malondialdehit (MDA) seviyesi ile antioksidan enzim Süperoksit dismütaz (SOD) ve Katalaz (CAT) aktivitelerini araştırmak için çıkarılan sağ ovaryum doku örnekleri tamponda yıkanarak ışık mikroskopik inceleme için uygun büyüklüklerde bölünerek % 10'luk formaldehit tespit solüsyonu içine alındı. Enzim

aktiviteleri ile MDA düzeyinin belirlenmesi ve Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated Deoxyuridine Triphosphate DNA Nick-End Labelling (TUNEL) için ayrılan ovaryum dokuları daha sonra çalışılmak üzere  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmak üzere alındı.

### 3.2. Işık mikroskobu incelemeleri

#### 3.2.1. Doku takibi

Işık mikroskopik inceleme için % 10'luk formaldehit solüsyonuna alınan ovaryum doku örnekleri 48 saat süreyle tespit edildikten sonra artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilen ile şeffaflandırılan doku örnekleri  $60^{\circ}\text{C}$ 'de eriyik parafinde bir gece bekletilip bloklandı (Tablo 3. 1).

**Tablo 3. 1.** Doku Takip Yöntemi

Sıra	Kimyasal Madde	Süre
1	% 10 Formaldehid	72 saat
2	Musluk suyu	1 gece
3	%50 Alkol	1 saat
4	%70 Alkol	1 saat
5	%80 Alkol	1 saat
6	%96 Alkol	1 saat
7	Absolü Alkol	1 saat
8	Absolü Alkol	1 saat
9	Absolü Alkol	1 saat
10	Ksilen	20 dakika
11	Ksilen	20 dakika
12	Ksilen	20 dakika
13	Eriyik parafin ( $60^{\circ}\text{C}$ )	1 gece
14	Bloklama	20 dakika

### 3.2.2. Hematoksilen & Eozin ile boyama

Parafin bloklara yerleştirilen ovaryum dokularından 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak genel histolojik yapıyı değerlendirmek için Hematoksilen & Eozin ile boyandı (Tablo3.2).

**Tablo 3. 2.** Hematoksilen & Eozin Boyama yöntemi

Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat
2	Ksilen I	20 dakika
3	Ksilen II	20 dakika
4	Ksilen III	20 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika
8	%80 Alkol	20 dakika
9	%70 Alkol	20 dakika
10	%50 Alkol	20 dakika
11	Akarsu	5 dakika
12	Hematoksilen	5-8 dakika
13	Akarsu	5 dakika
14	Eozin	3-5 dakika
15	Akarsu	5 dakika
16	%50 Alkol	10 dakika
17	%70 Alkol	10 dakika
18	%80 Alkol	10 dakika
19	%96 Alkol	10 dakika
20	Absolu Alkol I	10 dakika
21	Absolu Alkol II	10 dakika
22	Ksilen I	20 dakika
23	Ksilen II	20 dakika
24	Kapatma	

### 3.2.3. Histopatolojik analiz

Hematoksilen & Eozin ile boyanan kesitleri değerlendirmek için ışık mikroskobu (Olympus® Inc. Tokyo, Japan) kullanılarak fotoğrafları çekildi. Doku hasarının varlığını ve şiddetini belirlemek amacıyla taranan mikroskopik alanlardaki histopatolojik değişiklikler konjesyon, hemoraji, lökosit infiltrasyonu, ödem ve follikül dejenerasyonu şeklinde tanımlandı. Hasarın şiddetine göre 0 – 3 arasında skorlama yapıldı. 0; patolojik bulgu yok, 1, 2, 3 ise patolojik bulguların sırasıyla incelenen alanın <%33, %33-66 ve >%66 olması şeklinde belirlendi. Her parametre için elde edilen skorlar toplanarak toplam skor hesaplandı (Tablo 4.1.).

**Tablo 4. 1.** Ovaryumun Histolojik Hasarı için kullanılan skorlama tablosu

Grade	Vasküler Konjesyon	Hemoraji	Lökosit infiltrasyonu	Ödem	Folikül dejenerasyonu
<b>Grade 0</b>	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok	patolojik bulgu yok
<b>Grade 1</b>	<%33	<%33	<%33	<%33	<%33
<b>Grade 2</b>	%33-66	%33-66	%33-66	%33-66	%33-66
<b>Grade 3</b>	>%66	>%66	>%66	>%66	>%66

Grade 0; patolojik bulgu yok, Grade 1, 2, 3 ise patolojik bulguların sırasıyla incelenen alanın <%33, %33-66 ve >%66 olması şeklinde belirlenmiştir.

### 3.3. TUNEL

Parafin bloklardan poly-L-Lysine kaplı lamalar üzerine alınan kesitler 2 saat 69°C'lik etüvde bekletilerek parafini giderildi. Ksilen I, Ksilen II, Ksilen III serisinde 5'er dakika bekletilerek parafini iyice giderilen doku örnekleri azalan alkol serilerinden (%100, %96, %80, %70) 5'er dakika geçirilip suya indirildi. Molgen Biyoteknoloji Lab.'tan temin edilen Roche firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (In Situ Cell Death Detection Kit, Fluorescein Cat No: 11684795910). 5'er dakika PBS ile iki kez yıkandıktan sonra antijen geri kazanımı için 0.01 M %5' lik sodyum sitrat tamponunda 350 W'de mikrodalga fırında 5 dakika bekletildi ve soğuması için 10 dakika oda ısısında bırakıldı. PBS ile 2 kez 5'er dakika yıkanan doku örnekleri TUNEL reaksiyon

karışımı ile nem kamara içerisinde 37°C’de 60 dakika etüvde inkübe edildi. PBS ile 2 defa 5’er dakika yıkanan doku örneklerine 4’,6-diamidino-2-phenylindole ( DAPI) ile zıt boyama yapıldı. Distile su ile yıkadıktan sonra kapatma solüsyonu (UltraCruz™ Mounting Medium, sc-24941, Lot # K1210) uygulanıp lamel ile kapatıldı. Olympus® BX51 Floresan mikroskobu ile 450-500 nm dalga boyunda değerlendirilerek fotoğrafları çekildi. Apoptotik indeks için 40X objektifte her kesitten on farklı alan taranarak apoptotik hücreler sayıldı.

### **3.4. Biyokimyasal analizler**

#### **3.4.1. Malondialdehit (MDA) düzey tayini**

Molgen Biyoteknoloji Lab.’tan temin edilen YH Biosearch Laboratory firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (Rat malondialchehyche (MDA) ELISA Kit Cat No:YHB0708Ra). Doku örneklerinin sonuçları nmol/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, nmol/ml olarak verildi.

#### **3.4.2. Süperoksit dismütaz (SOD) aktivite tayini**

Molgen Biyoteknoloji Lab.’tan temin edilen YH Biosearch Laboratory firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı. (Rat Super Oxidase Dimutase (SOD) ELISA Kit Cat No:YHB1021Ra) Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, ng/ml olarak verildi.

#### **3.4.3. Katalaz (CAT) aktivite tayini**

Molgen Biyoteknoloji Lab.’tan temin edilen YH Biosearch Laboratory firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı. (Rat Catalase (CAT) ELISA Kit Cat No:YHB0207Ra) Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, ng/ml olarak verildi.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Verilerin analizi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 18. 0) paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama  $\pm$  standart sapma ya da ortanca (en küçük–en büyük) olarak gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar bakımından farkın

önemliliği One-Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) ile ortanca değerler bakımından farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testi ile araştırıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi ya da Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunması durumunda post hoc Tukey HSD ya da Conover'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farka neden olan durumlar tespit edildi. İstatistiksel olarak anlamlılık sınırı  $p < 0,05$  kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Çalışmamızda, dişi sıçanlar 5 gruba ayrılarak;

**Grup 1:** Kontrol (n=8)

**Grup 2:** 200 mg/kg yaban mersini (n=10)

**Grup 3:** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon ( n=10)

**Grup 4:** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon + 200 mg/kg yaban mersini (iskemiden 2 saat önce) ( n=10)

**Grup 5:** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon + 200 mg/kg yaban mersini (iskemiden sonra) (n=10)

1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemleri yapılmış ve sonucunda oluşan histopatolojik değişiklikler ışık ve floresan mikroskobu altında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen ovaryum örnekleri, ışık mikroskobunda incelenmek için Hematoksilen & Eozin (H&E) boyaması ile boyanmıştır. DNA fragmentasyonunu belirlemek amacı ile de TUNEL yöntemi kullanılarak floresan mikroskobu ile incelenmiştir. Doku ve kan örneklerinde enzim aktiviteleri (SOD, CAT) ile MDA düzeyleri ölçülmüştür. Tüm sonuçlar her bir grup için karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

### 4.1. Histolojik Bulgular

Deney grupları makroskopik olarak değerlendirildiğinde, kontrol ve yaban mersini kontrol grubu (Grup 1 ve Grup 2) dışındaki ovaryumların nekrotik görünümde ve kanamalı olduğu izlenmiştir.

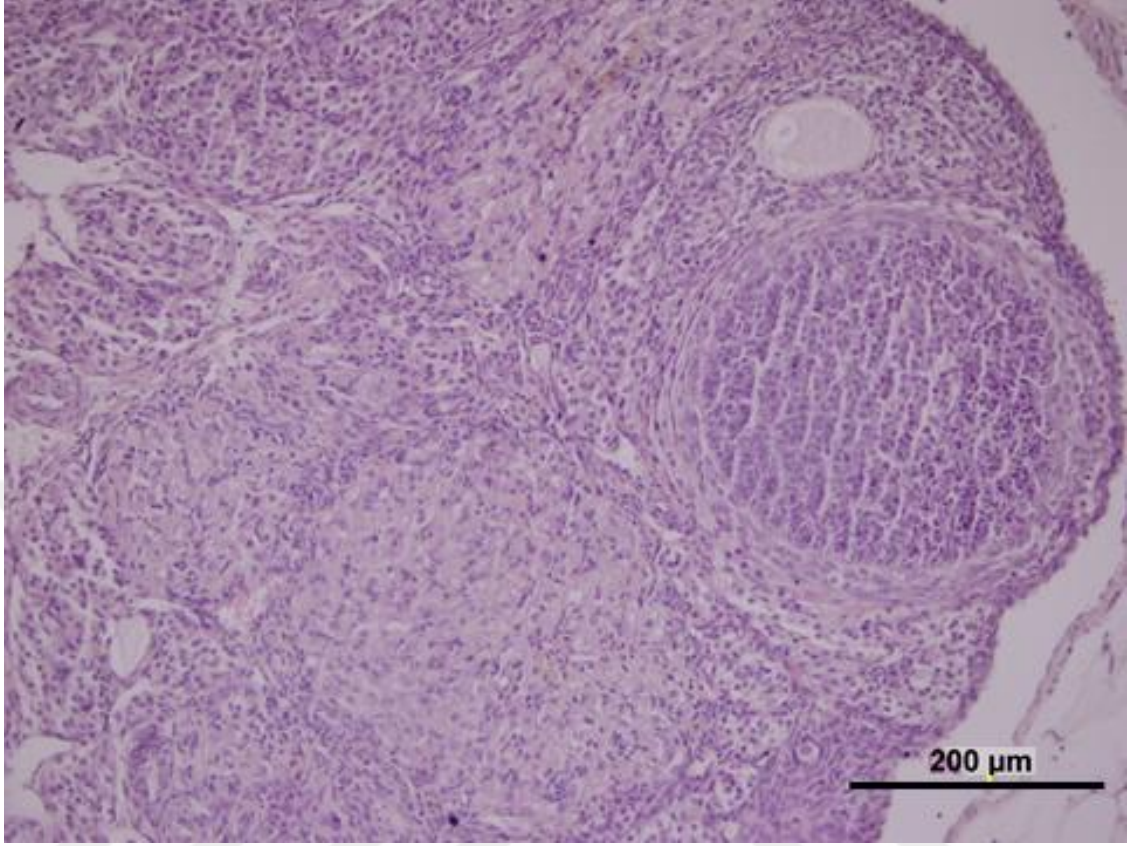
Doku hasarının varlığını ve şiddetini belirlemek amacıyla mikroskopik alanlardaki histopatolojik değişiklikler incelenmiş konjesyon, hemoraji, lökosit infiltrasyonu, ödem ve folikül dejenerasyonu şeklinde tanımlanmıştır. Hasarın şiddetine göre 0 – 3 arasında skorlama yapılmıştır.

**Tablo 4. 2.** Histolojik Hasarın gruplara göre dağılımı

	<b>Grup 1 (n=8)</b>	<b>Grup 2 (n=10)</b>	<b>Grup 3 (n=10)</b>	<b>Grup 4 (n=10)</b>	<b>Grup 5 (n=10)</b>
<b>Vasküler Konjesyon</b>	0.00	0.00	3.00*	2.30±0,7*	2.44±1,1
<b>Hemoraji</b>	0.00	0.00	3.00*	2.20±0,7*	2.44±0,8
<b>Lökosit infiltrasyonu</b>	0.00	0.00	3.00*	1.50±0,6*	2.04±0,9
<b>Ödem</b>	0.00	0.00	3.00*	1.70±0,6*	2.16±0,7
<b>Folikül dejenerasyonu</b>	0.60±0,4	0.60±0,5	3.00*	1.25±0,6*	1.88±0,7

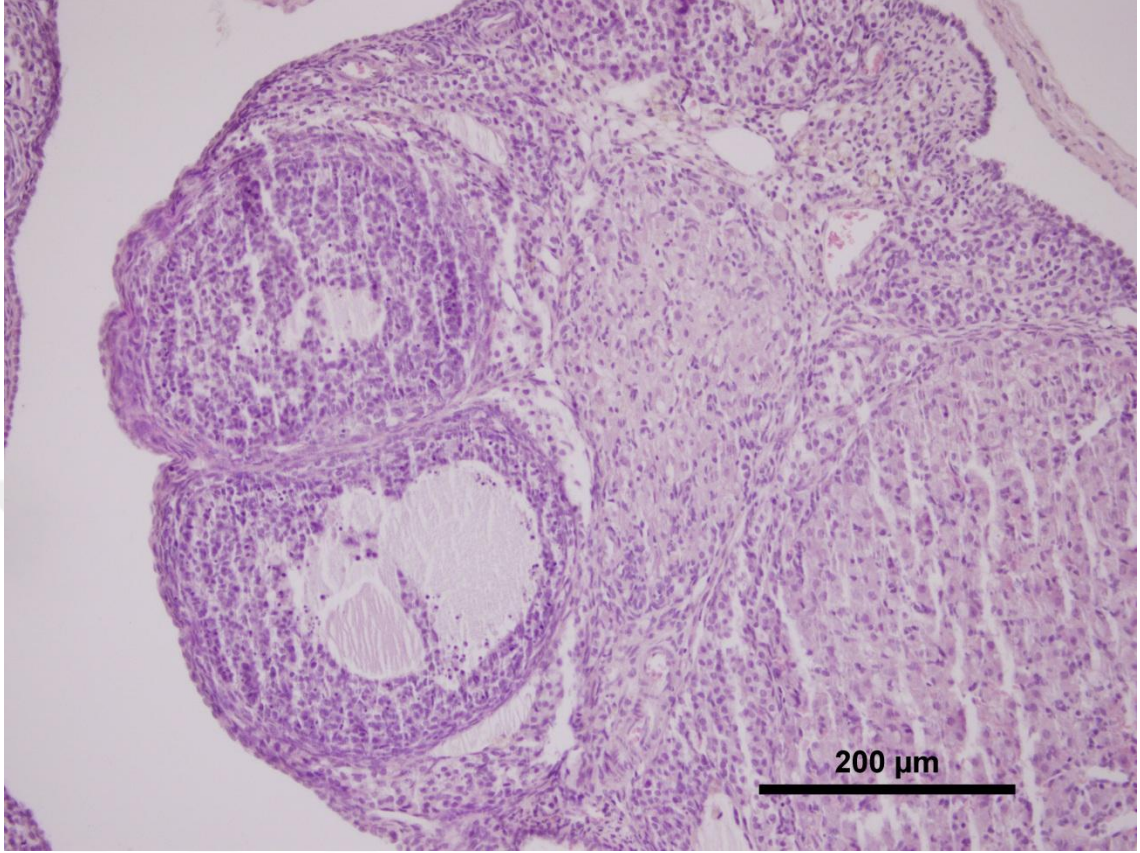
\*Kruskal Wallis testi, Grup 3 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bulundu.

Kontrol grubundaki ( Grup 1) ovaryum dokusunda germinal epitel sağlıklı bir şekilde izleniyordu. Gelişimi farklı aşamalarda olan sekonder foliküller gözleniyordu. (Başlangıç aşamasındaki sekonder folikül ve olgun sekonder folikül). Bu foliküllerin arasında bulunan bağ dokusu hücreleri arasındaki bağlantılar bozulmamış normal bir yapıda görünmekteydi. Korteks ve folikül yapıları net bir görünümde olup korpus luteum yapısı izlenmekteydi, (Şekil 4. 1).



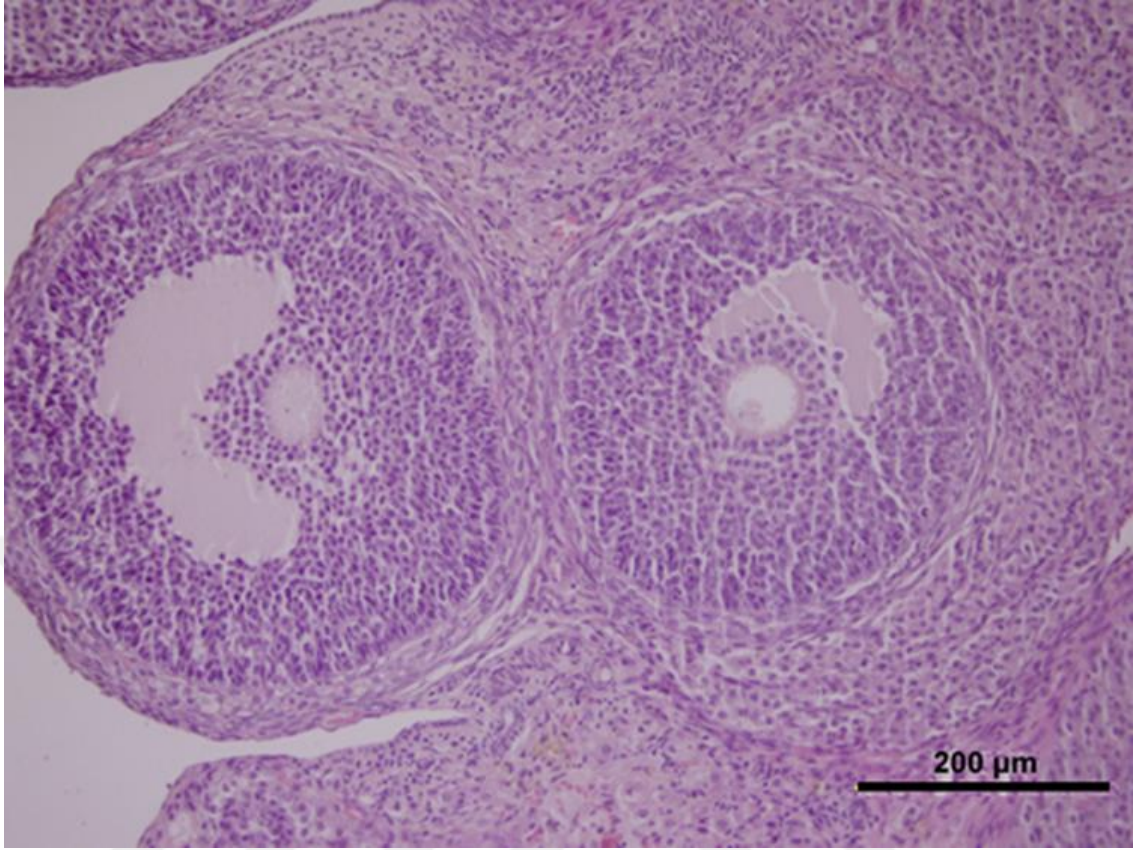
**Şekil 4. 1.** Kontrol grubuna (Grup 1) ait ovaryum dokusu. Hematoksilen & Eozin boyama x 20 (1)

Kontrol grubuna ait ovaryum dokusunda medulla sağlıklı bir şekilde izleniyordu. Hilus hücreleri ve damarlar dikkati çekiyordu, (Şekil 4. 2).



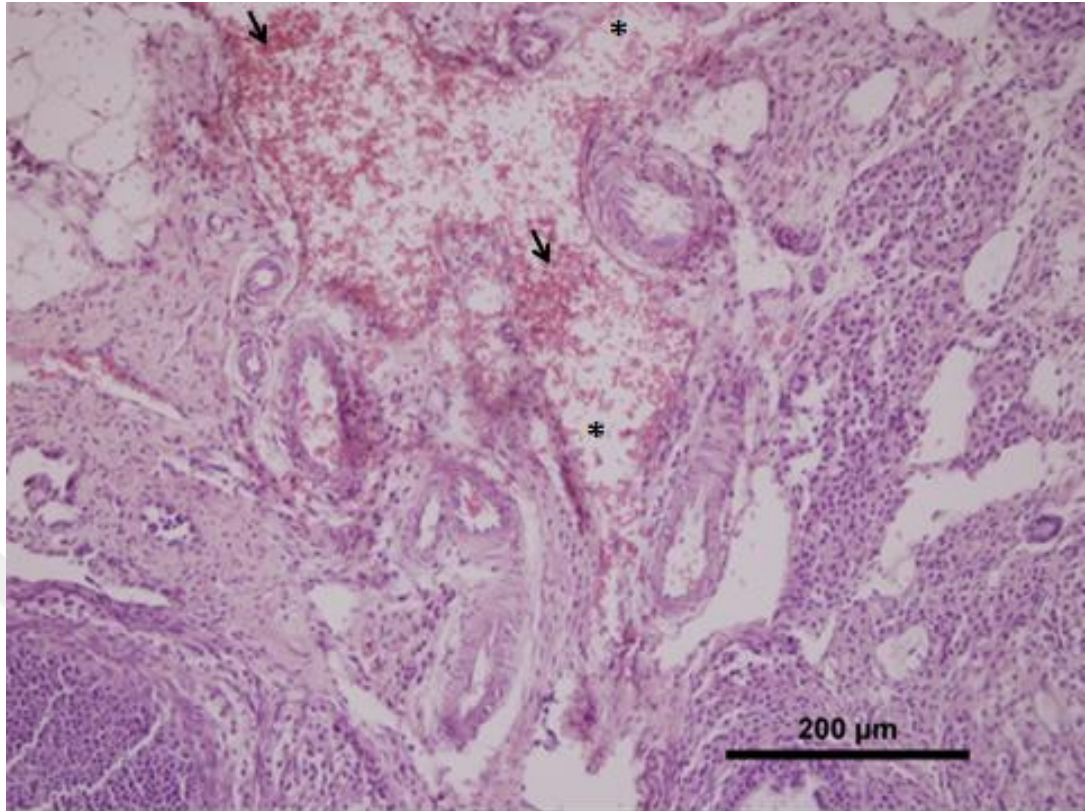
**Şekil 4. 2.** Kontrol grubuna (Grup 1) ait ovaryum dokusu. Hematoksilen & Eozin boyama x 20 (2)

Yaban mersini kontrol grubunda (Grup 2) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış dokularda kortekste iki sekonder folikül izleniyordu. Sekonder foliküllerden bir tanesi tersiyer foliküle gidiş evresindeydi. Germinal epitel tunica albuginia ve kortikal bağ dokusunda histolojik olarak dejenerasyon gösteren bir yapı saptanmadı (Şekil 4. 3. ).



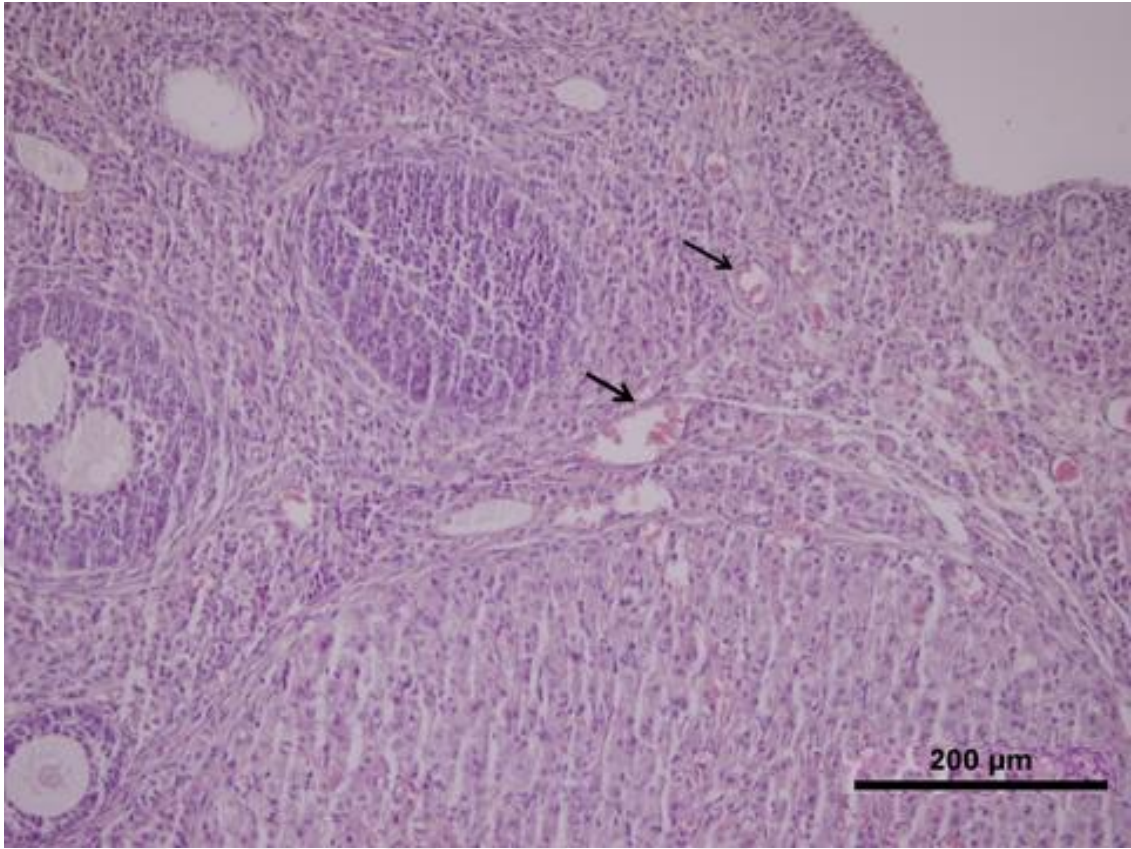
**Şekil 4. 3.** Yaban mersini Kontrol grubuna (Grup 2) ait ovaryum dokusu. Hematoksilen & Eozin x 20

1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan Grup 3' te Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji ve ödem görüldü. Organ bütünü ile kanama odakları içerisindeydi. Damar bütünlüğü ve bağ dokusu hücrelerindeki normal yapı bozulmuştu (Şekil 4. 4. ).



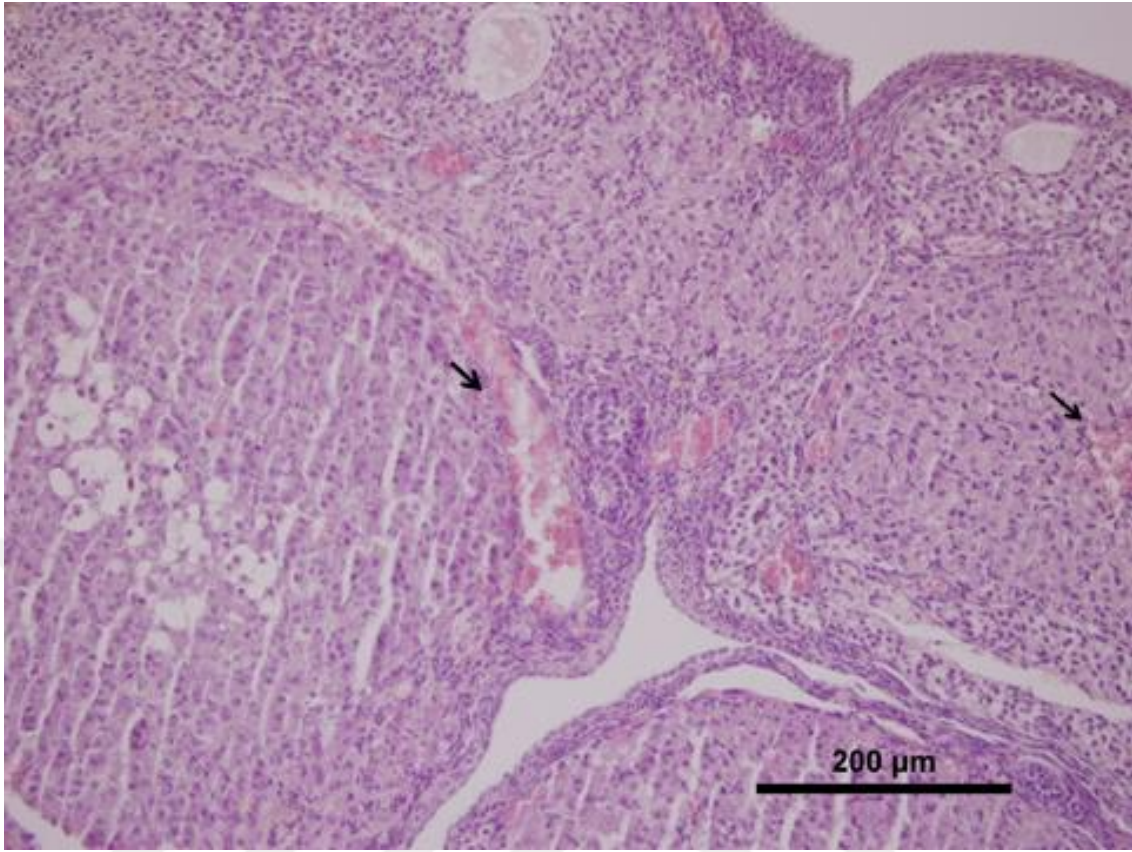
**Şekil 4. 4.** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan Grup 3'te Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji (→) ve ödem ( \* ) x 20

İskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta ( Grup 4) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hasarın Grup 3'e göre anlamlı bir şekilde azaldığı dikkati çekiyordu. Germinal epitel sağlıklı bir şekilde izleniyordu. Foliküllerde ve korpus luteumda çok belirgin bir hasar gözlenmedi. Ancak korpus luteuma yakın bağ dokusu alanlarında küçük hemoraji odakları izleniyordu (Şekil 4. 5. ).



**Şekil 4. 5.** İskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta ( Grup 4) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji odakları (→) x20.

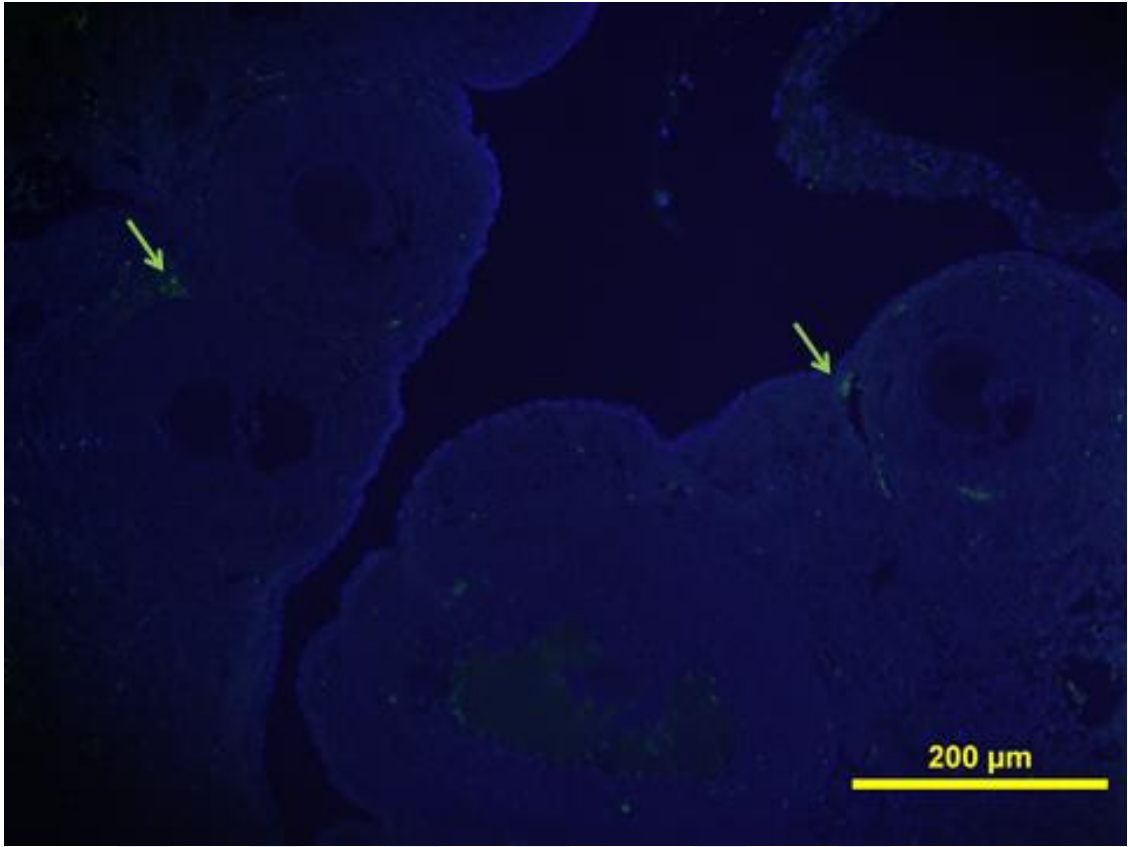
1 saat iskemi ve iskemiden sonra 200 mg/kg yaban mersini verilip 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta (Grup 5) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde korpus luteum ve bağ dokusu arasında, bağ dokusunun içinde ve bazı foliküllerde küçük hemoraji odakları izleniyordu (Şekil 4. 6. ).



**Şekil 4. 6.** 1 saat iskemi ve iskemiden sonra 200 mg/kg yaban mersini verilip 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta (Grup 5) Hematoksilen & Eozin ile boyanmış kesitlerde hemoraji odakları (→) x20.

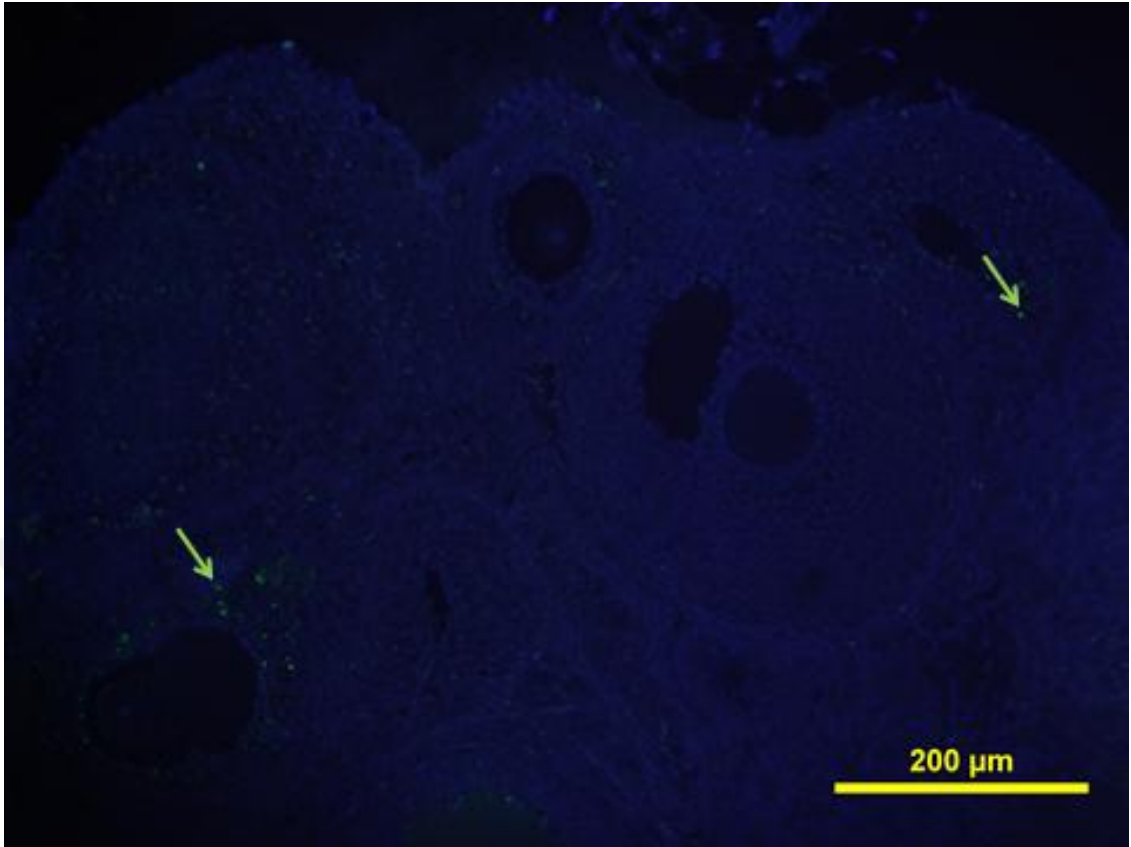
#### **4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular**

Parafin bloklardan poly-L-Lysine kaplı lamalar üzerine alınan kesitler 2 saat 69°C'lik etüvde bekletilerek parafini giderildi ve TUNEL yöntemi uygulandı. Floresan mikroskobu ile 450-500 nm dalga boyunda değerlendirilen kontrol grubuna (Grup 1 ) ait görüntünün sol tarafındaki sekonder folikül ve sağ tarafındaki primer folikül yapılarında tek tük apoptotik hücelere rastlandı (Şekil 4. 7.). Ancak bu foliküllerde oosit görülmediğinden bunların doğal atreziye giden foliküller olabilecekleri düşünöldü.



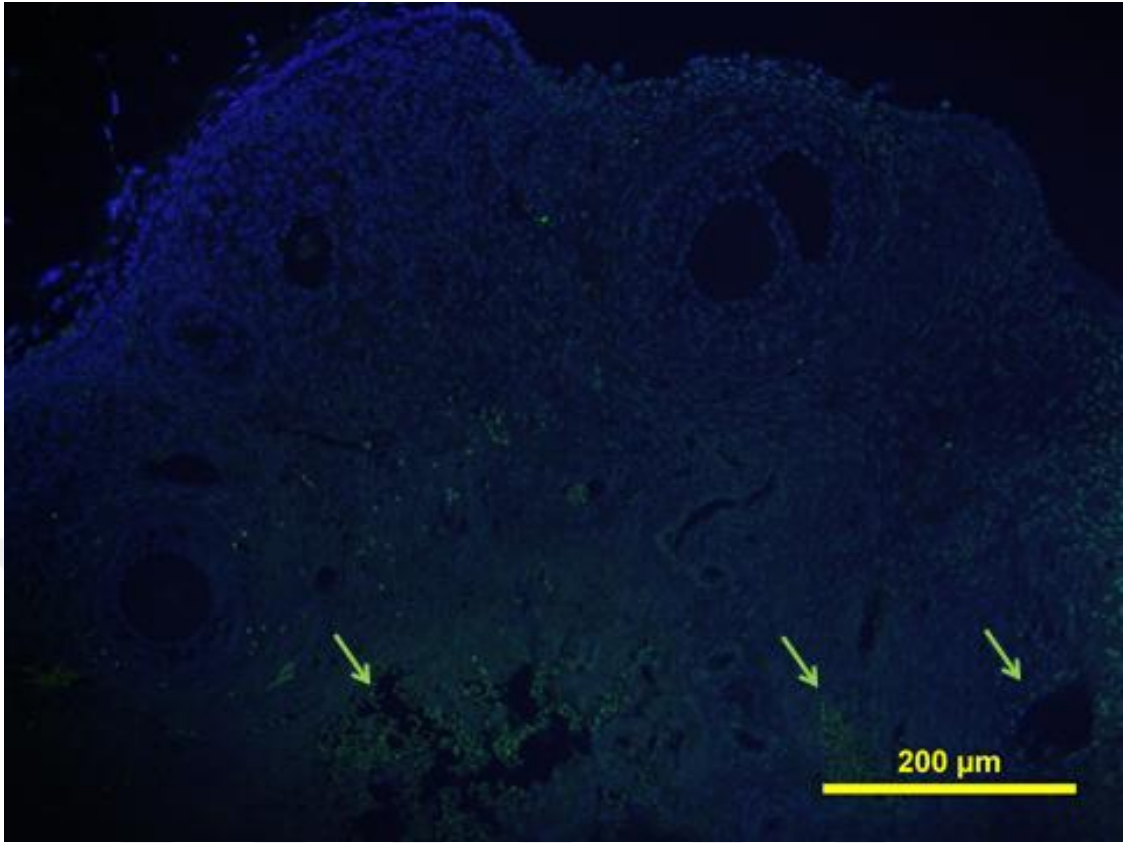
**Şekil 4. 7.** Kontrol grubu (Grup 1) apoptotik hücreler (→) TUNEL x20.

Yaban mersini kontrol grubunda (Grup 2) TUNEL yöntemi ile floresan mikroskobu ile 450-500 nm dalga boyunda değerlendirilen kesitlerde sekonder ve tersiyer foliküllerde apoptotik hücelere rastlandı. Sekonder folikülde lümeneye yakın granüloza hücrelerinde apoptotik hücre görüldü. Tersiyer folikülde teka hücrelerinde ve teka hücrelerinin komşuluğundaki bağ dokusu hücrelerinde daha az sayıda apoptotik hücre gözlemlendi (Şekil 4. 8.).



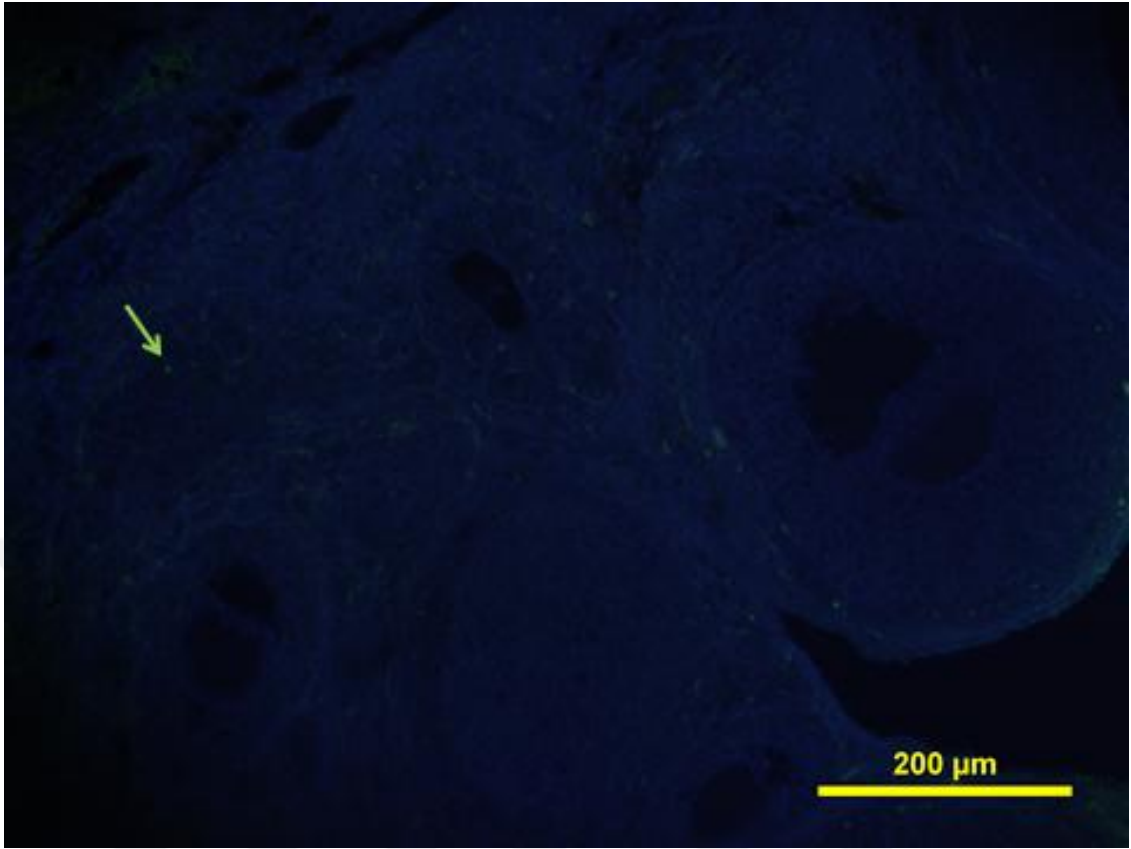
**Şekil 4. 8.** Yaban mersini Kontrol grubu (Grup 2) apoptotik hücreler (→) TUNEL x20.

1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta (Grup 3) TUNEL yöntemi ile floresan mikroskobu ile 450-500 nm dalga boyunda değerlendirilen kesitlerde tersiyer foliküllere komşu bağ dokusu alanlarda medullar bölgede apoptotik hücelere rastlandı. Tersiyer foliküle komşu bağ dokusu alanlarda az sayıda apoptotik hüceler gözlenirken kanama odaklarının yer aldığı meduller bölgede çok sayıda apoptotik hücre gözlemlendi (Şekil 4. 9.).



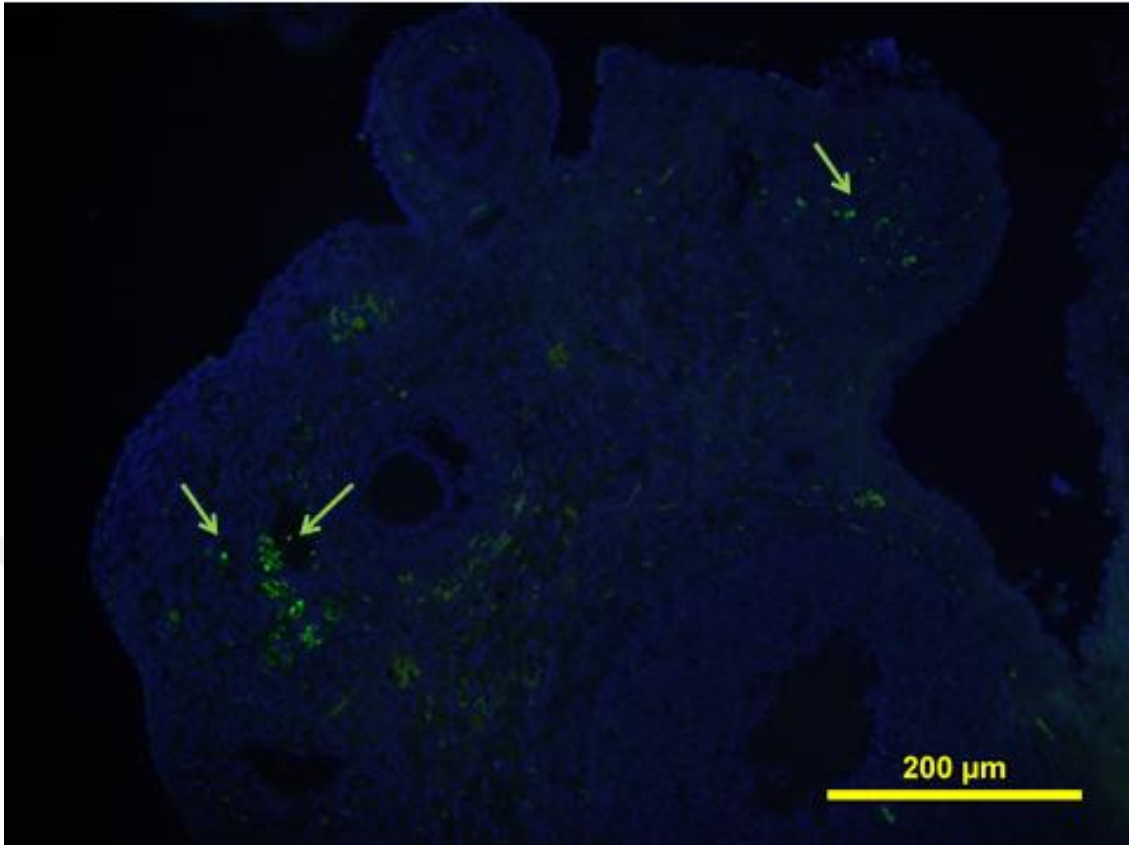
**Şekil 4. 9.** 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 3) apoptotik hücreler (→) TUNEL x20.

İskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta (Grup 4) TUNEL yöntemi ile değerlendirilen kesitlerde tersiyer folikülde, sekonder folikülde ve korpus luteuma yakın bağ dokusu alanlarında oldukça az sayıda apoptotik hücre gözlemlendi (Şekil 4. 10.) .



**Şekil 4. 10.** İskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 4) apoptotik hücreler (→)TUNEL x20

1 saat iskemi ve iskemiden sonra 200 mg/kg yaban mersini verilip 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grupta (Grup 5) TUNEL yöntemi ile değerlendirilen kesitlerde korpus luteuma komşu primer folikülün dış katmanlarında ve korpus luteuma komşu bağ dokusu alanlarda apoptotik hücreler gözlemlendi ( Şekil 4. 11.) .



**Şekil 4. 11.** 1 saat iskemi ve iskemiden sonra 200 mg/kg yaban mersini verilip 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 5) apoptotik hücreler (→) TUNEL x20.

#### 4.3. Biyokimyasal bulgular

Gruplar arası değerlendirme MDA düzeyleri ve SOD ve CAT enzim aktiviteleri için ovaryum dokusunda ve kanda ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Doku ve kan örneklerindeki değerlendirme birbirini destekler nitelikte anlamlı bulunmuştur. MDA için yapılan post hoc analizde 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 3) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek ( $p<0,012$ ), iskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 4) ile Grup 3 karşılaştırıldığında ise anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0,063$ ). CAT için yapılan post hoc analizde, 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup (Grup 3) diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük, Grup 4 ise Grup 5'e göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p< 0,05$ ). SOD için yapılan post hoc analizde Grup 1 diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek, Grup 3 ise diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulundu.

Biyokimyasal verilerin değerlendirilmesi, gruplara göre doku biyokimyasal sonuçları Tablo 4. 3' te, serum biyokimyasal sonuçları Tablo 4. 4. 'te gösterilmiştir.

**Tablo 4. 3.** Grupların doku örneklerinde ortalama Süperoksit dismutaz (SOD), Malondialdehit (MDA), Katalaz (CAT) ölçümleri

	Süperoksit dismutaz (SOD)	Malondialdehit (MDA)	Katalaz (CAT)
<b>Grup 1 (n=8)</b>	8,7969±0,5253	2,7576±0,3680	107,0620±5,8781
<b>Grup 2 (n=10)</b>	8,5254±0,6971	2.9291±0,3618	98,0671±4,1057
<b>Grup 3 (n=10)</b>	7,1613±0,7893	3.4616±0,3543	83,2699±9,3108
<b>Grup 4 (n=10)</b>	8,0899±0,7009	3.0355±0,2886	94,6328±4,2542
<b>Grup 5 (n=10)</b>	7,6381±0,4286	3.2231±0,2531	90,8731±5,6001
<b>p değeri *</b>	< 0.001	< 0.001	< 0.001

\*Kruskal Wallis testi, Grup 3 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bulundu.

**Tablo 4. 4.** Grupların serum örneklerinde ortalama Süperoksit dismutaz (SOD), Malondialdehit (MDA), Katalaz (CAT) ölçümleri

	Süperoksit dismutaz (SOD)	Malondialdehit (MDA)	Katalaz (CAT)
<b>Grup 1 (n=8)</b>	6,3481±1,9030	0,8436±0,3851	89,9338±6,0591
<b>Grup 2 (n=10)</b>	5,6529±0,8632	1,2442±0,4969	82,0928±11,8635
<b>Grup 3 (n=10)</b>	2,2285±1,5882	2,3760±0,5023	32,2768±11,4758
<b>Grup 4 (n=10)</b>	3,6104±1,9891	1,4313±0,3695	62,2723±11,0865
<b>Grup 5 (n=10)</b>	2,9087±1,2809	2,0319±0,4981	46,5795±11,336
<b>p değeri *</b>	< 0.001	< 0.001	< 0.001

\*Kruskal Wallis testi, Grup 3 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bulundu.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ovaryum torsiyonu, % 2. 7 insidans ile jinekolojik acil cerrahinin ciddi bir etiyolojik sebebidir (69). Kadınlarda premenarşiyal ve reproduktif dönemde daha sık görülürken, çocukluk çağında %15 ve postmenopozal dönemde %15 sıklığında görülebilmektedir (70). Bu nedenle cerrahi tedavi uygulanan hastalarda adnekslerin korunması özellikle önem taşır. Adnekslerin çıkartılması geleneksel bir yaklaşım gibi görünse de detorsiyon sonrası konservatif yaklaşımı öneren araştırmacılar da mevcuttur.

Yapılan çalışmalarda koyu mavi-siyah görünümü ile dolaşımı ileri derece bozulduğu düşünülen ovaryumların bile detorsiyone edilerek takip edilmesi gerektiği üzerinde durulmaktadır (71,72). Kruger ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, torsiyon ile etkilenmiş dokunun makroskopik görünümü ile histopatolojik bulgularının uyumlu olduğu belirtilmiştir (73). Bizim çalışmamızda da torsiyon yapılmış gruplarda makroskobik olarak koyu mavi-siyah görünüm mevcuttu ve biyokimyasal parametreler ile histopatolojik bulgular bakımından literatürle uyumluydu.

Nekrozun gelişmesinde, ovaryumun torsiyon derecesi ya da süresiyle ilgili rakamsal veriler kesin değildir (74,75). Bu nedenle adnekslerin çıkartılması, genellikle cerrahi işlem sırasında makroskobik görünüme bakılarak karar verilen bir durumdur. Bununla beraber ovaryum torsiyonu sonucunda canlılığını yitiren ve makroskobik görünüm olarak nekrotik olduğu değerlendirilen ovaryumlarda tedavi halen tartışmalıdır (76,77). Adnekslerin çıkartılması hala uygulanan ve önerilen cerrahi yöntem olsa da kadının fertilitesi açısından değerlendirildiğinde, detorsiyon ile konservatif yaklaşım da son yıllarda giderek daha fazla önerilmektedir (71,78). Bizim çalışmamızda da torsiyon sonrası detorsiyon uygulayarak yaban mersininin etkilerini karşılaştırdığımızda, yaban mersini kullanımının detorsiyonun olumsuz etkilerini azalttığı yönünde sonuca ulaşılmıştır.

Son yıllarda, iskemi ve reperfüzyon sonucu dokuda meydana gelen hasarda serbest oksijen radikallerinin rolü ve antioksidanların hasarı gidermedeki etkileri konusunda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda, sıçan ovaryumlarına 4 saatten 36 saate kadar torsiyon ve detorsiyon işlemi uygulamışlar ve 24 saate kadar olan ovaryum hasarları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptamamışlardır. Çalışmaya göre torsiyon süresi arttıkça doku hasarının büyüklüğü de artmaktadır ve iskeminin belirli bir süresine kadar doku, geri dönüşebilen doku hasarı fazına, iskemi süresi arttıkça doku geri dönüşümsüz doku hasarı fazına girmektedir. Bu aşamadaki doku yeniden perfüzyon sağlansa bile doku hasarı geri dönmemektedir. Çalışmada geri dönüşümsüz evrenin 36 saatte meydana geldiği, 24 saatten daha az uygulanan torsiyon sonrası yapılan tedavi ile ovaryum hasarının geri döndüğü belirlenmiştir (79, 80). Bizim çalışmamızda ise detorsiyon süresi 2 saat olup akut dönemdeki değişimler değerlendirilmiştir. Uygulanan yaban mersini etkinliğinin değerlendirilebilmesi için çalışmamız geri dönüşebilir dönem olan 24 saat sınırında tutulmuştur. Çalışmamız Taşkın ve arkadaşlarının (80) çalışmasına benzer etki göstermiş 2 saatlik detorsiyon ile yaban mersini uygulamasının ovaryumlar üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmüştür.

İskemi-reperfüzyon sonucu dokuda meydana gelen hasarla ilgili yapılan çalışmalar, detorsiyon ile dokuya tekrar oksijen desteğinin sağlanmasıyla sisteme aniden aşırı miktarda oksijenin girdiğini ve bunun da serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olduğunu düşündürmektedir. Reperfüzyonla birlikte lökositlerin dokuya göçü, serbest radikal oluşumuna neden olarak oksidatif hasarı artırmaktadır. Lökosit infiltrasyonunun inhibe edildiği bir çalışmada hasarın azaltıldığı gösterilmiştir (81, 82). Bizim çalışmamızda iskemi-reperfüzyon sonucu dokuda meydana gelen hasar, oluşan hasarda serbest oksijen radikallerinin rolü ve doğal bir antioksidan olan yaban mersininin bu hasarı gidermedeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda SOD, CAT aktivitesi ve MDA düzeyleri ölçülmüş ve gruplar arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Grup 3 diğer gruplarla karşılaştırıldığında ovaryum dokusunda ve kanda MDA düzeyleri anlamlı şekilde daha yüksek, SOD ve CAT enzim aktiviteleri ise anlamlı şekilde daha düşük olarak bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu sonuçlar, doğal antioksidan bir ürün olan yaban mersinin detorsiyon ile birlikte uygulanmasının, detorsiyon ile dokuya tekrar oksijen desteğinin sağlanmasıyla (reperfüzyon) sisteme aniden aşırı miktarda oksijenin girdiğini

ve bu etkinin de serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olduğunu gösteren çalışmaları desteklemektedir.

Ergun ve arkadaşlarının 2010 yılında yayınlanan çalışmasında ( 83), sıçan ovaryumuna 3 saat torsiyon yapıldıktan sonra eritropoetin (EPO) ve dimetilsulfoksit (DMSO) uygulanan ve detorsiyon yapılan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lipid peroksidasyon ürünlerinin torsiyon grubunda anlamlı derecede arttığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda da lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyleri karşılaştırıldığında torsiyon grubunda anlamlı derecede arttığı görülmektedir.

İnsanlarda fetal dönemde primordial folliküllerin oluşumu sırasında, oogenezis, folikülogenezis ve atrezi gibi birçok olayda apoptozisin rol aldığı bilinmektedir. Folliküler hücrelerdeki apoptotik moleküller ile yaşamsal moleküller bir denge içinde bulunmaktadır ve hücrenin akıbetini belirlemektedirler (84).

Çalışmamızda, DNA fragmantasyonlarının belirlenmesinde ve apoptozisin değerlendirilmesinde TUNEL yöntemi kullanılmıştır. Gruplardan elde edilen verilerin sonucuna göre; kontrol grubuna (Grup 1) ait görüntünün sol tarafındaki sekonder follikül ve sağ tarafındaki primer follikül yapılarında doğal atreziye giden folliküller tek tük apoptotik hücre olarak görülmüştür. Torsiyon- detorsiyon grubu (Grup 3) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında apoptotik hücre artışının istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,01$ ) olduğu bulunmuştur. Torsiyon- detorsiyon grubu (Grup 3 ) ile iskemiden 2 saat önce 200 mg/kg yaban mersini verilip 1 saat iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon işlemi yapılan grup ( Grup 4) karşılaştırıldığında Grup 3'e göre apoptotik hücrelerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı ( $p<0,01$ ) bulunmuştur. Hematoksilen & Eozin ile boyanmış doku örnekleri ile TUNEL kesitlerindeki görüntüler gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık açısından birbirini destekleyici bulunmuştur. Her iki boyamada da en çok hasarın Grup 3' te olduğu ve kontrol grubuna en yakın grubun ise Grup2 ve Grup 4 olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak ovaryum torsiyonunda, detorsiyon yapılarak konservatif yaklaşım planlanan olgularda iskemiye durduracak veya geri döndürecek bir ajanın varlığı bu hastalarda tedavi planlanmasına katkıda bulunabilir. Bu amaçla çalışmamızda sıçan

ovaryumunda, torsiyon ve detorsiyon yapılarak oluşturulan deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde yaban mersininin etkisi araştırılmıştır.

İskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak ve önlemek için birçok farmakolojik ajanla ve antioksidanla farklı çalışmalar yapılmıştır. Yaban mersini ile ilgili olarak farklı doku ve organ sistemlerinde gerek reperfüzyon hasarı gerekse antioksidan etkinlikleri bakımından çeşitli deneysel araştırmalar yapılmıştır (85-87). Bu çalışmalar göz ve böbrek dokuları ile vasküler, nörovasküler ve kardiyak sistemlere ait çalışmalar olup, günümüze kadar sıçan ovaryumunda torsiyon- detorsiyon modelinde yaban mersini ile ilgili yapılmış bir çalışma bildirilmemiştir. Çalışma bu açıdan önemlidir. Ayrıca çalışmalarda genellikle iskemi öncesi antioksidan verilip etkinliği değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise hem iskemi öncesi hem de iskemi sonrasında yaban mersini vererek farklı gruplar oluşturulmuştur. Böylece antioksidan maddenin etkinliği hem koruyuculuk hem de tedavideki rolü yönünden değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, yaban mersininin ovaryumdaki iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede ve tedavide koruyucu etkisinin olduğu söylenebilir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Hibbard L. Adnexal torsion. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152:456–61.
2. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim* 2009; 2: 3–8.
3. Cass DL. Ovarian Torsion. *Semin Pediatr Surg* 2005; 14:8692.
4. Hasiakos D, Papakonstantinou K, Kontoravdis A, et al. Adnexal torsion during pregnancy: Report of four cases and review of the literature. *J. Obstet. Gynaecol. Res* 2008; 34: 683–687.
5. Meyer JS, Harman CM, Harty MP, et al. Ovarian torsion: Clinical and imaging presentation in children. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 1433–6.
6. Celik O, Turkoz Y, Hascalik S, et al. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia- reperfusion injury in rat ovary *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 117:183–8.
7. Kara M, Daglioglu YK, Kuyucu Y, et al. The effect of edaravone on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 162:197-202.
8. Baş H, Kara Ö, Kara M, Pandır D. Protective effect of vardenafil on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Turkish J Med Sci* 2013; 43: 684-689
9. Ergun Y, Koç A, Dolapçioğlu K. The protective effect of erythropoietin and dimethylsulfoxide on ischemia-reperfusion injury in rat ovary, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 152: 186–190
10. Sapmaz M, Topcu Y, Uz YH, et al. Vitamin E modulates apoptosis and c-jun N-terminal kinase activation in ovarian torsion-detorsion injury. *Exp Mol Pathol* 2013; 95: 213-9.

11. Neto CC. Cranberry and bluberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 652-664.
12. Zarfa-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, et al. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 675-683.
13. Wang Y, Chang CF, Chou J, et al. Dietary supplementation with blueberries, spinach, or spirulina reduces ischemic brain damage. *Exp Neurol*. 2005; 193: 75-84.
14. Ziberna L, Lunder M, Moze S, et al. Acute cardioprotective and cardiotoxic effects of yaban mersini anthocyanins in ischemia-reperfusion injury: beyond concentration-dependent antioxidant activity. *Cardiovasc Toxicol*. 2010; 10: 283-94.
15. Jakesevic M, Aaby K, Borge GI, et al. Antioxidative protection of dietary bilberry, chokeberry and *Lactobacillus plantarum* HEAL19 in mice subjected to intestinal oxidative stress by ischemia-reperfusion. *BMC Complement Altern Med*. 2011; 11: 8.
16. Clement PB. Anatomy and Histology of the Ovary. In Kurman R (ed): *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*, 5th ed. New York, Springer- Verlag. 2002; 649-650.
17. Leslie PG, James LH. *Color Atlas of Histology*. 2009; 13: 978-0-7817-9828-0
18. Dursun N. *Veteriner Anatomi II*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı. Medisan Yayınevi. Ankara. 2008; ISBN 975-7774-09-X.
19. Mülazımoğlu S, İde T, Aslan S. Ratlarda Üreme. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. Ankara Üniversitesi. Veteriner Fakültesi. 2011; DOI: 10.4328/JCAM.585.
20. [https://www.biologycorner.com/worksheets/rat\\_urogenital.html](https://www.biologycorner.com/worksheets/rat_urogenital.html)
21. Sadler TW. *Langman's Medikal Embriyolojisi (Çev.A.C Başaklar, K Sönmez) 7. Basım*, Palme Yayıncılık İstanbul, 2007; 1-20
22. Karabulut O, Delilbaşı L. Oogenezis, Oosit Toplama Prosedürü, Oosit Morfolojisi in vitro Maturasyon, In: Delilbaşı L.(Ed). *IVF laboratuar Yöntemleri*. 2007; 85-86

23. Kierszenbaum A L (Ed). Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Folikül gelişimi ve Menstrual Döngü .Çev. R. Demir. Palme Yayıncılık, Ankara, 2006; 566-572
24. Bayraktaroğlu AG. Deneklerin Histolojik Özellikleri Bunların Deneysel Çalışmalarda Sınırlayıcı Yönleri. J Clin Anal Med. 2012; 33-38.
25. Stokes KY, Granger DN. Hypercholesterolemia, its impact on ischemia reperfusion injury. Expert Rev Cardiovasc Ther 2005; 3: 1061-70.
26. Dorweiler B, Pruefer D, Andrasi TB, et al. Ischemia-Reperfusion Inj Pathophysiol Clin Implicat. Eur J Trauma Emerg Surg 2007; 33: 600-612.
27. Aydemir O ve Çelebi S. Deneysel retinal iskemi ve reperfüzyon oluşturulan kobaylarda vitamin E türevlerinin glutasyon düzeyine etkisi. Fırat Üniv Sağ Bil Derg 2002; 16: 257-261
28. Ishihara M, Nacano T. Postischemic reperfusion in the eye of young and aged rats. Jpn J Physiol 2000; 50: 125-132
29. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-83.
30. Kukan M. Emerging roles of proteasomes in ischemia-reperfusion injury of organs. J Physiol Pharmacol 2004; 55: 3-15.
31. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia-reperfusion: a review. Acta Cir Bras 2005; 20: 336-343.
32. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. Ann Thorac Surg. 2003; 75: 644-648.
33. Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain. Brain Res Bull 1999; 48: 233-238.
34. Graif M, Shalev J, Engelberg S, et al. Torsion of the ovary: sonographic features. Am J Roentgenol 1984; 143: 1331-1334
35. Gökmen G. Sistemik Anatomi, İzmir Güven Yayınevi. 2003; 45-51
36. Gutteridge, JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995; 41: 1819-1828
37. Fernandez V, Simitzu K. Effects of hyperthyroidism on rat liver Glutathione Metabolism. 1991; 129: 85-91
38. Halliwell B. Oksidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. Free Radical Res. 1996; 25: 57-74.

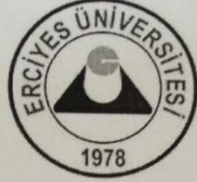
39. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klin Gel* 1998; 11: 336-41
40. Erden M. Serbest Radikaller. *Turk Klin. Tıp Bil Derg* 1992; 12: 201-7
41. Seitz HK, Stickel F. Risk factors and mechanisms of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress. *Biol Chem* 2006; 387: 349-360
42. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40
43. Bingöl S, Aydın S, Açıkgöz Ş. Free radicals. *Med J Ankara Hosp* 1993; 28: 2
44. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49: 481-93
45. Collard C.D, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiol* 2001; 94: 1133-8
46. Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. *Toxicol Lett* 2003; 137: 169 - 174
47. Yilmaz B, Kilic S, Aksakal O, et al. Melatonin causes regression of endometriotic implants in rats by modulating angiogenesis, tissue levels of antioxidants and matrix metalloproteinases. *Arch Gynecol Obstet* 2015; 292: 209-216
48. Byung PY. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiol Rev* 1994; 74: 139-172
49. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, et al. Algal antioksidanlar, *EÜ Su Ürünleri Derg* 2006; 23: 85-89
50. Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol* 2004; 207: 3221 -3231
51. Çelik H. Karadeniz bölgesindeki asitli topraklar için mükemmel bir meyve, yaban mersini. *Çiftçi Dünyası* 2006; 2: 3-7
52. Prior RL, Lazarus S, Cao G, et al. Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium Spp.*) using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 1270–1276

53. Vvedenskaya IO, Rosen RT, Guido JE, et al. Characterization of flavonols in cranberry (*Vaccinium macropon*) powder. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 188–195
54. Çelik H, Odabaş F. Yüzyılın meyvesi, maviyemiş (yaban mersini) (*Vaccinium corybosum* L. ). *Hasad Derg* 2005; 128
55. Krizova L, Vollmannova A, Margitanova E, et al. Can be blueberries the risk food and raw material. *J. Micro. Bio. Food Sci* 2012; 1:769-776
56. Howell AB, Botto H, Combescure C, et al. Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study. *BMC Infect Dis* 2010; 10: 94.
57. Zhang L, Ma J, Pan K, et al. Efficacy of cranberry juice on *Helicobacter pylori* infection: a double-blind, randomized placebocontrolled trial. *Helicobact* 2005; 10: 139–145
58. Weiss EI, Kozlovsky A, Steinberg D, et al. A high molecular mass cranberry constituent reduces mutan streptococci level in saliva and inhibits in vitro adhesion to hydroxyapatite. *FEMS Microbiol Let* 2004; 232: 89–92
59. Ruel G, Pomerleau S, Couture P et al. Low-calorie cranberry juice supplementation reduces plasma oxidized LDL and cell adhesion molecule concentrations in men. *British J Nutr* 2008; 99: 352–359
60. Caillet S, Cote J, Sylvain JF, et al. Antimicrobial effects of fractions from cranberry products on the growth of seven pathogenic bacteria. *Food Cont* 2012a; 23: 419–428
61. Vu KD, Carlettini H, Bouvet J, et al. Effect of different cranberry extracts and juices during cranberry juice processing on the antiproliferative activity against two colon cancer cell lines. *Food Chem* 2012; 132: 959–967
62. Caillet S, Lorenzo G, Cote J, et al. Free radical scavenging properties and antioxidant activity of fractions from cranberry products. *Food and Nutr Sci* 2012b; 23: 419–428

63. Poyrazođlu E, Velioglu S, Artık N. Bazı fenolik asitlerin, antosiyanin pigmentlerinin ve bunların oluşturdukları kopigmentlerin antioksidan etkilerinin belirlenmesi. *Gıda Teknol Derg* 2002; 27: 93-98
64. Nakajima J, Tanaka I, Seo S, et al. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *Department of Molecular Biology and Biotechnology, Chiba University* 2004; 5: 241-247
65. Wang SY, Camp MJ, Mark KE. Antioksidant capacity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry cultivars. *Food Chem* 2012; 132: 1759-1768.
66. Kähkönen MP, Heinamaki J, Ollilainen V, et al. Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. *J. Sci. Food Agric* 2003; 83: 1403-1411
67. Koca İ, Karadeniz B, Tural S. Antosiyaninlerin antioksidan aktivitesi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 2006*; 133
68. Roy HJ. Why is the blue good for you? RDU LSU AgCenter 2012
69. Rock JA, Thomson JD. Surgery for benign disease of the ovary. *Operative Gynecology*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Raven 1997; 625-644.
70. Busine A, Murillo D. Conservative laparoscopic treatment of adnexal torsion during pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1994; 23: 918-21
71. Eckler K, Laufer MR, Perlman SE. Conservative management of bilateral asynchronous adnexal torsion with necrosis in a prepubescent girl. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 1248
72. Rousseau V, Massicot R, Darwish AA, et al. Emergency management and conservative surgery of ovarian torsion in children: a report of 40 cases. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2008; 21: 201
73. Kruger E, Heller DS. Adnexal torsion: a clinicopathologic review of 31 cases. *J Reprod Med* 1999; 44: 71-5
74. Celik A, Ergun O, Aldemir H, et al. Long term results of conservative management of adnexal torsion in children. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 704-708

75. Davis AM, Feins NR. Subsequent asynchronous torsion of normal adnexa in children. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 687
76. Descargues G, Tinloy-Mauger F, Gravier A, et al. Adnexal torsion, a report on forty-five cases. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol* 2001; 98: 91
77. Dikensoy E, Gocmen A, Sari A. A conservative approach to unilateral ovarian torsion in a rat model. *Saudi Med J* 2007; 28: 1204-1207
78. Dolgin SE, Lublin M, Shlasko E. Maximizing ovarian salvage when treating idiopathic adnexal torsion. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 624-626
79. Cotran RS, Kumar V, Robins SL. Cellular injury and adaptation In robins pathologic basis of disease. WB Saunders Company 1989; 4: 76-79
80. Taskin O, Birincioğlu M, et al. The effects of twisted ischemic adnexa managed by detorsion on ovarian viability and histology: an ischemia-reperfusion rodent model, *Hum. Reprod* 1998; 13: 2823-2827
81. Bakan V, Çıralık H, Tolun F, Protective effect of erythropoietin on torsion/detorsion injury in rat model *J Ped Surg* 2009; 44: 1988–1994
82. Pradeep KS. Anti-ischemic Effect of Curcumin in Rat Brain, *Neurochem Res* 2008; 33: 1036–1043
83. Ergun Y, Koç A, Dolapçioğlu K. The protective effect of erythropoietin and dimethylsulfoxide on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;150: 186–190
84. Mahmoud RH. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Human Reproduction Update* 2005; 11: 162–178
85. Pandir D, Kara O, Kara M. Protective effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on cisplatin induced ovarian damage in rat. *Cytotechnol* 2014; 66: 677-685
86. Veljković M, Pavlović DR, Stojiljković N, et al. Bilberry: Chemical Profiling, in Vitro and in Vivo Antioxidant Activity and Nephroprotective Effect against Gentamicin Toxicity in Rats. *Phytother Res* 2016; doi: 10. 1002/ptr.5738
87. Cheng YP, Ke CY, Kuo CC, et al. Effect of a complex lutein formula in an animal model for light-induced retinal degeneration. *Chin J Physiol* 2016; 59: 202-209

## EK 1. ETİK KURUL KARARI



T.C.  
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(EÜHADYEK)



Tarih: 12.08.2015  
No:15/104

Toplantı Sayısı: 07

Karar

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 12.08.2015 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	KATILMADI
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Çağrı ŞAKALAR	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	KATILMADI
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	KATILMADI
Nükhet KÜTÜK	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	KATILMADI
Serpil SARIOZKAN	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	KATILMADI
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Yard.Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Hamiyet ÜNAL	Yard.Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Osman İBİŞ	Yard.Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Avukat	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Derneği Başkanı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.'dan Prof. Dr. Birkan YAKAN tarafından sunulan "Sıçan Overindeki İskemi-reperfüzon Hasarında Yaban Mersininin Koruyucu Etkisi." başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 12.08.2015  
Etik kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA  
İmza :

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Ad-soyad **Özlem KARA**  
Uyruğu T.C.  
Doğum tarihi 02.11.1971  
Doğum yeri ÜSKÜDAR  
e-mail [ozlemozturk34@hotmail.com](mailto:ozlemozturk34@hotmail.com)

### EĞİTİM BİLGİLERİ

2015-2016 Yüksek lisans, Erciyes Üniversitesi, Kayseri Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı  
2014-2015 Yüksek lisans, Bozok Üniversitesi, Yozgat Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı  
2013-2014 Lisans, Bozok Üniversitesi, Yozgat Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji  
2013-2014 Ön Lisans, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Kurumları İşletmeciliği  
1993-1995 Ön Lisans, Marmara Üniversitesi, Tıbbi Laboratuvar Bölümü

### İŞ DENEYİMİ

2010-Halen Öğrenci  
2003-2010 Özlem Eczanesi  
1995-2003 ARİS İLAÇ İstanbul- Bölge Yöneticiliği

### EĞİTİM VE SERTİFİKA BİLGİLERİ

08-16 Nisan 2013 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası  
2001 Özel Marmara Çağdaş Bilimler Vakfı Öğretim Kurumları  
Bilgisayar İşletmenliği Ofis Programları uzmanlığı sertifikası

### A. ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

**A1.** Bas H, Kara O, Kara M, Pandir D. Protective effect of vardenafil on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. Turk J Med Sci 2013;43(5):684-9.

**A2.** Pandir D, Kara O, Kara M. Protective effect of bilberry (Vaccinium myrtillus L.) on cisplatin induced ovarian damage in rats. Cytotechnology 2014;66(4):677-85.

**A3.** Pandir D, Kara O. Cisplatin induced kidney damage and protective effect of bilberry (Vaccinium myrtillus L.): An experimental study. Turk J Med Sci 2013; 43: 951-6.

**A4.** Pandir D, Kara O. Chemopreventive effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage as shown by the comet assay in peripheral blood of rats. *Biologia* 2014;69(6): 811-6.

### **B. ULUSLARARASI KONGRELERDE YAYINLANAN SÖZLÜ VE POSTER BİLDİRİLERİ**

**B1.** Bas H, Kara O, Kara M, Pandir D, 15th World Congress on Human Reproduction konferansı dahilinde "15th World Congress on Human Reproduction – Venice 2013" bildiri kitapçığındaki " Protective effect of vardenafil on ischemia-reperfusion injury in rat ovary ", Venice, Italy, March, 2013.

### **C. ULUSAL KONGRELERDE YAYINLANAN SÖZLÜ VE POSTER BİLDİRİLERİ**

**C1.** Pandir D, Kara O, Kara M., 11. Ulusal Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi (TJOD 2013) konferansı dahilinde "11. Ulusal Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi" bildiri kitapçığındaki "Protective effect of bilberry on cisplatin induced ovarian damage in rats", 428 pp., Antalya, Türkiye, Mayıs 2013.

### **D. KONGRE KATILIM**

- |                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>5 - 8 Mayıs 2016</b>   | III. Uluslararası Katılımlı Deneysel Hematoloji Kongresi,<br>Kayseri |
| <b>16 - 19 Nisan 2015</b> | II. Uluslararası Katılımlı Deneysel Hematoloji Kongresi,<br>Kayseri  |