



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA İLİ 1. BÖLGE KAMU HASTANELER BİRLİĞİ GENEL
SEKRETERLİĞİ ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

Başhekim: Doç. Dr. Salim ERKAYA

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN OVER
TORSİYONU MODELİNDE TRİMETAZİDİN'İN
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ TEDAVİSİNDEKİ ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Aylin ÖNDER DİRİCAN

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Melike DOĞANAY**

**ANKARA
2016**



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA İLİ 1. BÖLGE KAMU HASTANELER BİRLİĞİ GENEL
SEKRETERLİĞİ ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

Başhekim: Doç. Dr. Salim ERKAYA

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN OVER
TORSİYONU MODELİNDE TRİMETAZİDİN'İN
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ TEDAVİSİNDEKİ ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Aylin ÖNDER DİRİCAN

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Melike DOĞANAY**

**ANKARA
2016**

TEŞEKKÜR

Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ndeki uzmanlık eğitimim boyunca her zaman disiplinli, özenli, hoşgörülü yaklaşımı ile bizlere örnek olan, eğitimimde çok büyük katkısı ve emeği olan, desteğini her zaman hissettiğim, tez hazırlama dönemim süresince bana içtenlikle bilgi ve beceri ile yol gösteren, çok kıymetli hocam ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Melike DOĞANAY'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bizler için iyi bir çalışma ortamı sağlayıp, eğitimimize destek olan başhekimimiz sayın Doç. Dr. Salim ERKAYA'ya,

Eğitim sürem boyunca desteğini hep yanımda hissettiğim, gerek tıbbi gerekse günlük hayatta bilgi, beceri ve tecrübelerini esirgemeyen tüm hocalarıma, başasistanlarımıza ve uzmanlarımıza,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, zorlu asistanlık günlerimi kolaylaştıran tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize, ebelerimize ve tüm hastane personelimize,

Asistanlık hayatına başladığımız ilk günden beri, iyi günde ve kötü günde hep beraber olduğumuz, kocaman bir aileye dönüştüğümüz sevgili dönem arkadaşlarıma,

Her zaman ve her koşulda daima yanımda olan, sevgi ve sabırlarıyla iyi bir insan iyi bir hekim olmam için sonsuz destek ve fedakârlıkla beni yetiştiren annem Ayla Önder'e babam Ekrem Önder'e,

Sevgi, bağlılık ve her zaman her hususta gösterdiği destek için sevgili kardeşim Pınar Önder Akçıl'e,

Hayatımın her anında yanımda olan, benden sevgi, destek ve anlayışını esirgemeyen sevgili eşim Emrah Dirican'a,

Doğduğu andan itibaren hayatıma anlam katan ve hayata başka bir yerden bakmamı sağlayan kıymetli kızım Nevbahar'a

SONSUZ TEŞEKKÜRLER

Dr. Aylin ÖNDER DİRİCAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
RESİMLER VE GRAFİKLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. OVER	4
2.1.1. Over Anatomisi	4
2.1.2. Over Histolojisi	6
2.1.3. Over Embriyolojisi ve Oogenez	8
2.1.3.1. Over Embriyolojisi	8
2.1.3.2. Ooganal Çoğalma ve Oosit Oluşma Evresi	10
2.1.3.3. Folikül Oluşma Evresi.....	11
2.1.4. Over Fizyolojisi.....	14
2.1.5. Yaşa Bağlı Over Dokusu	18
2.1.5.1. Yenidoğan Overi	18
2.1.5.2. Çocuklukta Over	18
2.1.5.3. Pubertede Over.....	19
2.2. RATLARDA FOLİKÜL GELİŞİMİ VE ÜREME SİSTEMİ	19
2.3. ADNEKSİYAL TORSİYON.....	23
2.3.1. Tanım	23
2.3.2. Epidemiyoloji	24
2.3.3. Patofizyoloji	25
2.3.4. Risk Faktörleri.....	25
2.3.5. Klinik	26
2.3.6. Fizik Muayene	27
2.3.7. Tanı.....	28

2.3.8. Tedavi	30
2.4. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI.....	32
2.4.1. Serbest Radikaller.....	36
2.4.1.1. Serbest Radikallerin Kaynakları	37
2.4.1.2. Serbest Radikallerin Etkileri	42
2.4.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)	42
2.4.3. Komplemanın Rolü.....	45
2.4.4. Endotel Hücresinin Rolü.....	45
2.5. OKSİDATİF STRES VE OKSİDAN/ANTİOKSİDAN ÇEVRE.....	47
2.5.1. Oksidan Kaynaklar	47
2.5.1.1. Endojen Oksidan Kaynakları	47
2.5.1.2. Ekzojen Oksidan Kaynakları	48
2.5.2. Antioksidan Savunma Sistemi	48
2.5.2.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar	49
2.5.2.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar	50
2.5.2.3. Eksojen Antioksidanlar.....	50
2.6. MALONDİALDEHİT (MDA).....	51
2.7. OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SEVİYE	52
2.7.1. Total Antioksidan Seviye (TAS).....	52
2.7.2. Total Oksidan Seviye (TOS).....	52
2.7.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	52
2.8. TRİMETAZİDİN (TMZ).....	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	56
3.1. HAYVAN BAKIMI VE TEDAVİSİ	56
3.2. GRUPLAR VE CERRAHİ PROSEDÜR	57
3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZ	59
3.3.1. MDA Ölçümü.....	59
3.3.2. TAS, TOS ve OSİ Ölçümleri	59
3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	61
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	61
4. BULGULAR	62
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	63

4.1.1. Ödem.....	64
4.1.2. Vasküler Konjesyon	65
4.1.3. Hemoraji	67
4.1.4. PMNL İnfiltrasyonu	68
4.1.5. Folikül Dejenerasyonu.....	70
4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR	76
4.2.1. MDA	76
4.2.2. Total Antioksidan Seviye (TAS).....	77
4.2.3. Total Oksidan Seviye (TOS).....	78
4.2.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	78
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇ	90
ÖZET	91
ABSTRACT	92
KAYNAKLAR.....	93
EKLER.....	119
Ek-1. ETİK KURUL ONAYI.....	119

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'- Azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonik asit)
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
AFP	: Alfa Feto Protein
APAF-1	: Apoptozis proteaz aktive edici faktör-1
ATP	: Adenozin trifosfat
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CAT	: Katalaz
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cNOS	: Konstitütif (yapısal) nitrik oksit sentetaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentetaz
CRP	: C-Reaktif Protein
D	: Diöstrus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ET	: Endotelin
ETZ	: Elektron transport zinciri
FSH	: Follikül Uyarıcı Hormon
GH	: Büyüme Hormonu
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
HCG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
H&E	: Hematoksilen&Eozin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HNO-	: Nitroz oksit
HNO₂	: Nitroz oksit
ICAM-1	: İnterselüler adhezyon molekülü 1
İ	: İskemi
IL-1	: İnterlökin-1
IFNγ	: İnterferon gamma

İ/R	: İskemi Reperfüzyon
iNOS	: İndüklenebilen nitrik oksit sentetaz
KD	: Ksantin dehidrogenaz
KO	: Ksantin oksidaz
LH	: Luteinizan Hormon
LT	: Lökotrien
LT-B₄	: Lökotrien B ₄
MAO	: Monoaminoksidaz
MCP	: Monosit kemoatraktan protein
MDA	: Malondialdehit
M	: Metöstrus
MIP	: Makrofaj inflamatuvar protein
MPO	: Myeloperoksidaz
MR	: Manyetik rezonans
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	: Nitrik Oksit
NO₃⁻	: Nitrat
N₂O₃	: Nitrojen trioksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO₂⁻	: Nitrojen dioksit
NOX	: NADPH oksidaz
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH⁻	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
Ö	: Östrus
P	: Proöstrus
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PECAM-1	: Trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1
PG	: Prostoglandin

PI3K-Akt	: Fosfotidil inositol 3 kinaz-protein kinaz
PKC	: Protein Kinaz C
PKG	: Protein Kinaz G
PMNL	: Poli Morfo Nükleer Lökosit
PSGL-1	: Glikoprotein 1
RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
RONOO	: Alkil peroksinitrat
ROM	: Reaktif oksijen metabolitleri
S	: Sham
SOA	: Serum oksidasyon aktivitesi
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
RO₂	: Peroksil
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAA	: Total antioksidan aktivite
TAC	: Total antioksidan kapasite
TAOP	: Total antioksidan güç
TAS	: Total antioksidan seviye
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
T/D	: Torsiyon/Detorsiyon
TDF	: Testis determining faktör
TMZ	: Trimetazidin
TNFα	: Tümör nekrozis faktör alfa
TOS	: Total oksidan seviyesi
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TP	: Total peroksit
Tx	: Tromboksan
SRY	: Sex determining faktör
USG	: Ultrason
ZP	: Zona Pellusida

RESİMLER VE GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa No:
Resim 1: Over torsiyonu	24
Resim 2: Rat overlerinde iskemi oluşturulması.....	58
Resim 3: Grup 1(Sham Grubu)'den alınan over örneğinde normal histolojik yapı izlenmekte. Normal bir Graff Folikülü (kırmızı ok). H&E.....	72
Resim 4: Grup 2 (İskemi Grubu)'den alınan overde ciddi yaygın hemoraji, folikül çevresindeki küboidal hücreler arasında ayrışma ve foliküler kaviteye granüloza hücrelerinin dökülmesini içeren folikül dejenerasyonu (siyah daireler). H&E.....	72
Resim 5: Grup 2 (İskemi Grubu)'den alınan overde ciddi vasküler konjesyon (mavi oklar) ve ciddi ödem (mavi daireler). H&E.....	73
Resim 6: Grup 3 (iskemi/reperfüzyon grubu)'den alınan overde izlenen vasküler konjesyon (mavi oklar), hafif hemoraji (yeşil ok), folikül çevresindeki küboidal hücrelerin ayrışması ve folliküler kaviteye granüloza hücrelerinin dökülmesini içeren hafif folikül dejenerasyonu (sarı daireler). H&E.....	73
Resim 7: Grup 3 (iskemi/reperfüzyon grubu)'den alınan overde yaygın hemoraji ile beraber hafif derecede PMNL infiltrasyonu (mavi ok). H&E.....	74
Resim 8: Grup 4 (sham + 5 mg/kg oral TMZ verilen grup)'den alınan overde normal over histolojisi (normal foliküller, korpus luteum, korteks, medulla ve hiler yapı). H&E.....	74
Resim 9: Grup 5 (iskemi/reperfüzyon + 5 mg/kg oral TMZ verilen grup)'den alınan overde normal foliküller (mavi oklar) H&E.....	75
Resim 10: Grup 6 (iskemi/reperfüzyon + 5mg/kg oral TMZ verilen grup)'dan alınan overde izlenen hafif hemoraji (mavi ok) ve normal foliküller. H&E.	75
Grafik 1: Ödem şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.....	65
Grafik 2: Konjesyon şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.	66

Grafik 3: Hemorajinin şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.	68
Grafik 4: PMNL infiltrasyonu şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.	69
Grafik 5: Folikül dejenerasyonu şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.	71
Grafik 6: Gruplar arası ortalama MDA değerleri dağılımı.	77
Grafik 7: Gruplar arası ortalama TAS değerleri dağılımı.	77
Grafik 8: Gruplar arası ortalama TOS değerleri dağılımı.	78
Grafik 9: Gruplar arası ortalama OSİ değerleri dağılımı.	79



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1:	Overin anatomik görünümü	4
Şekil 2:	Overin arter ve venleri	5
Şekil 3:	Overin histolojik yapısı.....	8
Şekil 4:	Overin embriyolojik gelişimi A. Gelişimin 7. haftası B. Gelişimin 5. ayında over ve genital kanalların embriyolojik gelişimi.....	10
Şekil 5:	Primordial germ hücre formasyonu, oogenez ve folikülogenezde rol alan faktörler	14
Şekil 6:	Dişi ratlarda ürogenital sistemin anatomisi.....	20
Şekil 7:	Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları	34
Şekil 8:	İskemi-reperfüzyon hasarında ksantin oksidaz aracılı SOR oluşumu.....	38
Şekil 9:	İ/R’de bölgeye göç eden fagositik hücrelerde görülen “solunumsal patlama”	40
Şekil 10:	Nitrik oksit sentaz yolağı.	41
Şekil 11:	İ/R hasarında oluşan olaylar dizisi.....	46

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1:	Grupların tüm parametreler açısından karşılaştırılması	62
Tablo 2:	Tüm parametrelerin ikili gruplar halinde P değerleri açısından karşılaştırılması.....	63
Tablo 3:	Histopatolojik bulguların varlığı açısından grupların karşılaştırılması.....	63
Tablo 4:	Gruplar arası ödemin histopatolojik grade dağılımı	64
Tablo 5:	Gruplar arası vasküler konjesyonun histopatolojik grade dağılımı	66
Tablo 6:	Gruplar arası hemorajinin histopatolojik grade dağılımı	67
Tablo 7:	Gruplar arası PMNL infiltrasyonunun histopatolojik grade dağılımı	69
Tablo 8:	Gruplar arası folikül dejenerasyonunun histopatolojik grade dağılımı	70
Tablo 9:	Grupların TAS, TOS ve OSİ sonuçlarına göre karşılaştırılması	76
Tablo 10:	MDA, TAS, TOS ve OSİ parametrelerinin ikili gruplar halinde P değerleri açısından karşılaştırılması	76

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adneksiyal torsiyon, sık görülmemekle birlikte %2,7 prevalansla jinekolojik acil cerrahinin önemli bir nedenidir (1). Adneks torsiyonu ile premenarş ve reproduktif yıllarda daha sık karşılaşılmamasına rağmen herhangi bir yaşta da görülebilir (2).

Torsiyon adneksiyel elemanların kendi etrafında dönmesi ile oluşur. Çoğunlukla over ve fallop tüpü, patolojik bir şekilde broad ligamentin etrafında dönmektedir. Daha az sıklıkla, yalnız over, mezoveryum etrafında ve daha nadir olarak da yalnız fallop tüpü, mezosalpenks etrafında dönebilir (3). Torsiyon normal adnekte meydana gelebilir ancak olguların %50 ila %80'inde, tek taraflı overyan kitle saptanmıştır (4).

Vasküler pediküller dönse de adneksiyel yapıları kapsayan kan akımının devamlılığını değerlendirmede iki anahtar nokta vardır. Birincisi, adneksler, uterus ve over damarlarının dallarından beslenir. Torsiyon bunlardan birini kapsarken diğerini kapsamayabilir. İkincisi, adnekte düşük basınçlı venlerin akımı, torsiyone olmuş pedikülle baskılansa da başlangıçta yüksek basınçlı arterler basınca karşı direnirler. Torsiyon süresince, içeriye akımın sürmesi, kanın dışarıya çıkışının durması sonucunda adnekte kan toplanır ve ödem olur, ancak infarktüs oluşmaz. Bu nedenle erken torsiyon olgularının konservatif olarak tedavisi yapılabilir. Ancak stromal ödemin devam etmesi arterlerde infarktüs ve nekroza neden olabilir ve cerrahi gerekebilir (5).

Nekroz gelişmesi için overin dönme derecesi ve süresi ile ilgili bilgiler kesin değildir. Over torsiyonu veya inkarserasyonu sonucu canlılığını yitirdiği düşünülen ve makroskopik görünüm olarak nekrotik olduğu değerlendirilen overlerde tedavi halen tartışmalıdır. Detorsiyon ile konservatif yaklaşım da son yıllarda, ooferektomiye göre giderek daha fazla önerilmektedir. Çocuk yaş grubunda torsiyona neden olan kitlelerin çoğunlukla benign olması, torsiyonların %25'inde overlerin normal olması (idiyopatik adneksiyal torsiyon), ooferektomi geçirenlerde ileride karşı overde asenkronize torsiyon olması halinde oluşabilecek hormonal yetersizlik ve sterilitate riski nedeniyle organ koruyucu cerrahi yapılması önemlidir (2, 6, 7).

Over torsiyonu olgularında hücreseel düzeyde over rezervini olumsuz etkileyen esas mekanizmalar overin hipoperfüzyonuna bağı doku iskemisi, detorsiyon sonrasında ise oluşan serbest radikaller aracılığıyla meydana gelen reperfüzyon hasarıdır. Uzamış iskemiler ayırt edildiğinde, overde şiddetli hasar izlenen adneksiyal torsiyon olgularında dahi overin fonksiyonlarını koruduğı izlenmiş olup, bu arteriyel kan akımının tam olarak kesilmediğini göstermektedir. Düşük seviyede de olsa ovaryan arter ya da uterin arter yoluyla overin arteriyel akımı bir süre devam etmektedir. Bu nedenle overi koruyabilmek için erken tanı ve müdahale ile en erken dönemde overde gelişebilecek irreversibl hasarın önüne geçilmesi gerekmektedir (8). Adneks detorsiyone edildiğı zaman overlerin reperfüzyonuna bağı bazı lokal ve sistemik etkiler ortaya çıkar. Overin torsiyon/detorsiyon (T/D)'u overlerde iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı yaratır (9).

İskemi ve reperfüzyon sürecinde; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun azalması, adenosin trifosfat (ATP)'ın azalması, hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşarak, oksidatif strese neden olur (10-11). İskemi sırasında düşük miktarda SOR meydana gelmektedir. Reperfüzyon döneminde ise dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda SOR oluşmakta ve lipid peroksidasyonuna yol açarak doku hasarını arttırmaktadır (12). SOR ve dokulara verdikleri hasar antioksidanlar sayesinde önlenabilir. Bu antioksidanlar katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferaz (GST) gibi endojen kaynaklı; folik asit, vitamin C, vitamin E gibi eksojen kaynaklı olabilir (13).

Bu konuda yapılan çalışmalarda, birtakım ilaçların overdeki iskemi/reperfüzyon hasarını engelleme etkinliği araştırılmıştır. Bunun için genellikle kullanılan model, ratlarda oluşturulan over iskemi/reperfüzyon modelidir. Bu modelde tek taraflı overde 2 saat süresince dolaşımın engellenmesi ile iskemi oluşturulduktan sonra, 2 saatlik reperfüzyon sağlanarak oluşan hasarın mikroskopik ve biyokimyasal parametrelerle ölçümü yapılmaktadır. Yapılan deneylerde iloprost, amlodipin, α -lipoik asit, edaravon, selenyum, montelukast, kafeik asit fenetil ester, atorvastatin gibi çeşitli ilaç ve maddelerin bu konudaki etkinliği gösterilmiş olup, klinikte rutin kullanıma girebilecek bir ajan henüz tanımlanmamıştır.

Bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan adneksiyal torsiyonda, over dokusunda gelişen I/R hasarı üzerine 3-keto-asil 3A tiolaz inhibitörü olan trimetazidinin primer olarak reperfüzyon hasarını nleme, sekonder olarak ise over rezervine olan olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



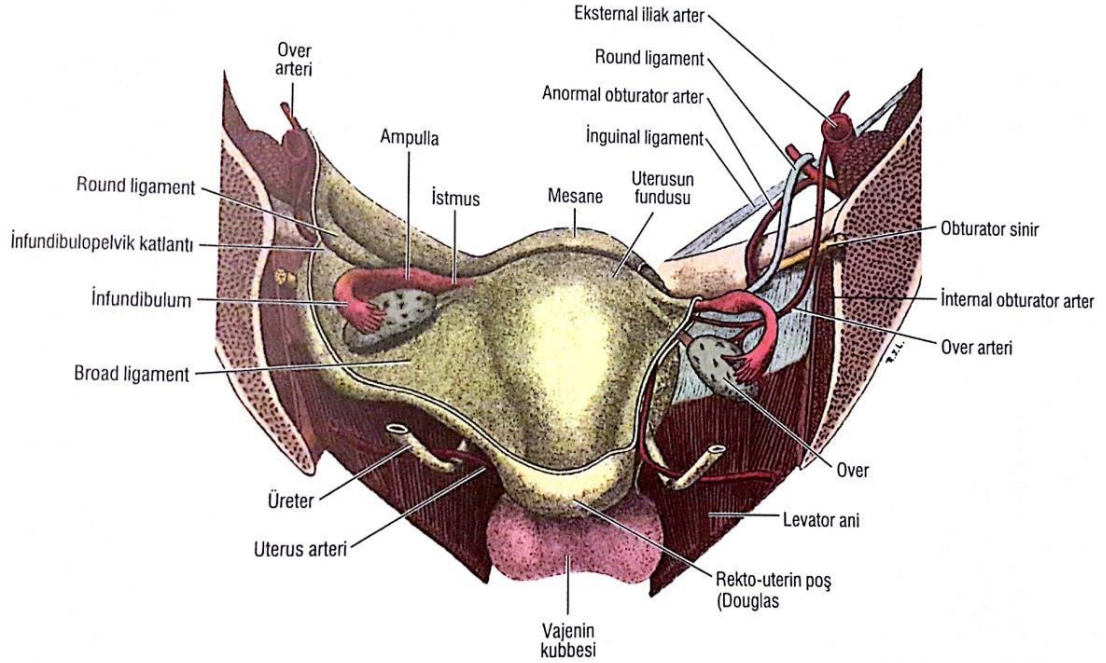
2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVER

2.1.1. Over Anatomisi

Her biri ovoid şekilli, beyaz renkte çift pelvik gonadal organ olan overler fossa ovarica denilen pelvis minör yan duvarındaki çukurda yerleşmişlerdir. Overler asimetrik olup sağdaki soldakinden daha büyüktür. Yenidoğanda overler ortalama 13x5x3 mm boyutlarında ve 3-4 gr ağırlığındadır. Pubertede overler 30x20x15 mm, erişkinde ise yaklaşık olarak 20-50x10-30x5-15 mm ölçüde 5-8 gr ağırlıktadır.

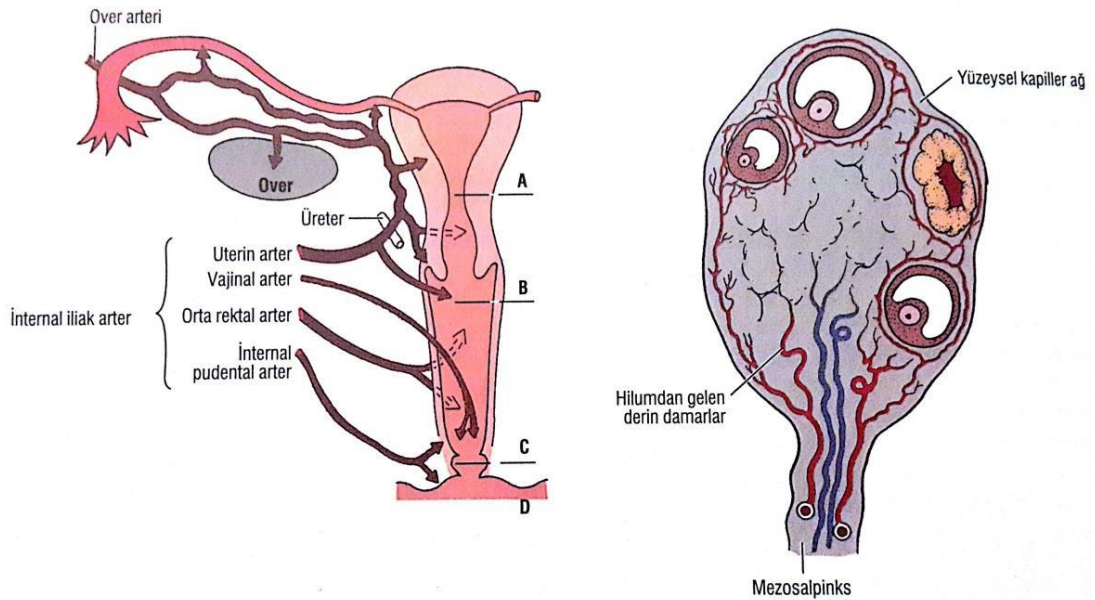
Uterusun her iki yanında lateral pelvik duvara yakın, broad ligamanının arkasında ve rektumun önünde yer alırlar. Her iki over anterior (hiler) yüzünden iki katlı periton kıvrımıyla (mezoovaryum) broad ligamanının arka yüzüne, medial polden uteroovaryan ligaman ile aynı taraf uterus kornusuna, lateral polden infundibulopelvik ligaman (ligamentum ovarii proprium) ile lateral pelvik duvara bağlıdır (14) (Şekil 1).



Şekil 1: Overin anatomik görünümü (15).

Fossa ovarica'yı üstten arteria iliaca eksterna, arkadan arteria iliaca interna ve üreter, aşağı ön taraftan ise ligamentum latum uteri'nin tabanı sınırlar. Çukurun dibinde, peritonun altından arteria, vena obturatoria ve nervus obturatorius geçer (16).

Overin mezoovaryuma yapışan ön kenarında hilus bulunur. Overin damarları ve sinirleri buradan girer ve çıkarlar. Over abdominal aortadan ayrılan ovaryan arter tarafından beslenir. Ovaryan arter pelviste ligamentum suspensorium ovarii içerisinde seyrederek ve hilum ovarii'den ovaryuma girer. Uterin arterin ovaryan dalı da overin arteriyel beslenmesine katkıda bulunur ve ovaryan arter dalları ile anastomoz yapar. Buradan çıkan yaklaşık 10 arteriyel dal over hilusundan medullaya girer. Bu anastomozların farklı tip varyasyonları mevcuttur. Tip 1 ve tip 2'de over hem ovaryan arterden, hem de uterin arterden beslenmektedir (%56). Tip 3'de sadece uterin arterden (%4), tip 4'de ise sadece ovaryan arterden beslenmektedir (%40). Ovaryan arterden kanlanmanın bozulması durumunda bu kollateral dolaşım overi besler (14, 16, 17). Overin venleri arterleri takip ederek hilusta bir araya gelip plexus oluşturarak ovaryan venlere drene olurlar. Sağ ovaryan ven inferior kaval vene, sol ovaryan ven renal vene drene olur (18-21) (Şekil 2).



Şekil 2: Overin arter ve venleri (15).

Overin lenfatikleri esas olarak foliküllerin teka tabakalarından köken alır. Olgun folikülün granüloza tabakası lenfatiklerden yoksun iken korpus luteumda zengin bir lenfatik ağ mevcuttur. Overin lenfatikleri damarlardan bağımsız olarak stromada ilerleyip hilusta plexus yaparak kan damarlarına yakın seyreder. Mezoovaryuma 4-8 efferent girer ve burada tuba ve uterustan gelen dallarla subovaryan plexusu oluştururlar. Buradan çıkan dallar böbreğin alt polü hizasında üst paraaortik lenf düğümlerine, bir kısmı eksternal iliak, internal iliak ve interaortik lenf düğümlerine, bir kısmı ise common iliak ve inguinal lenf düğümlerine drene olurlar. Over, sempatik visceral innervasyonunu aortikorenal plexustan alır. Ayrıca, over plexusu over damarları ile infundibulopelvik ligamente uzandığı için üst ve alt hipogastrik plexustan da sempatik uyarı alabilir. Overin innervasyonundan sorumlu olan preganglionik sempatik liflerin, spinal kordun T10 ve T11 seviyesinde intermediolateral hücrelerden köken aldığına ve torasik splanknik sinirlerin içinde karına geçtiği düşünülmektedir. Bu sinirler süperior mezenterik arter yakınlarındaki ganglionlarla sinaps yapar. Parasempatik lifler, inferior hipogastrik plexustan, dolayısı ile S2 ile S4 seviyesindeki pelvik splanknik sinirlerden gelir. Bu innervasyon muhtemelen vazodilatör etki yapar. Overden çıkan visceral duyu lifleri, spinal kordun T10, T11 seviyesindeki spinal sinirlere torasik splanknik sinirlerle taşınır. Ağrı duyusunun yansması nedeniyle, over kaynaklı ağrılar göbek çevresinde hissedilir. Dindirilmeyen over kaynaklı karın ağrıları, infundibulopelvik ligament ve içerisindeki sinirlerin kesilmesi ile tedavi edilebilir. Over kaynaklı ağrılar bazen ‘Howsip-Romberg belirtisi’ de denilen obturator sinir yolu ile uyluk iç yüzünden dize kadar olan Skarpa üçgenine de dağılabilir. Bunun nedeni, peritonun ağrı liflerinin obturator sinirden sağlanması olabilir. Bir diğer olası açıklama, pelvisin yan duvarında obturator sinirin over çukurluğuna olan yakınlığıdır. Bu durum over kaynaklı ağrıların obturator sinirin duyu lifleriyle bazen alt ekstremiteye yansmasına yol açar (15, 21-24).

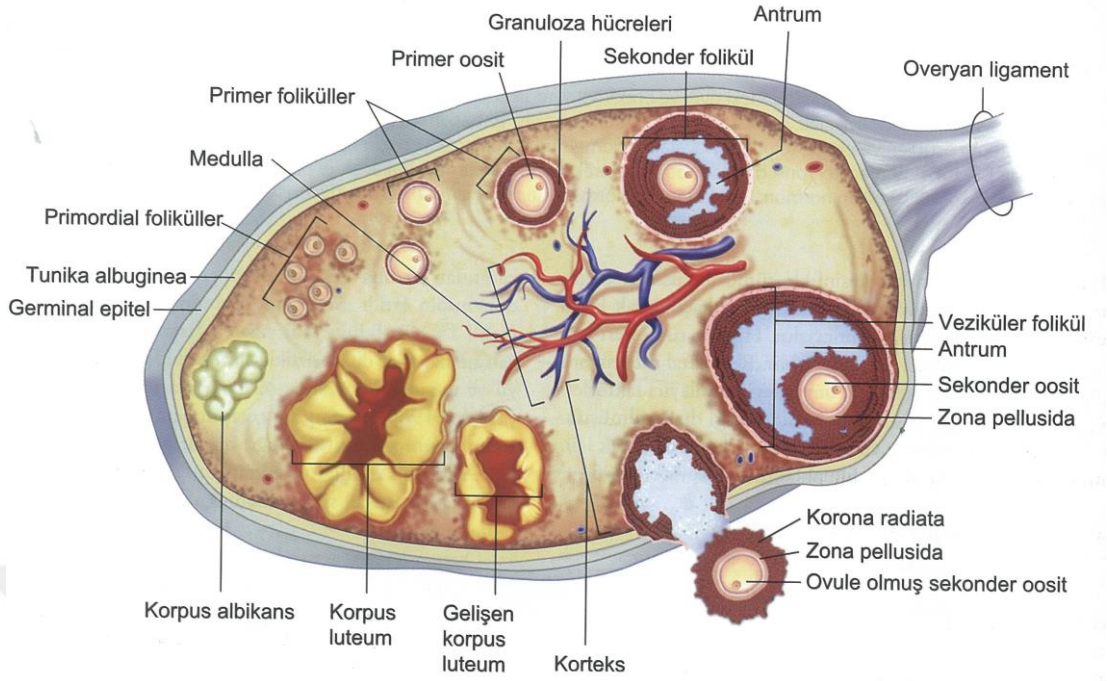
2.1.2. Over Histolojisi

Overin yüzey epiteli tüm overi çevreleyen kısmen psödostratifiye modifiye peritoneal hücrelerden oluşan bir tabakadır. Çöломik epitel ya da primer oositlerin bu epitelden köken aldıkları düşünülen dönemden kalma ismi olan germinal epitel de

denilen bu epitel keratin, EMA, Ber-EP4, CA-125, desmoplakin, vimentin, östrojen ve progesteron reseptörleri, epidermal büyüme faktörü (EGF) ve Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) ile pozitif boyanma gösterir (22, 23, 25). Hücreler basık küboidal ya da kolumnar olabilir (26). Glikojen, asit ve nötral mukopolisakkaritler içerirler (27, 28). Yüzey epiteli kortikal invajinasyonlar yapıp epitelyal inklüzyon glandlarını oluşturur (26, 29). Bunlarda displastik değişiklikler olabilir, bazı otörlere göre yüzey epiteli tümörlerinin çoğunun orijini bu invajinasyonlardır (30).

Over morfolojik olarak korteks ve medulla olmak üzere iki kısma ayrılır. Korteks follikülleri de içeren dış kısmı asellüler kollajenöz bağ dokudan, iç kısmı fibroblastları andıran sıkı yerleşimli işsi hücrelerden oluşmuş bir tabakadır. Medulla ise daha gevşek formda mezenkimal dokudan oluşan kan damarları, sinirleri ve bunları çevreleyen epitel benzeri hücreleri içeren tabakadır (22, 24).

Overin bağ dokusu (stroması) stromal hücrelerden oluşur. Bu hücreler fibroblastları andıran ve çoğunlukla sarmal yapılar yapan ya da storiform patern oluşturan az sitoplazmalı işsi şekilli hücrelerdir. Bu hücreler sitoplazmik lipid içerebildikleri gibi bazıları myoid özelliklere sahiptir ve düz kas aktini ve desmin ile pozitif immun reaktivite gösterirler (22, 31, 32). Ayrıca bu hücreler yoğun bir retiküler ağ ve özellikle kortekste yoğun olmak üzere değişken derecede kollajen ile birbirlerinden ayrılırlar. Kortekste bu kollajen yoğunlaşması tunika albuginea olarak anılmasına rağmen testisteki tunika albuginea kadar yoğun, asellüler ve keskin sınırlı değildir (26). Stromada ayrıca çoğu muhtemelen fibroblastik tipte hücrelerden geliştiği düşünülen luteinize stromal hücreler, enzimatik aktif stromal hücreler, desidual hücreler, düz kas hücreleri, endometrial stromal hücreler, matür adipositler ve nöroendokrin hücreler bulunur (26, 29). Hilus hücreleri testisin leydig hücreleri ile morfolojik olarak aynıdır. Bu hücreler fetal hayatta da vardır ancak çocukluk çağında görülmezler. Pubertede tekrar belirirler. Sayı ve lokalizasyonları değişkendir. Ovaryal stromal proliferasyon ve stromal luteinizasyona paralel olarak gebelik ve postmenapozal dönemde sayıları artar (26, 33, 34).



Şekil 3: Overin histolojik yapısı (35).

2.1.3. Over Embriyolojisi ve Oogenez

2.1.3.1. Over Embriyolojisi

Overin iki temel işlevi birbiri ile yakından ilişkilidir: olgun oositlerin elde edilmesi ve fertilizasyonu takiben endometriumda implantasyonun gerçekleşmesini sağlayacak bir ortamı hazırlayan steroid ve peptit hormonların üretimi. Overlerin endokrinolojik işlevleri folliküllerin ve korpus luteumun oluşması ve ortadan kalkması ile yakından ilişkilidir (36).

Over üç majör hücresel kaynaktan gelişir; yolk kesesi endodermi ve primer oogonium içindeki farklılaşma sonucu meydana gelen primordial germ hücreleri, granuloza hücrelerinde gelişen çölemik metaplazi ve overyan stroma haline gelen gonadal çıkıntıdan kaynaklanan mezenkimal hücreler (36).

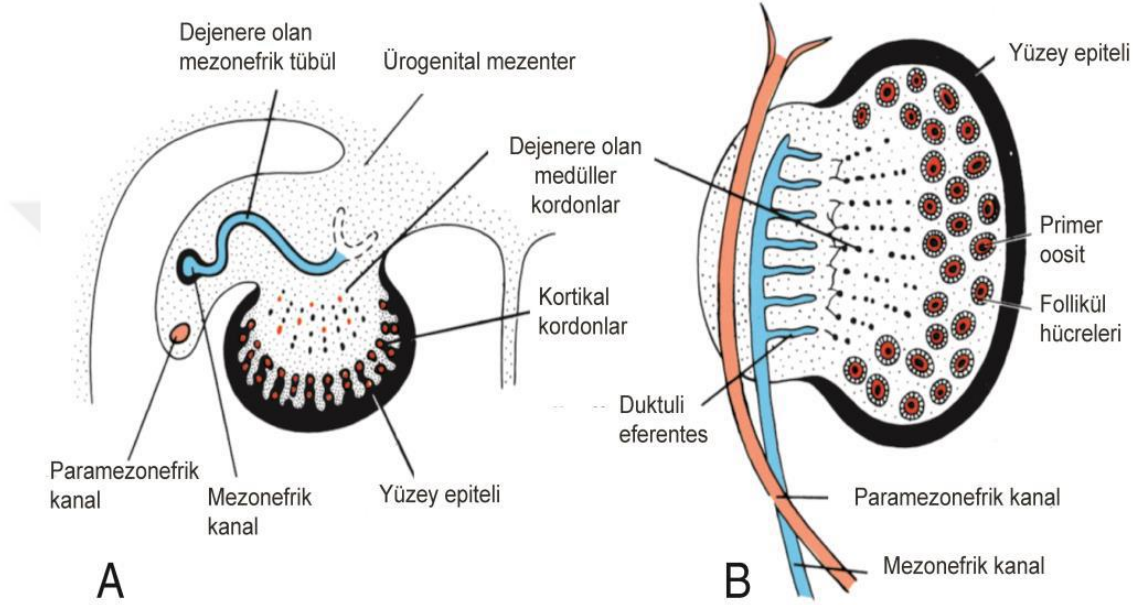
Primordial germ hücreleri, yolk kesesinde gebeliğin 3. haftasında kaudal uçtaki ilkel endoderm ve yolk kesesi komşuluğunda tespit edilir. Ayrıca arka barsaklardaki (hindgut) splanknik mezodermde de kısa bir süre sonra saptanabilir. Bu hücreler, gebeliğin 6. haftasında, genital kabartıdan göç etmeye başlar ve primer seks kordlarını oluşturur (36). Yaklaşık 5.gebelik haftasında, gonadlar yapısal olarak gonadal

çıkıntıları oluşturmak üzere mezonefros üzerinde çölemik çıkıntıyı oluşturur. Mezonefros ve genital çıkıntı birlikte ürogenital çıkıntı olarak adlandırılır. Bu çıkıntının altında mezonefrik kanal bulunmaktadır (37). Gelişimin 6. haftasına kadar genital kabarıklıklar içinde germ hücreleri mevcut değildir. Gonadların over veya testise farklanmasında, primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır. Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabarıklığın kölomik epiteli proliferer olur ve epitel hücreleri altındaki mezenşim içine girerler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Erkek ve dişi embriyolarında bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde birbirinden ayırt edilmesi mümkün değildir. Bu evredeki gonada farklanmamış gonad denir (38). 6. gebelik haftasının sonunda, farklılaşmamış evrenin tamamlanmasıyla, primordiyal germ hücreleri mitoz ile toplam 10,000 gibi bir sayıya ulaşırlar. Gebeliğin 6. haftasında farklılaşmamış gonadlar germ hücrelerini, çölemik epitelyumdan gelişen destek hücrelerini ve gonadal çıkıntının mezenşimini içerir (37).

Eğer farklılaşmamış gonad bir testis yönünde gelişecek ise, bu yönde bir farklılaşma 6-9. gebelik haftalarında olur. Farklılaşmamış gonadın testis olmasını belirleyen faktör, Y kromozomundaki bir genin ürünü olan testis belirleyen faktördür (testis determining factor, TDF). Şu an için, TDF geni lokalizasyonu için en iyi adayın, SRY (sex determining region on the Y chromosome) isimli bir bölgede yerleşik olduğu belirlenmiştir. Testis belirleyici bölgeyi içeren Y kromozomu varlığında gonadlar testise dönüşür (37).

Ovaryumların gelişmesi testislerden daha geç meydana gelir. Testiküler evrimin olmayışı ilkel ve aktif olmayan overin varlığının en belirgin göstergesi sayılır. Erkeğin aksine, dişi iç ve dış genital organların farklılaşması gonadal maturasyonun öncesindedir. Bu olaylar genetik yapılanma ve mezenşimin bölgesel reseptivitesi ile ilgilidir (37). Y kromozomu yoksa gonadlar ovaryumlara farklanır. 10. hafta dolaylarında ovaryum yapısal olarak ayırt edilebilir. Çoğalmaya devam eden dişi gonadın yüzeyel epiteli 7. haftada, alttaki mezenşim içine girmesine rağmen yüzeye yakın kalmaya devam eden kortikal kordonlar adı verilen ikinci nesil kordonlar geliştirir. XX cinsiyet kromozomuna sahip bir embriyoda gonadın medüller kordonları geriler ve kortikal kordonlar gelişir (38). Germ hücreleri bu kordonların içine sokulur.

Daha sonra yüzey epitelinin altında oluşan sıkı bağ dokusu yapısındaki tunika albuginea nedeni ile kordonlar ile epitelin ilişkisi kesilir. 16. haftada bu kordonlar parçalanmaya başlarlar. Her biri bir primordiyal germ hücresinden gelişen bir oogonyum ve çevresinde yassı hücrelerden (folikül hücreleri) oluşan bu yapılar, ilk primordiyal foliküllerdir (39).



Şekil 4: Overin embriyolojik gelişimi A. Gelişimin 7. haftası B. Gelişimin 5. ayında over ve genital kanalların embriyolojik gelişimi (40).

2.1.3.2. Ooganal Çoğalma ve Oosit Oluşma Evresi

Oogonyumlar 20. hafta dolaylarına kadar aktif mitoz ile çoğalarak sayıca 6 milyon civarına ulaşırlar. Bu gonadın ulaşabileceği maksimum kapasitedir. Bu dönemden sonra germ hücre sayısı giderek azalacak ve yaklaşık 50 yıl sonra ise oosit deposu tamamen tükenecektir (37).

Mitoz ile oogonyumlara dönüşen germ hücreleri ilk mayotik bölünmeye girip profaz evresinde durdukları dönemde oositlere dönüşürler. Bu süreç 11-12. haftalarda başlar ve bu belki de rete ovarii tarafından üretilen faktör veya faktörlere bir cevaptır. 1. mayoz bölünmedeki duraksama, folikül hücrelerinin salgıladığı, mayozu inhibe edici bir faktör nedeni ile profaz safhasında durur. Mayozun diploten evresine

ilerlemesi ancak gebeliğin geri kalanında olmakta ve doğumda tamamlanmaktadır. Bir ovum, oositin iki kez mayotik bölünmesinden oluşur; bu bölünmelerin birincisi tam ovulasyon öncesinde, ikincisi (haploid ovum oluşması) ise sperm girişi esnasındadır. Fazla genetik materyal ise her mayotik bölünmede oluşan kutup cisimciği (polar cisimcik) ile atılmaktadır. Gonadotropinler ve çeşitli büyüme faktörleri in vitro şartlarda sadece kumulus granüloza hücreleri tarafından çevrili oositlerde mayozu başlatırlar. Foliküler sıvıda büyük bir kısmı gonadotropinlere cevap olarak kumulus hücreleri tarafından sentezlenen, oositlerde mayoz ve olgunlaşmayı sağlayan bir sterol ailesi mevcuttur. FSH kumulus hücreleri ve oosit arasındaki iletişimi sağlayan gap junction ağına ihtiyaç duyan bir reaksiyon olan mayozu başlatır (37).

Germ hücrelerinin kaybı; germ hücrelerinin mitozu sırasında, mayozun çeşitli evreleri sırasında ve en son olarak folikül oluşumundan sonra da devam eder. Gebeliğin ikinci yarısında oositlerin büyük bir oranda kaybı çeşitli mekanizmalarla açıklanır. Folliküler büyüme ve atrezinin yanında, bir miktar oosit mayoz sırasında gerilemeye uğrar ve granüloza hücreleri tarafından çevrelenmeyen oogonialar dejenerasyona uğrar. Bu olay aktif olarak germ hücre ölümünü sağlayan genlerin etkisi ile gerçekleşir. Bunlara ek olarak kortikal alanda bulunan germ hücreleri gonad yüzeyine göç ederek yüzey epiteline karışırlar veya periton boşluğunda kaybolurlar. Bunun aksine, bütün oositler foliküller içine alındıklarından itibaren, oosit kaybı ancak foliküler büyüme ve atrezi sürecinde olur (37).

2.1.3.3. Folikül Oluşma Evresi

Overdeki temel üreme birimi foliküldür. Folikül granuloza ve teka hücrelerinin meydana getirdiği bir küme tarafından sarılmış bir oositten meydana gelmiştir. Gestasyonun 18-20. haftalarında, hücreden oldukça zengin olan korteks daha derindeki medüller bölgeden kaynaklanan vasküler kanallar tarafından yavaş yavaş delinir ve bu folikül oluşmasının başlangıcını belirtir. Parmak şeklindeki vasküler çıkıntıların kortekse girmesiyle korteks sekonder seks kordlarının görüntüsünü alır. Kan damarları işgal ettikçe ve girdikçe, yoğun kortikal hücre kütlelerini gittikçe daha küçük kısımlara ayırır. Mezenşimal ya da epitelyal kaynaklı perivasküler hücreler de damar ile birlikte sürüklenir ve bu hücreler mayozun birinci evresini tamamlamamış

olan oositleri çevreler. Sonuçta oluşan birim primordiyal folikül-mayozun profaz evresinde duraklamış olan bir oosit ve onun etrafında bir bazal membran tarafından çevrelenen tek katlı ağ şeklinde öncül granüloza hücreleridir. Sonuçta bütün oositler bu şekilde kaplanırlar. Primordiyal folikül oluşumunda kullanılmayan mezenşim kalıntıları folikül aralarındaki ilkel ovaryan stromayı oluşturur. Granüloza hücreleri çölemik epitel veya mezenşim öncülerinin farklılaşmasından oluşur. Primordiyal foliküler gelişim süreci diploten evresindeki bütün oositlerin foliküllerin içine alınmasına kadar sürer ve bu bazen doğumdan hemen sonrasına kadar da uzayabilir (37).

Ovulasyon öncesi dönemde bulunan folikülleri besleyen bir kan damarı olmadığından bu foliküllerin gerekli besinleri alabilmeleri ve metabolik artıklarından kurtulabilmeleri için mutlaka difüzyon ve gap junction oluşması gerekmektedir (41).

Oosit öncül granüloza hücrelerinin oluşturduğu rozetler tarafından çevrelenmesinden hemen sonra, folikülün tamamı duraklama ve atrezi öncesinde, değişik derecelerde olgunlaşmaya başlar. Öncül granüloza hücrelerinden oluşan tabakanın küboidal granüloza hücre tabakasına dönüşmesi ile primer folikülün oluşumu belirlenir (37).

Gelişmekte olan oosit ile oosite komşu ve birbirine komşu granuloza hücreleri arasında gap junction oluşumu meydana gelir (42). Bu gap junction oluşumu; besinlerin, iyonların ve düzenleyici faktörlerin hücreler arasında geçişini sağlar. Aynı oluşum, gonadotropin reseptörü olmayan hücrelerin, gonadotropin reseptörü olan hücrelerden ileti almasını da sağlar. Böylece hormonlara bağlı ortaya çıkan değişiklikler, foliküllere iletilebilir (43).

Bu dönemde; oosit, hücre içermeyen ve zona pellusida (ZP) adı verilen bir örtü salgılamaya başlar. İnsanlardaki zona pellusida, ZP1, ZP2 ve ZP3 olarak isimlendirilen en az üç protein içermektedir. Yakın tarihli çalışmalarda fizyolojik modellere göre, spermin akrozom başındaki reseptörler, ZP3 proteinini tanımaktadırlar. Bu etkileşim, akrozom içeriğinin serbestleşmesini, zona pellusidanın delinmesini ve yumurtanın döllenmesini sağlar. Söz konusu mekanizma, türler arasında farklılık gösterse de, akrozomdan salınan enzimler ZP2 proteininde değişikliklere yol açarak zona

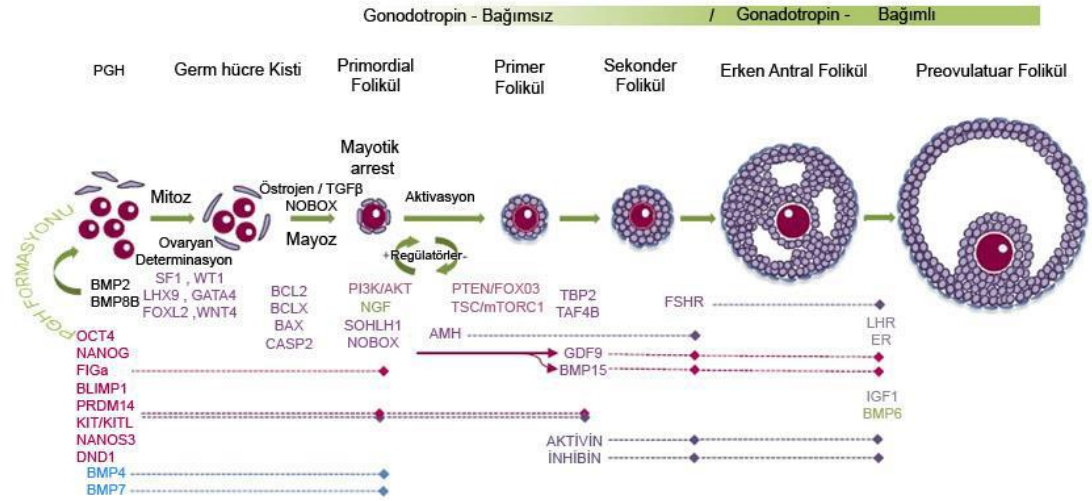
pellusidanın sertleşmesine yol açar. Bu süreç oositin birden fazla spermle döllenmesini engeller (44).

Daha ileri bir farklılaşma ile tamamlanmış bir granuloza hücre çoğalması ile preantral (sekonder) folikül oluşur. Call –Exner cisimciği oluşumu ve bazen de çevre mezenşim hücrelerinden farklılaşan minör tekal tabaka sistemi görülebilir. Preantral foliküller gebeliğin 6. ayında tespit edilebilir ve antral foliküller gebeliğin sonunda az sayıda da olsa belirirler. Teka hücrelerinin folikülleri çevrelemesi gebeliğin ancak son trimesterinde olur (37).

Folikül gelişimi devam ettikçe folikül sıvısı granuloza hücreleri arasında birikmeye başlar ve folikülün ortasında sıvı dolu bir boşluk meydana gelir. Bu aşamadaki foliküle antral folikül denilir. Antrum sıvısının hızla birikmesi ile birlikte büyüklüğü artar ve sonuçta ovulasyon öncesi folikül olan Graaf folikülü oluşur. Antral foliküldeki granuloza hücreleri, histolojik ve işlevsel olarak iki guruba ayrılır. Oositi çevreleyen granuloza hücreleri, kumulus ooforusu oluştururken antrumu çevreleyen granuloza hücreleri, mural granuloza hücrelerine dönüşür. Antrum sıvısı, plazma süzüntüsünü ve granuloza hücrelerinin salgıladığı faktörler arasında östrojen ve büyüme faktörleri ön plana çıkar. Kan dolaşımına göre folikül sıvısında daha yüksek oranda bulunan bu faktörler, başarılı folikül gelişimi için kritik bir öneme sahiptir (45).

Anterior hipofiz fetal yaşamın 4. ve 5. haftalarında gelişmeye başlar. Median eminens 9. haftada belirir ve hipotalamik-hipofizer portal dolaşım gebeliğin 12. haftasında fonksiyoneldir. FSH'nın hipofizer düzeyleri 20-23. haftalarda, dolaşımdaki düzeyleri ise 28. haftada en üst düzeydedir. Overin gonadotropinler için reseptörleri sadece gebeliğin ikinci yarısında geliştirir (37).

Over doğumda ve hayatın ilk bir yılında neonatal hipotalamus ve hipofizin fetoplasental steroidlerin negatif feedback etkisinden kurtulan reaktif gonadotropin salınımı ile uyarılmış, değişen ölçülerde kistik foliküller içerebilir. Fetustaki bu ovaryan kistler bazen ultrasonografi ile saptanabilir (37).



Şekil 5: Primordial germ hücre formasyonu, oogenez ve folikülogenezde rol alan faktörler (46).

2.1.4. Over Fizyolojisi

Erişkin overinde prenatal dönemde olan folikül gelişme evreleri tekrarlanır, ancak olgunluğu tamamlanmış olarak gerçekleşir. Ovulasyona ulaşacak folikül menstrüel siklusun ilk birkaç gününde belirlenmektedir. Şu an bir primer folikülün ovulasyona ilerlemesinin yaklaşık 85 gün olduğuna inanılmaktadır. Bu zamanın büyük bir kısmı gonadotropinlerden bağımsız olarak, FSH uyarısına cevap verebilecek bir duruma ulaşmakla geçer. Foliküler gelişmenin ilk görülebilen belirtileri oositin boyutlarının büyümesi ve granüloza hücrelerinin skuamöz şekilden ziyade küboidal biçim almasıdır. Bu değişiklikler büyümeden ziyade bir matürasyon süreci olarak da değerlendirilebilir. Küboidal granüloza hücrelerinin çoğalması ile primordial folikül primer foliküle dönüşmektedir (37).

Ovaryal siklus; Foliküler evre, ovulasyon ve luteal evre olarak 3 evrede incelenir. Normal bir adet döngüsü foliküler evrenin uzunluğuna bağlı olarak 21-35 gün olabilir. Başlangıç aşamasında foliküllerin gelişmesi gonadotropinlerden bağımsız iken gonadotropin desteği olmaksızın foliküller preantral aşamadan öteye gidemezler (47).

Ovaryal döngünün kritik düzenleyicileri FSH ve Luteinizan Hormon (LH)'dur. Foliküler evrenin başlamasından hemen önce plazma FSH ve LH düzeyleri en alt

seviyededir. Bir menstrüel siklusun sonunda; östrojen, progesteron ve inhibin seviyeleri belirgin olarak düşerken kan dolaşımındaki FSH düzeyleri buna karşılık olarak yükselmekte ve foliküler evrenin ilk yarısı boyunca yükselmeye devam etmektedir (48). Foliküler dönemin ortasında bulunan foliküller, yüksek miktarlarda östrojen ve inhibin üreterek negatif geri besleme mekanizmasıyla serum FSH düzeyini düşürürken LH düzeyini artırır. Bu düşüşün, ovulasyona uğrayacak folikülün seçimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu varsayıma göre geride kalan foliküllerde FSH reseptörleri azalacak ve androjenik mikroçevre oluşumu sonrası foliküler atrezi oluşacaktır. FSH ile uyarılan estradiol seviyesi ilk kritik 6-8 gün boyunca giderek artar. Ovulasyonun hemen öncesinde doruk noktasına ulaşır (47). Foliküler gelişim süresince, FSH uyarısı altındaki granuloza hücrelerinin sayısı artar. Eş zamanlı olarak granuloza hücrelerindeki aromataz enzimi ve östradiol varlığında, bu hücrelerde bulunan LH reseptörlerinin yapımı artacaktır. Geç foliküler dönemde LH reseptör yapımının daha da belirginleşmesi ile granuloza hücreleri progesteron sentezlemeye başlayacaktır. Bu progesteron granuloza hücrelerindeki çoğalmayı azaltarak folikül gelişimini frenleyecektir (49). Granuloza hücreleri çok katlı bir düzeni oluşturmak üzere proliferer olur ve teka tabakası çevredeki stromadan farklılaşmaya devam eder. Bu büyüme gonadotropinlere bağımlı olup, artan östrojen yapımı ile uyum içindedir. Preantral evreye kadar granuloza hücrelerinde FSH reseptörleri bulunmamaktadır. Preantral folikül atreziden kurtulmak, kendi östrojenik mikroçevresini sağlamak için FSH'nın varlığına ihtiyaç duyar. Östrojen ve FSH'nın sinerjistik etkisi ile granulozanın interselüler boşluklarında biriken folikül sıvısının yapımı çoğalır ve antral folikül evresine geçilir (37).

FSH varlığında östrojen folikül sıvısındaki ana madde halini almaktadır. Buna karşın FSH yokluğunda androjenler hâkim olmaktadır. Androjen düşük dozda iken aromataz enzimini artırır, yüksek dozda ise 5 alfa redüktaz aktivitesi artar, bu da androjenleri aromatize edilmeyen formlara sokar. Bu androjenik ortam FSH reseptör inhibisyonu yapar, aromataz aktivitesini engeller, foliküler atreziye sebep olur. Bu nedenle, granuloza hücrelerinin sürekli artışı ve foliküler büyümenin devamı için östrojen ve FSH'nın hakim durumda olması zorunludur (37).

Östrojenin hakim olduğu foliküle başarı ile ilerleme, ovulasyona uğrayacak olan dominant folikülün seçimine işaret etmektedir ve bu ilerlemeyi, nadir istisnalar

dışında, sadece tek bir folikül başarmaktadır. Granuloza hücrelerinde FSH ve teka hücrelerinde LH reseptörü kazanmış az sayıda folikül gelişmeye başladıktan sonra foliküler evrenin 5-7. günlerinde tek bir baskın folikül seçilir ve bu olay her ay sadece bir overde görülür. Bu seçim penceresi aralığında uygun gelişim göstermeyen foliküllerin çoğu ortadan kalkacaktır. Bu seçim süreci, büyük oranda, östrojenin iki etkisi sonucudur; 1) Folikül içindeki östrojen ve FSH'nın lokal etkileşimi ve 2) Östrojenin FSH'nın hipofizer sekresyonuna etkisidir. Olgunlaşan folikülde östrojen FSH'nın etkisini desteklediği halde, hipotalamik-hipofizer düzeyde FSH ile negatif geri besleme etkisi gösterdiğinden, diğer daha az gelişmiş foliküllere olan gonadotropin desteğinin çekilmesine yol açmaktadır. Böylece daha az gelişmiş foliküllerde androjenik mikroçevreye dönüşüm hızlanacak ve geri dönüşümsüz atretik değişikliği başlatacaktır. Bu istenmeyen değişikliklerin sonucu, atrezi oluşur ki, bu durum apoptozis adını alan bir süreçtir ve hücrenin programlanmış ölümüdür (37).

Dominans kazanan folikül olgunlaştıkça preovulatar folikül halini alır. Preovulatar folikülde granuloza hücreleri büyüyerek içinde lipid inklüzyonları ortaya çıkmaktadır; bu sırada teka hücrelerinde vakuoller ve preovulatar foliküle hiperemik görünüm veren zengin damarlanma gelişmektedir. Olgunluğa yaklaştıkça, preovulatar folikül gittikçe artan miktarda östrojen üretmektedir. Geç foliküler faz boyunca östrojenler önce ağır-ağır, daha sonra hızlı bir artış gösterir. Tam olarak anlaşılmayan nedenlerden dolayı bu östradiol artışı ile birlikte östradiolün baskılayıcı etkisi kaybolur, hipotalamus ve ön hipofiz bezi üzerinde pozitif geri besleme etkisi ortaya çıkar (FSH ve LH piki). Ovulasyonun tetiklenmesi için en az 50 saat en az 200 pg/ml'lik kritik bir plazma estradiol düzeyinin devam etmesi gerekir (50). Oosit-kumulus ooforus kompleksinin overden atılması olarak tanımlanan ovulasyon süreci, inflamasyon yanıtına benzer özelliklere sahiptir. LH ani artışının başlangıcı östradiolün tepe seviyelerine ulaştığında olmaktadır. Ovulasyonu düzenleyen ileti yollarında üretilen moleküller, folikülü çatlatan ve folikülden geriye kalanları korpus luteuma dönüştüren gen ürünlerini içermektedir. LH dalgası, ovulasyon öncesi dönemde bulunan foliküllerdeki yapıyı düzenleyen genleri baskılar ve aynı zamanda, ovulasyon ve luteinizasyon için gereken genleri uyarır. Ek olarak oositteki mayozun yeniden başlamasını (spermin girişinin sonrasına ve ikinci polar cismin salınımına kadar mayoz bölünme tamamlanmamaktadır), granuloza hücrelerinin

luteinizasyonunu ve foliküldeki progesteron ve prostoglandinlerin sentezini uyarır. Ortalama 48 saat süren LH dalgası başladıktan yaklaşık 36-40 saat sonra ovulasyon oluşur (51). Oosit olgunlaşması ve luteinizasyonu arasındaki uyumsuzluk, oosit matürasyon inhibitörü ve luteinizasyon inhibitörü tarafından düzenlenir. Folikül içi sıvıdaki aktivin, granuloza hücrelerinde progesteron yapımını baskılayarak erken luteinizasyonu engeller (52).

Luteinizasyon ile artan progesteron, prostoglandinlerle birlikte, foliküler duvarın sindirimini ve sorumlu proteolitik enzimlerin aktivitesini arttırır. Yaygın doku zayıflaması sonucu (hücreler arası gap-junction bütünlüğünün kaybolması ve elastik liflerin bozulması) ani antral sıvı birikimi olur ve ardından folikülü çevreleyen zayıflayan doku zarının rüptürü ile ovulasyon gerçekleşir. Ovulasyondan sonra, folikül hücrelerinden geriye kalanlar farklılaşarak, 'sarı cisim' adı verilen korpus luteumu oluşturur. LH uyarısı gerektiren bu süreç, luteinizasyon olarak tanımlanan morfolojik ve işlevsel değişiklikleri kapsamaktadır. Doku bütünlüğü sağlandıktan sonra, granuloza hücreleri hipertrofiye olur ve erken korpus luteumun kistik bazen de hemorajik olan boşluğunu yavaş yavaş doldurur ve sitoplazmalarında lipitten zengin vakuoller oluşur. Sonuç olarak, çoğunluğunu genişlemiş, lipidden zengin, tam vaskülerize granuloza hücrelerinin oluşturduğu yeni bir birim olan korpus luteum, döllenmiş ovumun yerleşmesi ve plasenta bu görevi üstleninceye kadar zigotun varlığının sürdürülmesi için gereken koşulları sağlayacak steroid hormon dengesini sağlar. On dört günlük yaşamında, luteal fazda mevcut olan düşük ancak önemli LH düzeylerine bağlı olan bu birim estradiol ve progesteron üretir (37).

Başarılı bir implantasyondan yeni ve büyüyen bir kaynak olan LH benzeri insan koryonik gonadotropin (HCG) oluşmaması durumunda, siklustan 4 gün önce dejenere olmaya başlar (24. Gün). Bu sürece 'luteoliz' denir. Damarlanması ve yağ içeriği tükenir, östrojen ve progesteron salınımı belirgin olarak azalır. Bir dizi skarlaşma olayları sonucunda oluşan fibröz yapıya korpus albicans (beyaz cisimcik) denir. Korpus luteumun Progesterin ve Estradiol salgılaması 14. günde tamamen durur. Korpus luteum salgısının durması hipofizden olan FSH salgılanmasının Estradiol ve İnhibin A tarafından uygulanan geri bildirimli inhibisyonun ortadan kalkmasına neden olacak kadar düşer ve bir sonraki siklusun FSH salgısı başlar (37).

2.1.5. Yaşa Bağlı Over Dokusu

2.1.5.1. Yenidoğan Overi

Embriyonik yaşamın 8. haftasında bulunan overler, östrojen üretme kapasitesine sahip olsalar da fetal gelişim sırasında, çok az miktarda steroid sentezlenir. Kan dolaşımındaki FSH ve LH düzeyleri yaşa göre belirgin farklılık gösterir. Fetal yaşamın ikinci üç ayında iken FSH ve LH düzeyleri menopozdakine benzer biçimde yüksektir. Bu dönemde olgunlaşmaya devam eden fetal hipotalamus hipofiz eksenini, plasenta tarafından kan dolaşımına salgılanan yüksek düzeylerde östrojen ve progesterona daha duyarlı hale gelir (53). Bu steroidlerin yüksek seviyelerde seyretmesine rağmen doğumdan hemen önce fetal gonadotropin düzeyleri bariz biçimde düşer. Doğum sonrası ise plasental bağın ortadan kalkması ile steroidlerin baskılama etkisinden kurtulmasına bağlı yenidoğan gonadotropin düzeyleri aniden yükselir. Ancak genellikle çocukluk döneminde tekrar düşer (54). Yaşamın ilk 6 ayında bu yükselmiş gonadotropin seviyesine cevap olarak antral dönemin foliküler cevabı nispeten yaygındır. Fetus ve yenidoğanlarda karşılaşılan batın kitlelerinin en sık nedeni, gonadotropin uyarılmasına bağlı olarak gelişen ovaryan kistlerdir (37).

Prenatal oosit yıkımı ile toplam kortikal germ hücre sayısı doğumda 1-2 milyona iner. Germ hücre kitlesindeki bu büyük azalma 20 hafta gibi kısa bir sürede olmaktadır. Bu tip bir azalma hızı bir daha görülmeyecektir. Gonad, korteks ve göreceli olarak küçük bir medullaya ayrılmıştır. Korteks içinde hemen hemen bütün oositler primordial folikül birimleri içinde yerlerini almışlardır (37).

2.1.5.2. Çocuklukta Over

Çocukluk döneminde her ne kadar over dokusu sessiz değilse de hipofiz GnRH'e düşük yanıtı ve maksimum hipotalamik baskılanma sonucu kanda ve hipofizde düşük gonadotropin düzeyleri ile karakterizedir. Foliküller hemen her zaman büyümeye başlar ve genellikle antral evreye kadar erişirler. Ancak gonadotropin desteğinin eksikliği tam foliküler gelişmeyi ve fonksiyonu engeller (37).

2.1.5.3. Pubertede Over

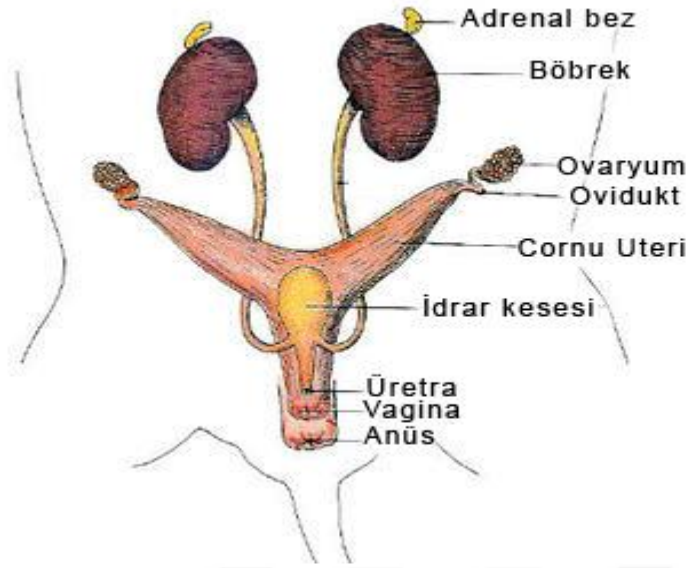
Pubertenin ilk bulgularından biri, uyku ile ilişkili olarak LH salınımının yükselmesidir. Zamanla gün içinde de FSH ve LH salınımı belirginleşir. Yükselen gonadotropinlere yanıt olarak ovaryan estradiol artışı sonucu diğer pubertal belirtilerle birlikte ovulasyon ve menstrüel siklus başlar.

Ergenlik başlangıcında, germ hücre kütlesi 300,000-500,000 adete inmiştir. Üreme çağının gelecek 35-40 yılı boyunca, 400-500 tanesi seçilerek ovulasyona katılarak ve azalmaya devam ederek menopozda ancak birkaç yüz tanesi kalacaktır. Menopoz öncesi son 10-15 yıl boyunca foliküler kayıpta ivmelenme olmaktadır. Bu hızlanmış kayıp büyük olasılıkla FSH uyarımındaki artışa sekonder olmaktadır. Atrezi sürecinde oosit (ve folikül) kaybı birçok faktördeki değişikliklere bir cevaptır. Tabii ki gonadotropin uyarımı ve çekilmesi kesinlikle önemlidir, ancak, ovaryan steroidler ve otokrin/parakrin faktörler de ayrıca bu olayda yer almaktadır (37).

Üreme yılları boyunca, ovulasyon ve korpus luteum oluşumunu içeren tipik folikül olgunlaşma siklusu gerçekleşir. Bu kompleks, ancak iyi tanımlanmış, folikül ve korpus luteum steroid hormonları, hipofizer gonadotropinler ve otokrin/parakrin faktörlerin ovulasyon elde etmek için bütünleştiği hipotalamo-hipofizer-gonadal karşılıklı ilişkiler ile oluşur (37).

2.2. RATLARDA FOLİKÜL GELİŞİMİ VE ÜREME SİSTEMİ

Ratlarda ovaryum foliküllerle dolu bir yapıdadır ve böbreklerin kaudalinde, uterusun her iki yanında yer alırlar. Helezonik yapıdaki ovidukt ovaryumu bikornual yapıdaki uterusu bağlar (55) (Şekil 7).



Şekil 6: Dişi ratlarda ürogenital sistemin anatomisi (56).

Over yüzeyi germinal epitel olarak adlandırılan tek katlı kübik epitel ile çevrilidir ve mezoovaryumu çevreleyen mezotelyum ile devam eder. Sıkı bağ dokusu tabakası olan tunika albuginea germinal epitelin hemen altında uzanır. Kesitlerde over korteks ve medulladan meydana gelir. Overin medullayı saran periferel kısmında yer alan korteks, zengin hücresel bağ dokusuna yerleşik olan ovaryan foliküller içerir. Stroma, retiküler liflerden oluşan bir ağ ile fibroblast ve düz kas hücre özelliği gösteren iğ şekilli hücrelerden oluşmuştur. Burada elastik doku çok az olup yalnızca kan damarları duvarında ve germinal epitelin altında bulunur. Stromal hücreler teka foliküllerinin büyümesine katkıda bulunur. Folikülleri gelişiminin farklı evrelerinde görebiliriz. Puberteden önce yalnızca primordiyal foliküller görülür. Seksüel olgunluk, gelişen foliküller ve onların son ürünlerinin (korpora lutea, atretik folikül) varlığı ile karakterizedir. Menapozdan sonra foliküller kaybolur ve sonunda senil korteks ince bir fibröz bağ dokusu tabakası haline gelir. Medulla korteks arası sınır belirgin değildir (57-59).

Ratlardaki ovaryan gelişim insanlardakine benzer fakat zamanlama farklıdır. Primordiyal germ hücreleri ileri embriyonik gelişimde oogonya oluşturmak üzere gonadlara göç eder. Doğumda, rat ovaryumu kordonlardan ve oogonyalardan oluşur. Primordiyal foliküller doğumdan sonra, üçüncü günün sonunda oluşurlar. İlk folikül dalgasının antral foliküle kadar gelişimi yaklaşık üç haftayı bulur. Olgun sekonder

foliküller yedinci günde gözlenir. Minimal ovaryan hücre apoptozisi ancak 18. günde oluşur. Bu dönemde erken antral foliküller de gözlenir. Puberte ya da ilk östrus 34. gün civarında meydana gelir. Düzenli östrus siklusu, 10-12. aylarda düzensiz siklusların oluşumuna kadar devam eder. Hayvanlar 12-15. ayların sonunda ise persistent sıklusa girerler ve bunu persistent diöstrus ve ardından anöstrus takip eder. Folikül gelişimi 25 µm'den (primordiyal folikül) 500-800 µm (preovulatar folikül) çapa kadar, 60 günden fazla bir sürede ulaşır (yaklaşık 15 östrus siklusu). Primordiyal folikülden sekonder foliküle gelişim aşaması 30 günden uzun olabilir. Sekonder aşamadan ovulasyona kadar olan gelişim süresi ise $28 \pm 2-3$ gün olabilir. Bu durumda erken folikül gelişimi, insanlardakine benzer şekilde ratlarda da oldukça uzundur (37, 60, 61).

Dişi ratlarda pubertasın indikatörü vaginal açıklık ve ilk proöstrustur. Vaginal açıklık ilk defa 33-42. günlerde, vücut ağırlığı yaklaşık 100 gram iken meydana gelir (62).

Düzenli östrus siklusları yaklaşık olarak vaginal açıklık başlangıcından itibaren bir hafta sonra meydana gelir. Yapılan bir çalışmada, gonadotropin seviyeleri ve morfolojik özelliklere göre prepubertal ovaryum gelişimi 4 döneme ayrılmıştır: Neonatal dönem (doğum-1. hafta), infantil dönem (1-3 hafta arası), juvenil dönem (3-4,5 hafta arası) ve peripubertal dönem (juvenil dönem sonrası 3 gün) (63). Neonatal dönemde ovaryumlar FSH etkisi ile testosteronu östradiol-17β'ya metabolize ederler. Infantil dönemde, FSH ve LH etkinliği ile folliküler gelişim görülür. Juvenil dönemde folliküller östrojen sekresyonuna başlarlar. Peripubertal dönem boyunca uterus sıvı ile doludur, folliküller büyük miktarlarda östrojen salgırlar ve gonadotropinlerdeki artış ilk ovulasyonlara neden olur. Ovaryum gelişimi gonadotropinlere, FSH, LH, Gonadotropin salgılatıcı hormon (Gonadotropin releasing hormone: GnRH), prolaktin ve büyüme hormonu (GH) 'na bağlıdır. FSH seviyeleri doğumdan 12. güne kadar artar ve kademeli olarak düşer. GnRH salınımları esnasında LH konsantrasyonu yavaşça artarak yüksek seviyelere ulaşır. Hipotalamustaki GnRH doğumdan pubertase kadar artar. Juvenil dönemde her 3 saatte bir prolaktin salınımı meydana gelir ve bu salınım ovaryumdan östradiol ve progesteron salınımını indükler (65). Büyüme hormonu prolaktine paralel bir salınım grafiği çizer ve ovaryan steroidogenesiz ile ilişkilidir. Ratlarda genital siklus (östrus siklusu) postnatal 28-42. günlerde (60, 61, 64, 65)

vajinal açıklığın gözlenmesiyle, vajinal smear yöntemi kullanılarak takip edilmektedir. Östrus siklusu yaklaşık 4-5 gün sürer (65, 66).

Ratlarda, insanlardakine benzer olarak, genital siklus çeşitli hormonlar ile kontrol edilmektedir. Östrus siklusu, proöstrus (P), östrus (Ö), metöstrus (M) ve diöstrus (D) olmak üzere başlıca 4 fazdan oluşur. Proöstrus fazı 12 saat, östrus fazı 12-24 saat, metöstrus fazı 6-8 saat, diöstrus fazı ise 52-60 saat sürmektedir (67-69).

Östrus siklusu boyunca cinsiyet hormonlarının siklik değişimleri vajinal epitelin histolojik görünümünde belirgin değişiklikler meydana getirir. Korpus luteum en yüksek büyüklüğüne erken diöstrus döneminde ulaşır ve en yüksek progesteron değerlerine de östrus siklusunun 2. gününde ulaşılır. Hormonal salınımlar ön hipofizden salınan ve vaginal sitolojik değişimler şeklinde saptanabilen ovaryum ve folliküler değişimlere neden olan gonadotropinler tarafından düzenlenir. LH atımlı olarak salınır ve en yüksek frekansa proöstruste en düşüğe de östrusta ulaşır. LH atımı GnRH salınımının yüksekliğine bağlıdır (70-74).

Proöstrus esnasında salınan LH dalgaları preovulatuvar folliküllerde (preovulatr follikül 0,9-1,0 mm çaplı) ovulasyonun meydana gelmesine ve corpora lutea şekillenmesine neden olur. İki adet preovulatuvar FSH dalgası küçük folliküllerin gelişimini stimule eder (75, 76).

İlk dalga LH dalgası ile alakalı ve ikinci dalga ovulasyon sonrası inhibindeki azalma ile ilişkilidir (77, 78).

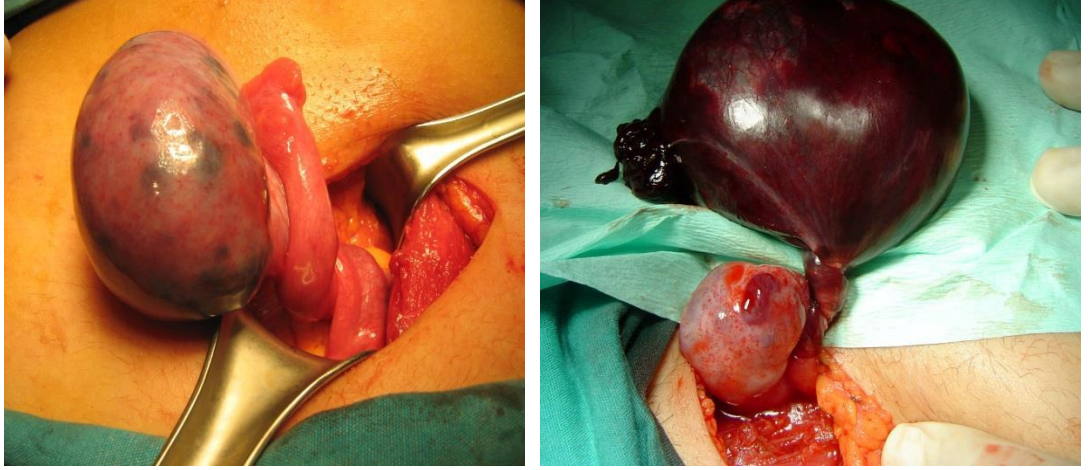
Rat folliküllerinde yapılan çalışmalar 17- α -Hidroksilaz ve aromataz mRNA düzeyinin preovulatr LH dalgasından önce artış gösterdiğini ortaya koymuştur (79, 80). Metaöstrus boyunca, corpora lutea'dan progesteron salınır. Progesteron seviyesi diöstrusta azalır ve artan östradiol-17 β 'ya bağlı olarak folliküler gelişim tekrar başlar. Siklus proöstrusta meydana gelen östrojen piklerinin ovulasyona neden olan gonadotropin salınımını indüklemesi ile tamamlanır. Prolaktinde luteotropik mekanizmaya katılmaktadır, ancak progesteron salınımını doğrudan desteklememektedir (81). Ratlarda 5 gün devam eden östrus siklusu, 4 günlük siklusa benzer fakat LH ve östrojen sekresyonu, luteolizis ve uterus değişiklikleri 24 saat gecikmeli olarak meydana gelir. İlk defa 1917'de Stockard ve Papanicolou tarafından, *guinea pig*'lerde başlayan östrus siklusu çalışmalarından bugüne kadar, farklı memeli

türlerinde östrus aşamalarını belirlemek için kabul edilen yöntem ‘vajinal smear’dir (69, 82). Bu yöntem, vajinal duvardan sürüntü alınması ya da vajinal yıkama sonucu elde edilen preparatlar üzerinde, her bir faz ile ilintili hücre tiplerinin (epitelial hücre, kornifiye hücre, lökositler) histolojik olarak tanınması esasına dayanır. Bu yöntem canlı hayatta iken, tekrarlayan sikluslara ait gözlemler için güvenilir bir kayıt sağlamaktadır. Östrus esnasında vaginal duvar kuru ve vulva ödemlidir (83). Etkili bir saptama için vaginal sitolojik örneklerin gün boyunca aynı saatte alınması gerekmektedir. Çekirdekli süperfisiyal hücrelerle karakterize olan proöstrus dönemi yaklaşık olarak 12 saat sürmektedir (84). Proöstrus döneminde özellikle prepubertal ratlarda uterus sıvı ile doludur ve bu durum hidrometra ile karıştırılmamalıdır. Östrus döneminde vaginal sitolojik bakıda başlangıçta %75 çekirdekli süperfisiyal ve %25 keratinize süperfisiyal hücre saptanırken dönemin ortalarına doğru bu oran keratinize süperfisiyal hücreler lehinde değişir. Dönemin sonlarına doğru bu keratinize hücreler dejenere olur ve epitelial bir yığıntı halini alır. Metaöstrus dönemi ovulasyondan sonra görülür ve yaklaşık 21 saat sürer. Dönemde alınan sitolojik örneklerde çekirdekli ve kornifiye hücreler etrafında çok miktarda lökosit saptanır. Diöstrus en uzun dönemdir ve 57 saat kadar sürmektedir (85). Sitolojik bakıda dominant hücre tipi lökositlerdir. Ayrıca hayvanlarda ovulasyon zamanı, kızgınlık dönemi ve gebeliğin tespiti için de kullanılan pratik bir yöntemdir (76, 80, 81).

2.3. ADNEKSİYAL TORSİYON

2.3.1. Tanım

Adneksiyal torsiyon ilk olarak 1890’da Sutton tarafından bildirilmiştir (86,87). Adneksiyal torsiyon, adneksin, overin ya da nadir olarak fallop tüpünün tek başına, infundibulopelvik ve tubaovaryan ligamanın eksenine etrafında tam ya da kısmi en az bir tur dönmesi olarak tanımlanır. Torsiyon normal adnekte meydana gelebilir ancak olguların %50 ila %80’inde, tek taraflı overyan kitle saptanmıştır (88,89) (Resim 1).



Resim 1: Over torsiyonu

Adneksiye torsiyon, sık görülmemekle birlikte akut abdominal ağrının önemli nedenlerinden biridir ve ciddi morbidite ile sonuçlanmaktadır (2).

Adneksin torsiyone olması ile over dokusunda iskemi oluşturur. İfundibulopelvik ligamanın içerisindeki ovaryan damarların torsiyonu ile oluşan venöz ve lenfatik durdurma, ovaryan parankimin masif konjesyonu ve hemorajik infarkt ile sonuçlanır. Ardından oluşan arteriyel blok ise gangren ve hemorajik nekroza neden olur. Tedavi edilmezse iskemi overin, fallop tüpünün ve tüm adneksin nekrozuna neden olabilir. Nekroz oluşmasını adneksin kaybı takip eder. Bu da fertilitenin etkilenmesine neden olur. Oldukça nadir olarak adneksiye torsiyon, pelvik tromboflebit veya ciddi peritonit gibi ölümcül komplikasyonlara neden olabilir (89).

2.3.2. Epidemiyoloji

Adneksiye torsiyon, nadir görülmekle birlikte jinekolojik cerrahi aciller içerisinde beşinci sırada olup, %2,7'sini oluşturmaktadır (2, 90, 91). Adneks torsiyonu yenidoğan dönemi de dâhil herhangi bir yaşta görülebilmektedir. Ancak genelde premenarş ve reproduktif yıllarda görülmektedir (2, 92, 93). Olguların %70,6'sı 20-39 yaşları arasındadır (92).

2.3.3. Patofizyoloji

Adneksiyel kitleler, mobilite artışı ile birlikte daha fazla torsiyon oranlarına sahiptir. Konjenital olarak uzun over ligamentleri aşırı uzun mezoövaryum veya fallop tüpleri neden olur ve normal adnekte bile torsiyon riskini artırabilir. Benzer şekilde çapı 6 cm'den daha fazla patolojik olarak büyümüş overler, genellikle gerçek pelvisten yukarıya çıkarlar. Kemiklerle sınırlanmadığından, mobilite ve torsiyon riski artar. Dolayısı ile 6 ila 10 cm arasındaki adneksiyel kitlelerde yüksek oranda torsiyon bulunmuştur.

Adneksiyal torsiyonda genellikle sağ taraf sol tarafa göre daha fazla etkilenir. Sağ uteroovaryan ligamanın sola göre daha uzun olması, sol adneksin sigmoid kolona yakınlığı ve dar bir alanda mobilize olamaması, sağ tarafta daha sık görülmesinin sebepleri olarak gösterilebilir. Vasküler pediküller dönse de, adneksiyel yapıları kapsayan kan akımının devamlılığını değerlendirmede iki anahtar nokta vardır. Birincisi, adneksler uterus ve over damarlarının dallarından beslenir. Torsiyon bunlardan birini kapsarken diğerini kapsamayabilir. İkincisi, adnekte düşük basınçlı venlerin akımı, torsiyone olmuş pedikülle baskılansa da başlangıçta yüksek basınçlı arterler basınca karşı direnirler. Torsiyon süresince, içeriye akımın sürmesi, kanın dışarıya çıkışının durması sonucunda adnekte kan toplanır ve ödem olur, ancak infarktüs oluşmaz. Bu nedenle erken torsiyon olgularının konservatif olarak tedavisi yapılabilir. Ancak stromal ödemin devam etmesi arterlerde infarktüs ve nekroza neden olabilir ve cerrahi gerekebilir (94).

2.3.4. Risk Faktörleri

Adnekteki herhangi bir ağırlık artışı torsiyon riskini artırır (2). Çocuk ve adölesanlarda olguların yarısı kist ve neoplazmlar nedeniyle gerçekleşirken, diğer yarısı normal overlerde görülür (14). Erişkinlerde ise, torsiyon olgularının %94'ünde adneksiyel kitle mevcuttur ve genellikle beningdir (17). Adölesanlarda diğer yaş grubundaki çocuklara oranla malign neoplazi riski daha azdır, çünkü menarşla birlikte fonksiyonel kitle olma olasılığı artmaktadır (16).

Çocuklarda görülen adneksiyal torsiyon olgularında en sık karşılaşılan patolojiler; bening kistik teratom, hemorajik kist ya da foliküler kist iken paratubal

kist, kistadenom ve hidrosalpenks de görülebilir (95). Çocuklarda görülen adneksiyal torsiyon olgularında malignite insidansı ise %1,1-2 gibi oldukça düşüktür ve disgerminom en sık görülen malign tümördür (2, 8, 90, 96-100).

Malign over tümörlerinin çevre dokuya invaze olması ile oluşan adezyonlar sebebiyle benign over tümörleri, malign over tümörlerine göre daha çok torsiyone olurlar (100, 101).

Adneksin normal olduğu durumlarda torsiyon oluşmasında, konstipasyon, sigmoid distansiyon, gebelik ve premenarşial hormonal aktivite nedeniyle adneksiyal venöz konjesyon, adneksin aşırı hareketine neden olabilecek uzun bir tüp, mesosalphinks veya mezoovarium, küçük infantil uterus ve nispeten büyük over varlığında vücudun sarsıcı hareketlere maruz kalması ileri sürülmüştür (103-105).

Paratubal kist varlığı, tüpün tek başına ya da tüm adneksle birlikte torsiyone olmasına sebep olabilir (106, 107). Benzer olarak hematosalpink, hidrosalpink, tubal ektopik gebelik izole tüp torsiyonu yapabilir (108, 110).

Yenidoğan döneminde anneden kaynaklanan hormonal uyarıya ikincil gelişen kistler görülüp genellikle kendiliğinden gerilemekle birlikte nadiren adneksiyal torsiyona neden olabilmektedir. Böyle bir durumda klinik sessiz seyredebileceği için over nekroze uğrayıp otoamputasyona gidebilmektedir (111-113). Ayrıca over torsiyonunun infantlarda ani infant ölüm sendromunun bir nedeni olabileceği belirtilmiştir (114).

Ovaryan stimulasyon da adneksin hacim ve ağırlığında artış yaparak adneksiyal torsiyona neden olabilir (99, 115).

Diğer risk faktörleri arasında; daha önceden geçirilmiş over torsiyonu, geçirilmiş tüp ligasyon operasyonu, polikistik over sendromu, gebelik, endometriozis öyküsü ve pelvik infeksiyon yer almaktadır (116).

2.3.5. Klinik

Adneksiyal torsiyonda belirti ve bulgular özellikli olmadığı için tanı ve tedavide gecikmeler yaşanmaktadır. Çoğu torsiyon olgusunda klinik bulgular belli belirsizdir (83).

Adneksiyal torsiyonda hastalar çoğunlukla (%90-100) ani başlangıçlı, şiddeti birkaç saat sonra kötüleşecek şekilde, aralıklı olarak devam eden alt abdominal ağrı ile başvururlar. Ağrı genellikle kısa sürelidir, 1-2 saat en fazla 2 gün sürer. Çok az hastada ise ani başlangıçlı ağrı şikâyeti olmadan adneksiyal torsiyon görülebilmektedir (4, 117-119). Ağrı genellikle torsiyon olan tarafta alt abdomende hissedilir. Ancak umblikus, lomber bölge, flank bölge ve uyluk iç kısmında da yansıyan ağrı görülebilir (24, 119- 121).

Ağrıya bulantı (%70), kusma (%45), ateş (%25), abdominal dolgunluk (%16), menstrüel disfonksiyon (%9), diare (%7), dizüri (%7), konstipasyon (%5), rektal dolgunluk (%2), senkop (%2) eşlik edebilir (121-123). Bulantı kusmanın ağrıya ya da peritoneal irritasyona sekonder geliştiği düşünülmektedir (8, 119-124).

2.3.6. Fizik Muayene

Adneksiyel torsiyonun klasik bulguları akut alt abdominal ağrı, peritoneal irritasyon ve palpabl bir adneksiyel kitle varlığından oluşmaktadır. En sık fizik muayene bulgusu tek taraflı alt abdomende hassasiyet olmakla birlikte erken dönemde belirgin kitle palpe edilemeyebilir, belirgin ağrı ve hassasiyet olmayabilir. Ayrıca peritoneal irritasyon bulguları her zaman eşlik etmeyebilir (115). Tek taraflı adneksiyal kitle olguların %41-70'inde görülür (125). Küçük çocuklarda rektal tuşe ve bimanuel muayene ile overlerin palpe edilmesi ovaryan bir patoloji olduğunu düşündürür. Yetişkinlerde vajinal muayenede tek taraflı adneksiyal ağrı ve kitle saptanması halinde adneksiyal torsiyondan şüphelenilmelidir. Adneksiyal torsiyonda yetişkinde yapılan vajinal muayenede %26 iki taraflı adneksiyal ağrı saptanabilir (119). Ayrıca inguinal herni kesesi içerisinde %15-20 overler ve/veya fallopian tüpler bulunabilir. Özellikle prematüre kız yenidoğanlarda herniye olmuş over torsiyone olabilir ve bu durumda inguinal bölgede şişlik, kızarıklık ve hassasiyet izlenir. Kızlarda inkarsere inguinal hernilerin %27 sinde over torsiyonu ve ovaryan infarkt görülür (126, 127).

2.3.7. Tanı

Adneksiyal torsiyona özellikli herhangi bir klinik, laboratuvar, radyolojik bulgu olmayıp kesin tanı laparoskopi veya laparotomi yapılarak torsiyonun gözle görülmesi ile konulur (135,141-143).

Özellikle bazı laboratuvar testleri over torsiyonu ayırıcı tanısında yararlıdır. Reprodüktif yaştaysa gebelik ekartasyonu için β -HCG çalışılmalıdır. C-Reaktif Protein (CRP) de artış olur ancak akut apandisittekine göre daha azdır. Eritrosit sedimentasyon hızı hafif artabilir ve hafif lökositoz görülebilir. Lökositoz ile doku nekrozu arasında herhangi bir ilişkisi saptanmamıştır (125, 128-131). Ayrıca üre, elektrolitler, karaciğer fonksiyon testleri, koagülasyon testleri çalışılabilir. IL-6 ve D-dimer artışı görülür ancak tanısız değildir. Malignite dışlanması için CA-125, Alfa Feto Protein (AFP) ve β -HCG çalışılabilir. Ürolojik patoloji ekartasyonu için ise tam idrar tetkikinden yararlanılabilir (89, 92, 125, 129-132).

Direk grafi, kusması olan hastada barsak tıkanıklığı ayırıcı tanısında yardımcı olur. Over torsiyonu olan vakalarda direk grafide bir kitle etkisi görülebilir. Kalsifikasyon görülmesi halinde ise matür teratom akla getirilmelidir (95,133). Ultrason (USG) değerlendirmesi adneksiyel torsiyonda önemlidir ve tanıda genellikle ilk başvuru olan yöntemdir. Özellikle doppler ile birlikte kullanıldığında tanısız doğruluğu artmaktadır (95). Torsiyon sonografik olarak dış gebelik, tubaoveryan abse, hemorajik over kisti ve endometriomayı taklit edebilir. Bu nedenle, sonografi ile doğru tanı oranları %50 ila %75 arasındadır (134). Renkli doppler USG torsiyone bir overde kan akımının olmadığını belirlemede erken tanı ve tedavide yardımcı olmakla birlikte pozitif prediktif değeri %100 olup, %60 oranında vaka atlanabilmektedir (120, 135). Bu kısıtlılığa rağmen over torsiyonu ile birlikte olan özellikli bulgular tanımlanmıştır. En sık, tek taraflı büyümüş (5 cm üzerinde) ve ovalliğini kaybetmiş overin kenarlarında çok sayıda 25 mm'ye varan follikül kistlerinin görülmesidir ki bu bulgunun %64 oranında belirleyici olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, overdeki konjesyonu gösterir ve erken ödemi tanımlar. Burkulmuş pedikül, aynı zamanda merkezde çok sayıda ortak merkezli hipoekoik yapının oluşturduğu, hedef tahtası, girdap ya da salyangoz kabuğu olarak tanımlanan yuvarlak bir hiperekoik görüntü verebilir (134). Torsiyonun ilerlemesi durumunda adnekte hemorajik infarkt meydana

gelir ve batında serbest sıvı görülebilir. Ancak serbest sıvı birçok benign ve patolojik durumda da mevcut olduğundan özellikli bir bulgu değildir. Lee ve ark.'nın (136) adneksiyal torsiyonun teşhisine yönelik renkli doppler ultrasonografi ile yaptığı bir çalışmada preoperatif teşhiste renkli doppler ultrasonografinin %87 oranında tanı koyabileceğini belirtmişlerdir. Diğer çalışmalarda arteriyel akım kaybı, olguların %60 ile %73'ünde tespit edilmiştir (120). Doppler USG ile vasküler akımın yokluğunun gösterilmesi diğer USG bulguları ile beraber torsiyon tanısını koydurur. Ancak torsiyon olgularının tamamında akım kaybı görülmez. Renkli Doppler sonografi bulguları over iki ayrı kaynaktan kanlandığından bu damar sistemlerinin torsiyondan etkilenme derecelerine göre değişebilir. Torsiyon olgularının %45-61'inde normal doppler bulguları görülür. Bu durum özellikle venöz akımın bozulduğu ama arteriyel akımın bozulmadığı durumlarda görülür. Doppler sonografi ile normal kan akımı görülmesi torsiyonu tamamen ekarte ettirmez. Normal akımın açıklaması şu şekilde olabilir; (i) over nekrozuna neden olan venöz tromboz muhtemelen arteriyel trombozdan önce olur, (ii) overe uterin arter dallarından kan akımı devam etmektedir, (iii) ovaryan torsiyon aralıklı olabilir (120, 125, 133, 136, 138). İnternal ovaryan akımın olmaması torsiyona özellikli değildir, bu durum kistik lezyonlarda da görülebilir, fakat kist varlığında periferik akım tipik olarak gözlenir (136).

USG ile tanı koyulamayan durumlarda, ovaryan kitlelerin saptanmasında ve alt abdominal ağrının diğer nedenlerinin dışlanmasında Bilgisayarlı Tomografi (BT)'den yararlanılır (92). BT ile saptanan bulgular ise büyümüş overde periferik yerleşmiş foliküller, intravenöz kontrast maddenin torsiyon olan tarafta az tutulması, vasküler pedikülün kendi etrafında dönmesi, torsiyone adneks etrafında yağ dokusunun bulunması, torsiyon olan tarafa uterusun deviasyonu ve pelvik serbest sıvıdır. Adneks etrafını yağ dokusunun sarması tuboovaryan abse ve piyosalpinkste de görülebilir (125,139).

Manyetik rezonans (MR), bazı merkezlerde USG'nin yetersiz kaldığı durumlarda ilk seçenek olarak kullanılabilir. MR'da saptanan bulgular USG ve BT'de saptananlara benzerdir. Yumuşak doku çözünürlüğünün daha iyi olması nedeniyle ovaryan kitlelerin ayırıcı tanısında MR'dan yararlanılır. MR, hemorajiyi göstermede BT'ye göre daha iyidir. Kan ve kan ürünleri T1 ağırlıklı sekanslarda hiperintens olarak görülür. Torsiyonun erken döneminde oluşan stromal ödem T2 ağırlıklı sekanslarda

hiperintens olarak görülür. USG’de saptanan periferik yerleşmiş foliküller MR’da T2 ağırlıklı sekanslarda daha net olarak izlenir. Normal fallop tüpünün kalınlığı en kalın yerinde 10 mm’nin altında olup, kalınlık artışı torsiyona bağlı konjesyon ve ödemi gösterebildiğinden bu bulgunun MR ile saptanması tanıda yardımcı olur (140).

Adneksiyal torsiyon klinik ve laboratuvar bulgularının nonspesifik olması nedeniyle birçok akut batın nedeniyle karışabilir. Jinekolojik nedenler arasında adneksiyal kitle, rüptüre fonksiyonel kist, ektopik gebelik, pelvik abse, pelvik inflamatuvar hastalık, hemorajik kist ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu yer alır. Jinekolojik olmayan nedenler arasında ise apandisit, renal kolik, divertikülit, kolesistit ve gastroenterit sayılabilir (99).

2.3.8. Tedavi

Torsiyone adneksin kurtarılması, birlikte olan kist ya da tümörün çıkarılması ve olanaklı ise ooferopeksi yapılması, tedavinin amacıdır. Bunun yanı sıra adneksiyel nekroz ya da hemorajik rüptür bulguları varlığında, torsiyone yapıların çıkarılması düşünülebilir. Nekroz gelişmesi için overin hangi dönme derecesinde ve ne kadar süre kaldığı ile ilgili bilgiler kesin değildir. Over torsiyonu veya inkarserasyonu sonucu canlılığını yitirdiği düşünülen ve makroskopik görünüm olarak nekrotik olduğu değerlendirilen overlerde tedavi halen tartışmalı olsa da, günümüzde en uygun yönetim detorsiyon olarak kabul edilmektedir. Operasyonda overin görünümünün gözardı edilerek adneksin detorsiyonu ve overin korunması sağlanmalıdır (144).

Çocuk yaş grubunda torsiyona neden olan kitlelerin çoğunlukla benign olması, torsiyonların %25’inde overlerin normal olması (idiyopatik adneksiyal torsiyon), ooferektomi geçirenlerde ileride karşı overde asenkronize torsiyon olması halinde oluşabilecek hormonal yetersizlik ve infertilite riski nedeniyle organ koruyucu cerrahi yapılması önemlidir (2, 6, 7, 128, 144).

Uzamış iskemiler dışlandığında, overde şiddetli hasar izlenen adneksiyal torsiyon olgularında dahi overin fonksiyonlarını koruduğu izlenmiş olup, bu arteriyel kan akımının tam olarak kesilmediğini göstermektedir. Düşük seviyede de olsa ovaryan arter ya da uterin arter yoluyla overin arteriyel akımı bir süre devam etmektedir. Bu nedenle overi koruyabilmek için erken tanı ve müdahale ile en erken

dönemde overde gelişebilecek irreversibl hasarın önüne geçilmesi gerekmektedir (115).

Hangi yaşta olursa olsun ovaryan torsiyondan şüphelenildiğinde tedavi cerrahidir. Daha önceleri, cerrahi eksplorasyon uygulandığında düzeltilen torsiyondan trombüs salınımı ve emboli olasılığından sakınmak için adneksktomi yapıldı. Ancak kanıtlar bunu desteklememektedir. McGoven ve arkadaşları yaklaşık 1000 torsiyon olgusunu değerlendirmişler ve olguların yalnızca %0,2’de pulmoner emboli bulmuşlardır. Önemli olarak emboli olguları adneksin çıkartılması ile birlikte olup hiçbir pedikülün konservatif olarak düzeltilmesi ile birlikte bulunmamıştır (134). Zweizig ve arkadaşları 94 adneksiyel torsiyonu değerlendirdikleri çalışmalarında, torsiyone adneksi çözdükleri kadınlarla, adneksktomi uyguladıkları kadınları karşılaştırdıklarında morbiditede artış bildirmemişlerdir (134). Kist varlığında önceden canlılığını kaybetmiş görünen overlerde bile detorsiyon ve kistektomi sonrası normal ovaryan fonksiyonun sıklıkla düzeldiği gözlenmiştir (145-147).

Adneks detorsiyone edildiği zaman overlerin reperfüzyonuna bağlı bazı lokal ve sistemik etkiler ortaya çıkar (9). Overin Torsiyon-Detorsiyonu overlerde İ/R hasarı yaratır. Bu İ/R hasarını engellemek için birçok antienflamatuvar ve antioksidan tedaviler denenmiştir. Konservatif tedavi yaklaşımları, overin endokrin ve germinal fonksiyonlarının devamı için gereklidir. Torsiyone overde detorsiyon sonrası en son hasar gören primer folikül alanlarıdır (7).

Benign durumlarda ooferektomi yalnızca adneksler nekroze olmuşsa ve detorsiyon sonrası reperfüzyon göstermiyorsa düşünülebilir. Bu durumda bile bazı yazarlar siyah görünümün nekrozu göstermediğini, dolayısıyla iskemi derecesine bakmaksızın adneksin detorsiyone edilmesini ve adneksin korunmasını önermektedirler (115, 147). Etkilenen organ başlangıçta siyah ve nekrotik gözüktüyse de, özellikle fertilitenin korunmasının istendiği olgularda tedavi yaklaşımı olabildiğince konservatif olmalıdır ve detorsiyon işlemi seçilmelidir. Konservatif tedavilerin sonucunda %94,2 olguda normal foliküler gelişim gözlenmiştir (115).

Adneksal torsiyonda adneksin fiksasyonunu sağlamak ve rekürrensleri önlemek için çeşitli cerrahi teknikler önerilmiştir. Utero overyan ligamentin triplikasyonu, overin pelvik yan duvara, broad ligamenti üzerine veya uterus arkasına

sütürasyonu olan ovariopeksi tekniklerinin yanısıra utero-ovaryan ligamentin uterus arka yüzüne veya pelvik yan duvara sütürasyonu olan ooferopeksi ameliyatları da uygulanmaktadır (8, 135, 148, 149). Eğer kadın konjenital yokluk, spontan amputasyon veya geçirilmiş cerrahi yüzünden tek overli ise detorsiyona ilaveten mevcut overi korumak için mutlaka bir fiksasyon tekniğinin uygulanması önerilmektedir (150). Ooferopeksi veya ovaryan fiksasyon, tekrarlayan veya tekrarlama olasılığı olan olgularda önerilirken, cerrahın operasyon sırasında normalden uzun bir uteroovaryan ligaman saptaması durumunda da önerilebilir. Fiksasyon torsiyon riskini tamamen elimine etmez. Fiksasyon sonrası %9,5 gibi retorsiyon oranı bildirilmiştir (151). Ooferopeksi sonrası fertilitenin etkilenmesi de önemli kaygılardan bir tanesidir. Overin yerinin değiştirilmesiyle tuboovaryan etkileşimin bozulması, sütürün tubaya veya overe zarar verme olasılığı nedeniyle fertilitenin etkilenme riski vardır. Over torsiyonunda üreterlerin yer değiştirmiş olabileceği unutulmamalıdır ve cerrahi sırasında overin damarları bağlanmadan önce üreterler mutlaka görülmelidir (95).

Detorsiyon sonrası, adneksin izlemi konusunda fikir birliği yoktur. Konservatif tedavi uygulandıkça, olasılıkla torsiyonun tekrarlama sıklığında artış olacaktır. Spesifik over lezyonları, çıkarılmalıdır. Ancak iskemik ve ödemli bir overde kistektomi teknik olarak zor olacaktır. Bu nedenle bazı yazarlar, kistektominin, ilk girişimden 6-8 hafta sonra yapılmasını önermektedirler (97).

2.4. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI

Organ veya dokulara giden kanın herhangi bir nedene bağlı olarak belirgin şekilde azalması veya tamamen kesilmesi sonucunda perfüzyonunun bozulmasına ve dolayısı ile organ ve dokulara yeterli oksijen ulaşmaması olayına iske mi denir. İske miye uğrayan dokunun belirli bir süre oksijenden yoksun kalması, doku hasarı veya nekrozu ile sonuçlanır. Kan akımının iske mi sonrasında yeniden sağlanması ise reperfüzyon olarak adlandırılır ve iskeminin neden olduğu hasarın genişlemesine yol açar. Bu durum genel olarak İske mi/Reperfüzyon (İ/R) hasarı olarak adlandırılır ve yol açtığı lokal ve sistemik etkilerin organ transplantasyonu, miyokard infarktüsü, serebrovasküler hastalıklar, major cerrahi girişimler, trombolitik tedavi, hemorajik şok

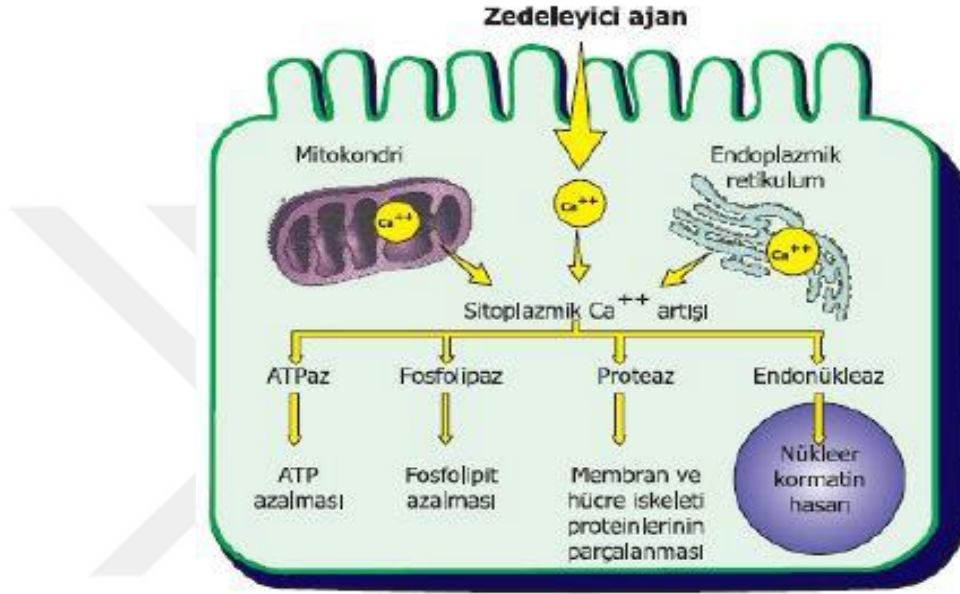
ve resüsitasyon gibi birçok klinik durumda ortaya çıkan yüksek morbidite ve mortaliteye katkıda bulunduğu düşünülmektedir (152-154). “Oksijen paradoksu” olarak da bilinen İ/R hasarının biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması klinikte doku hasarını azaltacak yeni tedavi seçeneklerinin ve prosedürlerinin geliştirilebilmesi açısından oldukça önemli bir role sahiptir (155). Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir.

İ/R hasarında iskemideki hipoperfüzyona ek olarak iltihabi cevap ve birçok organda disfonksiyon sendromları ortaya çıkmaktadır (156).

İskemi, organ veya dokulara giden kan akımındaki azalmadan dolayı oluşur ve bu azalmanın nedeni genellikle arteriyel sistemdeki mekanik bir tıkanıklıktır, ancak bazen kan basıncının belirgin azalması ya da kan kaybı sonucunda da meydana gelir (157). İskemi ile hücresel oksidatif fosforilasyon ve buna bağlı olarak Adenozin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (10). ATP azalması hücre içinde birçok sistemi etkiler. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ - K^+ -ATP az pompasının aktivitesi azalır. Buna bağlı olarak hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} birikirken, K^+ azalır. Solid materyalin artışı, suyun izoosmotik artışıyla birlikte olup akut hücresel şişmeye neden olur (13, 158). Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. ATP miktarındaki azalma aynı zamanda anaerobik glikolizde artmayla ve glikojen depolarında boşalmayla sonuçlanır. Artan glikoliz, fosfat türevlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine ve buna bağlı olarak hücre içi pH düşmesine ve asidoza neden olur. ATP ve pH azalması, granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılmasına ve polizomların monozomlara parçalanmasına ve protein sentezinde azalmaya neden olur (158).

Normal şartlarda ATP bağımlı kalsiyum taşıyıcıları ile sitoplazmik Ca^{+2} ekstrasellüler sıvıya göre düşük konsantrasyonda bulunur ve çoğu da mitokondiriler

ve endoplazmik retikulum içinde yer alır. İskemi sırasında sitozoldeki Ca^{+2} konsantrasyon artışından plazma membranından geçen, mitokondri ve endoplazmik retikulumdan salınan Ca^{+2} sorumludur. Sitoplazmada artan Ca^{+2} fosfolipazları, proteazları, ATPazları, endonükleazları aktive eder. Fosfolipaz A2'nin aktivasyonu ile membran fosfolipitleri bozulmaya başlayarak membran hasarı ilerler (158) (Şekil 7).



Şekil 7: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları (158).

İskemi sırasında ATP üretimi durup kullanımı devam ettiği için ATP'den adenosin difosfat (ADP), adenosin monofosfat (AMP) ve adenosin oluşur. Adenosin hücre dışına difüze olup inozin ve hipoksantin'e dönüşür. Normal şartlarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz (KD) aracılığıyla ksantin ve ürik asit'e metabolize olur. Bu reaksiyonda elektron alıcısı okside nikotin amid adenin dinükleotid (NAD^{+})'dir. Artan hücre içi Ca^{+2} , Ca^{+2} bağımlı proteazlar aracılığıyla KD'nin ksantin oksidaz (KO)'a dönüşümünü sağlar. Reperfüzyonun başlamasıyla hipoksantin'in ksantin'e, ksantin'in ürik asit'e dönüşümü KO tarafından gerçekleştirilir. Bu reaksiyonda elektron alıcısı olarak moleküler oksijen (O_2) kullanılır ve SOR oluşur (159-161).

İskemi devam ederse mitokondri ve kristalarında vakuolizasyon, plazma zarında aşırı zedelenme, lizozomlarda şişme ve matrikste kalsiyumdan zengin şekilsiz yoğun içerik birikimiyle geri dönüşümsüz hasar meydana gelir (158).

İskemi sonucu doku veya organda oluşan enerji ihtiyacının karşılanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için doku ya da organa kan akımının yeniden başlaması olayına reperfüzyon denir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi hasara yol açar (162, 163).

İ/R hasarı birbirleriyle ilişkili, karmaşık, hücresel ve humoral olaylar dizisidir. Hasarın fizyopatolojisiyle ilgili özellikle dört faktör başta olmak üzere çeşitli faktörler ileri sürülmüştür:

1. Serbest oksijen radikalleri (SOR)
2. Polimorfonükleer lökositler (PMNL)
3. Kompleman sistemi
4. Endotel hücresi

İskemik süreçte dokuda oluşan SOR reperfüzyon sırasında endotel hasarına, mikrovasküler permeabilite artışına ve doku ödemeine sebep olur. SOR aynı zamanda endotel hücre tarafından da üretilmektedir (164).

Endotel tarafından sentezlenen ve hemoostazdan sorumlu endotelin (ET) ve nitrik oksit (NO) dengesi ET lehine bozulur ve arteriyel vazokonstriksiyon, venöz vazodilatasyon meydana gelir (163). Endotel hücrelerinin işlevinin bozulması kompleman sisteminin aktivasyonuna sebep olur. Kompleman sistemi, lökosit aktivasyonu ve kemotaksis uyarımı yanında proenflamatuar sitokin üretimini uyararak enflamatuar yanıtı şiddetlendirir (165, 166).

Fosfolipaz aktivasyonu sonucu araşidonik asit metabolitleri prostaglandin (PG), lökotrien (LT) ve tromboksan (Tx) üretilir. PG, LT-B₄, TxA₂ nötrofil kemotaksisinde rol alır. TxA₂ vazokonstriksiyonla kan akımının azalmasına neden olurken, LT-B₄ PMNL'lerden proteolitik enzim salınımına ve SOR oluşumuna neden olur (167).

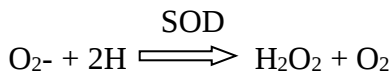
SOR dokuya doğrudan zarar vermenin yanı sıra PMNL'lerin kemotaksisine de neden olmaktadır. Aktive lökositlerden myeloperoksidaz (MPO), elastaz, proteaz, kollajenaz gibi proteolitik enzimlerin salınması yanında artan KO'a bağlı olarak daha fazla SOR oluşur. Ayrıca aktive lökositler damar içinde hücre topluluğu oluşturarak ve aktif trombositlerle endotele yapışarak mikrovasküler tıkanmaya sebep olur (163).

2.4.1. Serbest Radikaller

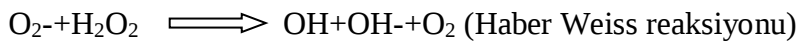
Bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kimyasal reaktiviteleri yüksek moleküller serbest radikal olarak adlandırılır. Kimyasal olarak kararsız yapıda olan serbest radikaller, dış yörüngelerindeki elektronu eşlemek için molekül veya atomlar ile etkileşime girerek kararlı duruma geçme eğilimindedirler (168, 169).

Süperoksit radikali (O_2^-), oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Serbest radikal olarak direkt zarar vermeyen O_2^- 'nin önemi hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (170).

O_2^- , spontan olarak ya da Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin katalizörlüğünde dismutasyona uğrayarak radikal olmayan reaktif oksijen bileşiklerinden H_2O_2 'ye dönüşür (170).



H_2O_2 'nin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle veya O_2^- ile tepkimeye girmesi sonucu oluşan hidroksil radikali (OH^-) güçlü bir oksijen radikali (171).



O_2^- 'nin H_2O_2 ve OH^- radikalleriyle tepkimeye girmesiyle oluşan singlet oksijen (131), ortaklanmamış elektronu olmadığı halde, üretimi sırasında bazı radikal

tepkimleri oluşturduğu için serbest radikal sayılır. Ayrıca deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA), protein, lipid ve sterollerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur (172).

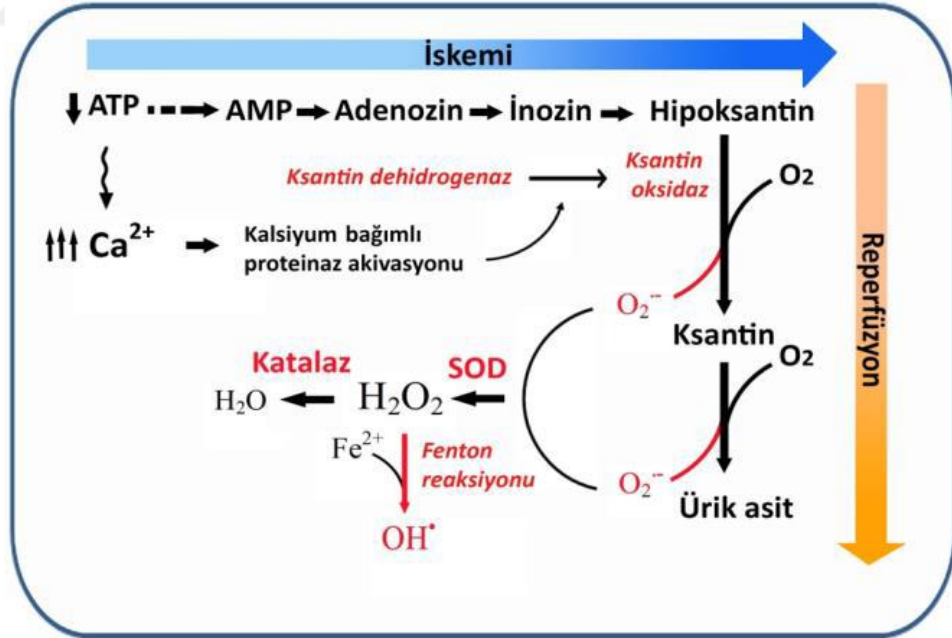
Radikaller bazen diğer radikallerle etkileşerek stabil moleküller meydana getirirken, radikal olmayan bileşiklerle yeni radikaller meydana getirebilirler. Yeni radikaller daha toksik olabilir veya başka toksik radikal reaksiyonunu başlatabilirler (173, 174).

2.4.1.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller endojen ve ekzojen kaynaklı olabilmektedir. Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunması sırasında da belirli oranda oluşur ve savunma mekanizmalarıyla organizmaya olabilecek zararlı etkileri önlenir. Sigara dumanı, radyasyon, hava kirliliği, stres, antineoplastikler, anestezikler, alkol ve uyuşturucu gibi dış etkenlerden dolayı serbest radikaller oluşabilmektedir. Serbest radikallerin endojen kaynakları ise: küçük maddelerin otooksidasyonu (katekolaminler), enzimler ve proteinler (ksantinoksidaz, triptofandioksijenaz, hemoglobin), mitokondrial elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450), peroksizomlar (oksidazlar), plazma membranı (lipooksidijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lipid peroksidasyonu), oksidatif stres etkenleri (iskemi, travma)'dir (13, 175, 176).

Ksantin oksidaz aracılı SOR oluşumu İlk defa Granger ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır (177). İskemi süresince mitokondriyal ATP retimi durur ve hücre içerisinde bulunan mevcut ATP katabolize olarak sırasıyla ADP, AMP, adenosin, inozin ve son basamakta da hipoksantin açığa çıkarır. Hem mitokondriyal üretimin durması hem de hücre içerisindeki ATP yıkımına bağlı oluşan enerji kaybı, membrandaki enerji bağımlı iyon pompalarında fonksiyon bozukluğuna ve hücre içi metabolizmanın anaerobik faza yönelmesine yol açar. Laktat ve hidrojen birikimi ile hücre içi pH düşer ve asidoz oluşur. Hücre içi artan hidrojen yükünü dengelemek için $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ pompası ile artan hidrojen hücre dışına atılır ve $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ az pompası ile de kalsiyum hücre içine yer değiştirir (178). Hasarlanan endoplazmik retikulum da hücre

içine kalsiyum salınımına yol açarak kalsiyum artışına katkıda bulunur (179). İntraselüler kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı sitozolik proteazları aktive eder (180). Aktivasyonu artan proteazlar, hücre içi hipoksantin dehidrogenaz enzimini ksantin oksidaza dönüştürür. KO ise reperfüzyonla gelen oksijeni oksidan olarak kullanır ve hipoksantini önce ksantine ve sonra da ürik aside dönüştürür. Son iki basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden O_2^- oluşur. Normal fizyolojik koşullarda oluşan O_2^- , SOD ile önce hidrojen peroksit sonra da katalaz etkisi ile suya dönüşür. Ancak İ/R'da KO etkisine bağlı olarak artan O_2^- ve H_2O_2 , antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez. Hidrojen peroksit daha sonra Fe^{2+} gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) reaksiyona girer ve en güçlü radikal olarak bilinen hidroksil radikalini ($OH^\bullet$) oluşturur (168). Reaktif oksijen türleri miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarındaki lipid yapılarda hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar (181) (Şekil 8).



Şekil 8: İskemi-reperfüzyon hasarında ksantin oksidaz aracılı SOR oluşumu (178).

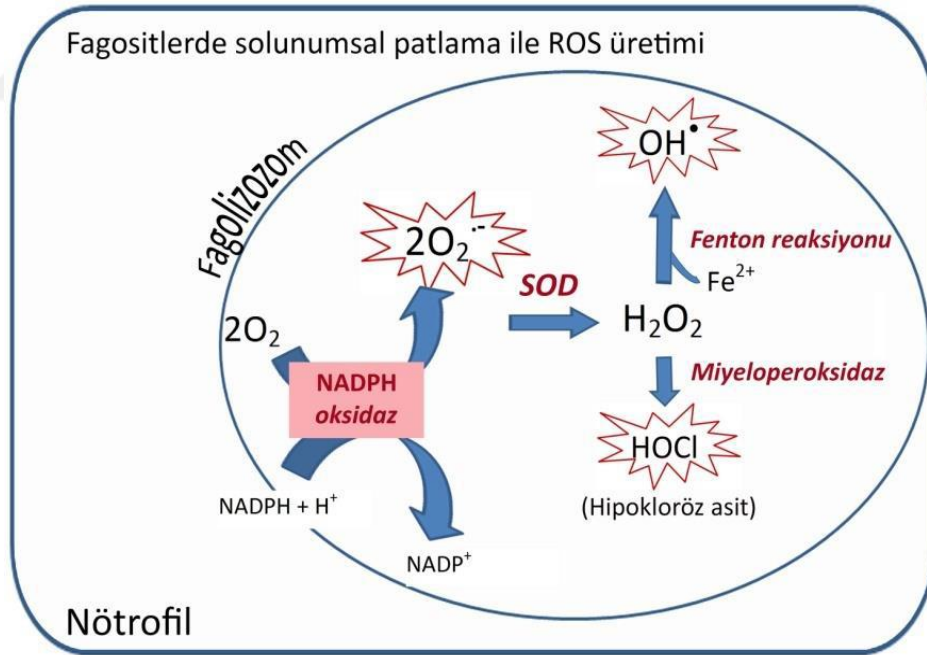
Normal fizyolojik koşullarda mitokondriyum hücre içi oluşan O_2^- 'nin başlıca kaynağıdır. Hücrelere giren oksijenin %90'ı elektron transport zincirinde suya indirgenirken %1-2'lik bir kısım Elektron Transport Zinciri (ETZ)'den elektron kaçağına bağılı olarak süperoksite dönüşür. Normalde oluşan bu süperoksitler, SOD enzimi tarafından hızlıca dismutasyona uğrattılır. İskemi durumunda ETZ'inde moleküler oksijen yokluğına bağılı olarak elektron akışı durduğından bu kompleksler indirgenmiş düzeyde kalır. ETZ'den sızan elektronlar rezidüel oksijenle reaksiyona girerek O_2^- üretimine yol açarlar. Reperfüzyonda ise moleküler oksijenin gelişi ile ETZ'den elektron sızıntısı artar ve patolojik süreç O_2^- üretiminin artışı ile devam eder (182). Ayrıca serbest radikallerin mitokondriyal membran yapılarında oluşturduğı hasar sonucunda mitokondrilerden ortama daha fazla serbest radikal salınır. Mitokondriyum dış zarında bulunan monoaminoksidaz (MAO) enzimi ise mitokondriyal SOR üretiminden sorumlu diğerk önemli mekanizmadır. Normal şartlarda MAO, nörotransmitter deaminasyonundan sorumludur ancak reaksiyon sırasında yan ürün olarak prooksidan bir molekül olan H_2O_2 üretilir (183). Özellikle kardiyak İ/R hasarında oksidatif stres oluşumunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (184). Reperfüzyonda mitokondriyal SOR üretiminin yukarıdaki mekanizmalara bağılı olarak artışına, mitokondriyal antioksidan kapasitenin azalması da eklenince oksidatif denge net SOR üretiminin artışı yönüne kayar ve sonuçta hücre içi oksidatif denge bozularak doku hasarı ortaya çıkar.

İ/R hasarında SOR oluşumdan sorumlu bir diğerk neden ise endotel hücreler ve reperfüzyonla bölgeye gelen başta nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücreler arasındaki etkileşimlerdir. İ/R sırasında dokuda meydana gelen inflamasyon ve endotel hücreleri ile vasküler yatakta bulunan diğerk hücrelerce (makrofajlar ve mast hücreleri) salınan proinflamatuvar mediyatörler, PMNL bölgeye migrasyonuna ve adhezyonuna yol açar. Birçok çalışmada karaciğerk, kalp, böbrek, akciğerk ve beyin gibi organların İ/R'a bağılı zedelenmesinde nötrofillerin doku düzeyinde ve sistemik olarak arttığı gösterilmiştir (185).

Normal fizyolojik şartlarda fagositik lökositler (makrofaj, nötrofil v.b) SOR'un tetiklediğı inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak aktive olurlar ve solunumsal patlama adı verilen mekanizmayla oksidan mediyatörler üretirler. Fagositik hücrelerde solunumsal patlamada SOR üretiminden sorumlu başlıca enzim NADPH oksidaz

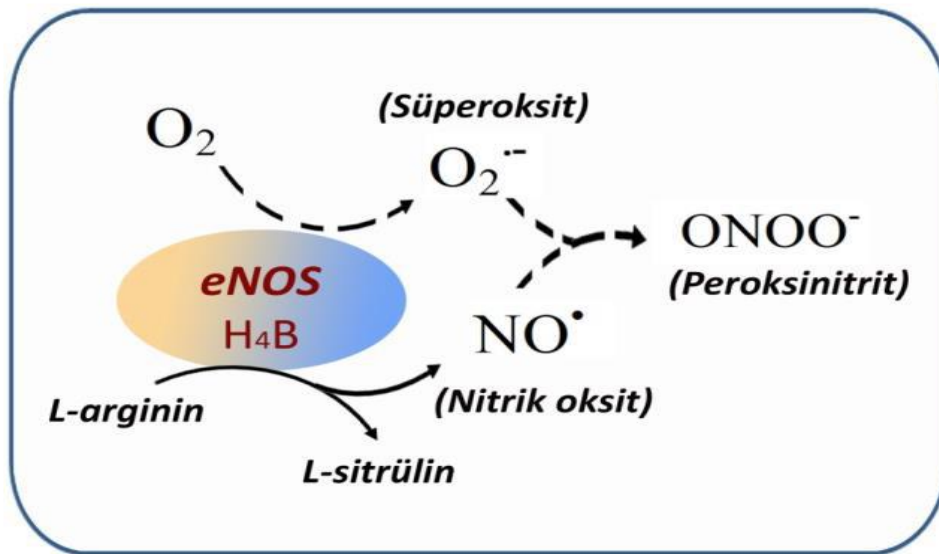
(NOX) olup aktivasyon sırasında oksidan üretimi yaklaşık 50-100 kata kadar artabilir (186). NOX aracılığıyla üretilen süperoksitler, SOD aracılığı ile önce hidrojen peroksit ve sonrasında miyeloperoksidaz etkisi ile de hipokloröz asite veya Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikaline ($\text{OH}^\bullet$) dönüşür ve ortama salınır (Şekil 9). PMNL kaynaklı bu artmış SOR üretimi, reperfüzyon hasarında başlıca rolü oynar. PMNL'den bunun dışında IL-1, IL-6, IL-12, İnterferon gamma ($\text{IFN}\gamma$) ve Tümör nekrozis faktör alfa ($\text{TNF}\alpha$) gibi sitokin ve kemokinler ile elastaz ve kollejenaz gibi proteazlar salınarak bölgeye daha fazla inflamatuvar hücre toplanmasına ve daha fazla SOR üretimine yol açar (187).

İ/R'da endotel hücrelerinin selektin ve integrin gibi adhezyon molekülleri aracılığıyla lökosit toplanmasını ve dolayısıyla daha fazla SOR üretimini tetiklemesi dışında, yüzeyinde bulunan KO enzimi ile de oksidatif strese katkıda bulunduğu bilinmektedir. Ancak bu enzim hepatosit, enterosit ve kapiller endotelyal hücrelerde diğer dokulara göre daha belirgin olarak bulunmaktadır (188).



Şekil 9: İ/R'de bölgeye göç eden fagositik hücrelerde görülen “solunumsal patlama” (178).

Nitrik oksit (NO^-), reaktif bir radikal olup başlıca nitrik oksit sentaz (NOS) ailesinin endotelial (eNOS), indüklenbilir (iNOS) ve nöronal (nNOS) izoformları tarafından sentezlenir. Oldukça karmaşık etki mekanizmasına sahip olan nitrik oksitin bu etkileri üretim hızı ve miktarına göre değişkenlik gösterir ve bu durum İ/R hasarında kritik rol oynar. Dokularda normalde oksijen varlığında argininin sitrülline oksidasyonu ile sentezlenir, kofaktör olarak tetrahidrobiopterin kullanılır (189). Normal fizyolojik koşullarda eNOS tarafından endotelial hücrelerde oldukça az miktarda üretilir ve vazodilatasyon, düz kaslarda relaksasyon, lökosit adhezyonunu engelleyici, trombosit fonksiyonları ve hücre içi sinyal iletiminde düzenleyici rol oynar. Endotelial NOS, teka-granuloza hücrelerinde ve foliküler gelişim sırasında oosit yüzeyinde eksprese olmaktadır. Patolojik durumlarda indüklenbilir NOS, NO üretiminde büyük bir rol alabilir. İ/R'da ise süperoksit radikallerinin oluşumu artar. Artan süperoksit, ortamda endojen olarak bulunan NO^- ile reaksiyona girerek oldukça reaktif ve potansiyel olarak toksik peroksinitrit (ONOO^-) ve nitrojen trioksit (N_2O_3) oluşumunu sebep olur (Şekil 10). Ayrıca endojen üretilen NO^- miktarının azalmasına yol açtığından, NO^- in koruyucu etkilerini engeller ve oksidatif strese katkıda bulunur. Ortamda bulunan NO^- ile arginin ve/veya tetrahidrobiopterin kofaktörünün azalması da NOS'un süperoksit üretimine yönelmesini tetikleyerek SOR oluşumunu artırır (190).



Şekil 10: Nitrik oksit sentaz yolağı (178).

2.4.1.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller; nükleik asitler, serbest amino grup asitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dâhil, organizmadaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedir. Fakat serbest radikal hasarından en fazla etkilenen lipitlerdir (11, 12, 191).

Serbest radikaller plazma ve organel membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile reaksiyona girerek peroksidasyona sebep olur. Lipit peroksidasyonu, serbest radikalın çoklu doymamış yağ asidinden hidrojen atomu uzaklaştırmasıyla başlar. Oluşan lipit radikali oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksit radikalini oluşturur. Lipit peroksit membrandaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girip yeni lipit radikali oluşumunu sağlarken, açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksit'e dönüşür. Lipit peroksitler de malondialdehit (MDA), 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşür (191).

Serbest radikaller bazı aminoasitlerle reaksiyona girerek enzimleri etkisizleştirip, fonksiyon görmeyen proteinlerin oluşmasına sebep olur. Enzim veya reseptör fonksiyonuna sahip membran proteinleri, özellikle serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı oldukları için protein oksidasyonu ile önemli hücresel ve membran fonksiyonları bozulmaktadır (192).

Aktive nötrofillerden kaynaklanan H_2O_2 membranlardan geçerek hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve ölümüne yol açabilir (193).

2.4.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)

Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adhezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabiledaki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir (194). İ/R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir. Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İ/R hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri

sürülmüştür (195). Bunlar: 1) Mikrovasküler oklüzyon; 2) SOR salınması; 3) Sitotoksik enzim salınması; 4) Vasküler permeabilite artışı ve 5) Sitokin salınmasında artıştır.

PMN'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu arttırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur. İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (196).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B₄ (LT-B₄), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ve TNF-a sentezine yol açar. Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarırlar. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar (163). Yapılan son çalışmalarda; nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozisin gelişmesi, normalde immün sistemin ve vücut homeostazının vazgeçilmez bir bileşenidir (197). Hücrel ölüm yolağındaki düzensizlikler, iskemi-reperfüzyon hasarının yanı sıra, kanser, otoimmün hastalıklar, immün sistem bozuklukları ve nörodejeneratif hastalıklara da yol açabilmektedir. Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıt üç mekanizma ile gerçekleştirilir. Bunlar; Fosfolipaz A₂ aktivasyonu araşidonik asit metabolitleri

(prostoglandinler ve lökotrienler) sonucu üretimi, degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınımı, SOR üretimi şeklindedir (162).

Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü araçlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirirler. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya yoğunluğunu azaltmaya yönelik bu inflamatuvar yanıt sonucu, mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve makrofajlar aracılığıyla lenfatik dolaşım yoluyla ortamdan uzaklaştırılırlar (162, 163). İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF, TNF- α gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur (198).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ/R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz enzimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde ksantin-oksidad'ın artması ile SOR'un salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksit dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden

olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır (199).

2.4.3. Komplemanın Rolü

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anafلاتoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler.

Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi arttırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (200, 201).

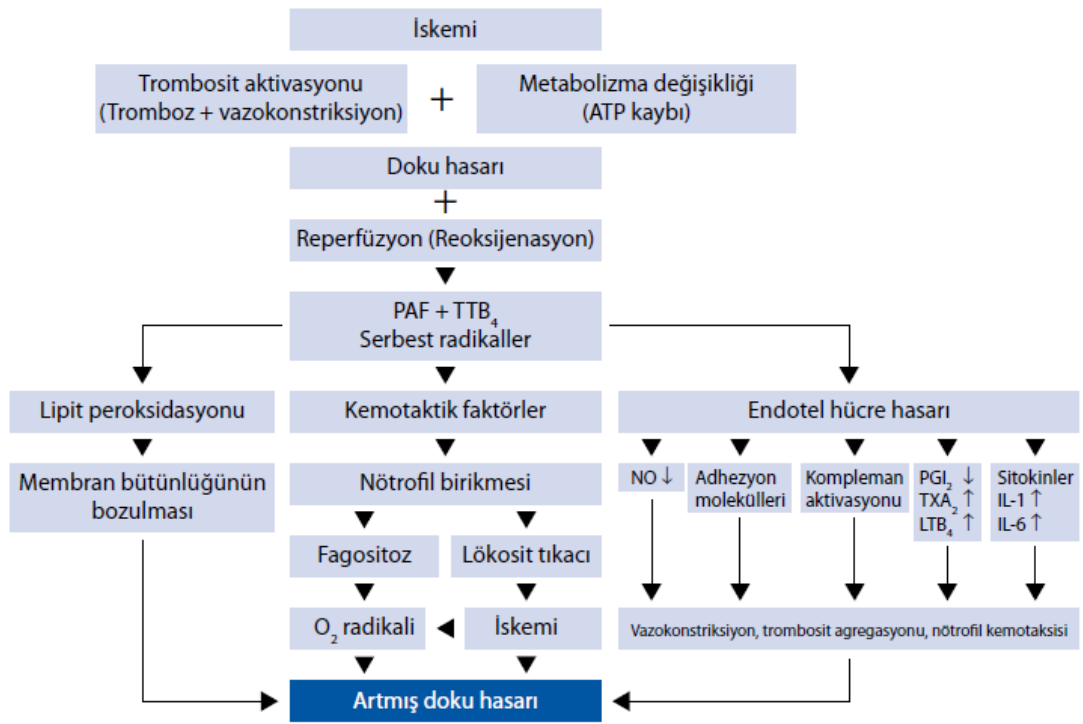
2.4.4. Endotel Hücresinin Rolü

İ/R hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/R hasarında Endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur (164).

Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak İL-1, PAF, prostaglandinler (PGI2, PGE2), büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A2 (TxA2) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir (198).

Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO_3^-) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır.

Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'in dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücresel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler (188).



Şekil 11: İ/R hasarında oluşan olaylar dizisi (13).

2.5. OKSİDATİF STRES VE OKSİDAN/ANTIOKSİDAN ÇEVRE

Oksidan ve antioksidan çevre arasındaki hassas dengenin serbest radikaller lehine yön değiştirmesi oksidatif stres gelişmesine neden olmaktadır. SOR ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi yüksek reaktif moleküllerin aşırı üretilmeleri ya da ortadan kaldırılmalarının yetersiz olması oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif strese yol açan reaktif oksijen türleri olarak hidroksil radikalleri (OH⁻), süperoksit anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve peroksil (RO₂) gibi türleri sayabiliriz (203). Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit (NO), nitrojen dioksit (NO₂⁻), peroksinitrit (ONOO⁻), nitroz oksit (HNO₂), alkil peroksinitrat (RONOO⁻)'tır (202).

SOR ve RNS; yapılarında eşlenmemiş tek elektron bulundurduklarından instabil ve yüksek oranda reaktiftirler. Karbonhidratlardan, nükleik asitlerden, lipitlerden, proteinlerden veya herhangi bir molekülden elektron alarak istikrarlı hale gelirler ki bu, hücre hasarına ve işlev bozukluğuna yol açan kaskadı aktive eder (202).

2.5.1. Oksidan Kaynaklar

Fizyolojik şartlarda gerçekleşen pek çok hücrel aktivite oksidan oluşumuna yol açar. Bu oksidan moleküller endojen ya da eksojen kaynaklı olabilirler.

2.5.1.1. Endojen Oksidan Kaynakları

Normal biyolojik işlemlerden mitokondrideki oksijenli solunum sırasında ETZ'de katabolik ve anabolik reaksiyonlar sırasında endoplazmik retikulumda sP450 sisteminde meydana gelen elektron kaçakları sonucunda oksidanların oluşması kaçınılmazdır. Mitokondride aşırı kalsiyum yükü ve mitokondri iç zar geçirgenlik değişikliğine bağlı olarak mitokondri SOR üretimi artışı göstermektedir (203).

Peroksizomlar çok önemli hücre içi H₂O₂ kaynağıdır. Peroksizomlardaki aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden bol miktarda H₂O₂ üretimine neden olurlar. Ancak peroksizomlarda, hidrojen peroksidin suya ayrışmasını katalizleyen CAT enziminin aktivitesi de çok yüksek olduğundan peroksizomlardan sitozole ne kadar H₂O₂ geçtiği bilinmemektedir (204).

Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH), NADPH oksidaz tarafından okside edildiği reaksiyonda oksijen de süperoksit iyonuna redükte edilir (205).

Ayrıca organizmada serbest Fe ve Cu gibi minerallerin normalden fazla olması da oksidan madde oluşumunu artırır.

2.5.1.2. Ekzojen Oksidan Kaynakları

İskemi, hemoraji, travma, entoksikasyonlar, radyoaktivite veya alerjik durumlarda mitokondrilerdeki aerobik solunum reaksiyon dengesi etkileneceği için, ETZ'den elektron kaçakları daha fazla olacak ve oksidan maddelerin miktarı da artacaktır. Ayrıca hücre içinde oksidanların artması lipidlerin peroksidasyonunu ve proteinde dekarboksilasyonunu da tetikler. Sigara dumanı, kirli hava, ozon, nitrojen dioksit, benzen, kükürt dioksit gibi inhale edilebilen ksenobiyotikler de oksidan madde miktarını artırır. Alkol, uyuşturucu ve benzeri alışkanlık yapıcı maddelerin de homeostazisi bozmaları nedeniyle oksidan madde oluşumunu artırdığı bilinmektedir. Ayrıca nitrofurantoin, doxorubicin gibi sitotoksik ajanların da oksidan madde oluşumunu artırdığı bilinmektedir. Başta infeksiyon olmak üzere birçok nedenle artmış olan lökotrienler, PAF, prostoglandinler gibi mediatör maddeler; nötrofiller, monositler ve eozinofil hücrelerini aktive ederler. Bu hücreler aktive olunca hem doku lezyonunun olduğu yerde birikirler hem de oksidan moleküller salgırlar. İşte bu sırada enfeksiyöz ajanlarla savaş için gerekli olan oksidan moleküller, kan hücreleri tarafından aşırı salgılanacak olursa bu kez yarar yerine zararlı olmaya başlayacaklardır (206).

2.5.2. Antioksidan Savunma Sistemi

Organizmada, serbest radikallerin oluşumunu ve zararlı etkilerini önlemek için gelişmiş antioksidan savunma sistemleri vardır. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan “antioksidan savunma sistemi” dört yolla etki göstermektedir.

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, “süpürücü etki”. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler (207, 208).
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya “inaktif şekle dönüştürücü etki”. Vitaminler, flavanoidler bu tarz etkiye sahiptirler (209).
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki, “zincir kırıcı etki”. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu guruptadırlar (210).
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde “onarıcı etki” gösterirler (211).

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik endojen kaynaklı olabileceği gibi eksojen kaynaklı da olabilir (193).

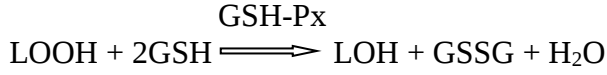
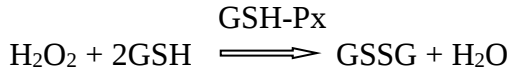
2.5.2.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Mitokondriyal sitokromoksidaz sistemi, SOD, CAT, GSH-Px, glutatyon S-transferaz, glutatyon redüktaz (GSH-R) bu grupta yer alan enzimlerdir (168). Sitoplazmada, mitokondride ve ekstrasellüler sıvıda bulunan SOD, O₂’nin H₂O₂’ye dismutasyon hızını artıran antioksidan enzimdir. O₂’nin azalması, H₂O₂’nin Haber Weiss reaksiyonuyla OH⁻ oluşturmasını engellemiş olur (170, 171).

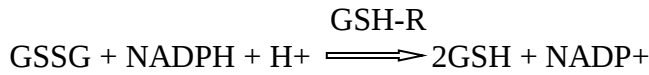
Çoğunluğu peroksizomlarda bulunan CAT, H₂O₂’yi su ve oksijen’e dönüştürerek OH⁻ oluşumunu önler (185).



Glutatyon sistemi, oksidatif hasarın azaltılmasında rol oynayan, serbest radikallerin hücre içinde detoksifikasyonuna neden olan ve lipit peroksidasyonunu önleyen en önemli endojen mekanizmalardandır. GSH-Px; H₂O₂’yi suya, lipit hidroperoksitleri alkol ve suya dönüştürür (11).



Okside GSH, NADPH varlığında GSH-R tarafından tekrar GSH'a indirgenir (11).



2.5.2.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

Bu grupta içinde α -lipoik asit, ürat, γ -glutamil-sisteinil-glisin (glutasyon, GSH) gibi hidrofilik radikal süpürücüler, flavonoidler, karotenoidler, ubiquinol gibi lipid radikal süpürücüler yer alır (212).

2.5.2.3. Eksojen Antioksidanlar

Vitamin E (α -tokoferol), vitamin A (β -karoten), vitamin C (askorbik asit), folik asit yanı sıra bazı ilaçlar ve gıda antioksidanları bu grupta yer alır (11). Antioksidan etkili vitaminler ile serbest oksijen radikalleri detoksifiye edilir. E vitamini lipidden zengin membranlarda, C vitamini su bazlı ortamlarda temel korumayı oluşturur. E vitamini lipid peroksidasyonunda oluşan zincirleme reaksiyonu, yapısındaki hidrojen atomunu lipid peroksiline vererek önler. Kendisi ise oksidasyon sonucu α -tokoferoksil radikaline dönüşür. C vitamini (askorbik asit) ise bir elektron vererek dehidroaskorbata indirgenirken tokoferoksil radikalinin α -tokoferole dönüşümünü gerçekleştirir (212).

Bir diğer önemli antioksidan savunma yöntemi ise Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikali oluşumunun engellenerek, redoks aktif metallerin (bakır, demir gibi) transport veya depo proteinlerine bağlanarak ortamdan uzaklaştırılması ve serbest radikallerin lipidlerle oluşturduğu zincirleme reaksiyonların durdurulmasıdır (212).

2.6. MALONDİALDEHİT (MDA)

Aldehitlerin değişik yerlerde değişik mekanizmalarla proteinlerle reaksiyona girebilme olasılıkları çok fazla olduğundan biyolojik sistemlerde lipooksidasyon ürünlerin tespiti üzerine yoğunlaşmıştır. Bu lipid peroksidasyon ürünleri genellikle kırmızı hücre membran proteinlerinde, çekirdekli hücrelerin plazma ve intraselüler membranlarında ve kollajen gibi ekstraselüler sıvıda yüzen uzun ömürlü proteinlerde oluşurlar. Ek olarak plazma proteinleri ile taşınırlar ve idrarda modifiye amino asit ve lipidlerin bozulmuş ürünleri olarak ortaya çıkarlar. Bunlardan bizim çalışmamızda MDA kullanılmıştır. İ/R sonucu oluşan serbest radikallerin en önemli hedef yapılarından biri de lipidler olduğundan lipid peroksidasyonu bazı araştırmacılar tarafından İ/R hasarında anahtar olarak kabul edilmektedir (213). Serbest oksijen radikallerinin, hücrede başlattığı en önemli ve en zararlı etki plazma ve organel membranlarında lipid peroksidasyonudur. Serbest oksijen radikalleri çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomu alarak lipid peroksidasyonunu başlatır ve sonuçta hidroperoksitler oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda hücre membranı akışkanlığını yitirir ve membran bütünlüğü bozulur. Bu durum hücre fraksiyonlarının çevreye salıverilmesine ve hücre ölümüne yol açar. Diğer taraftan çevreye salıverilen bu subsellüler yapılar inflamatuvar olayları tetikler ve hasarı daha da kötüleştirir (214). Lipid peroksidasyonu, lipid moleküllerindeki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkması ile başlatılan karmaşık bir olaydır. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid serbest radikali oluşur. Oksijen varlığında bu yeni lipid serbest radikalinden lipid peroksitler veya hidroperoksitler oluşmaktadır. Bu son ürünler nispeten daha stabil bir son ürün olan ve lipid peroksidasyonunun markeri olarak kullanılabilen MDA'ya dönüşür (215). MDA gerek enzimatik gerekse non enzimatik lipid peroksidasyon reaksiyonunun en çok test edilen son ürünüdür.

Lipid peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin herhangi bir radikale dönüşümünü tetikleyen temel mekanizma olup MDA düzeylerinin ölçümü ile değerlendirilir. Aldehit yapılı bileşiklerin uzun yaşam süreli ve zararları geçebilme özelliğinde olması lipid peroksidasyonunun hedef organlarındaki etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Oksidatif strese oluşan lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA artışı hücre hasarının olduğunu gösterir (216).

2.7. OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SEVİYE

2.7.1. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Çeşitli antioksidanların seviyelerinin ayrı ayrı ölçümü pahalı olup zaman almakta ve daha çok çalışmaya ve karışık tekniklere ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle antioksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçümü pratik olmadığından ve antioksidan etkilerinin aditif olmasından dolayı, örneğin total antioksidan kapasitesi ölçülür ve buna total antioksidan kapasite (TAC), total antioksidan aktivite (TAA), total antioksidan güç (TAOP), total antioksidan yanıt, total antioksidan seviye (TAS) gibi isimler verilmiştir. Bu amaçla Vitamin E, β -karoten, flavonoidler, GSH, ürat, bilirubin, trans- ferrin, seruloplazmin, albumin, GPx, Se, SOD ve CAT seviyeleri değerlendirilmektedir (217).

2.7.2. Total Oksidan Seviye (TOS)

Yine aynı şekilde çeşitli oksidan türlerinin konsantrasyonları laboratuvarında ayrı ayrı ölçülebilir ancak bu şekilde de ayrı ayrı ölçüm zaman alıcı ve pahalı olup daha çok çalışma ve karışık tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. Farklı oksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçümü pratik olmadığından ve oksidan etkilerinin aditif olmasından dolayı, örneğin total oksidan seviyesi (TOS) ölçülür ve buna total peroksit (TP), serum oksidasyon aktivitesi (SOA), reaktif oksijen metabolitleri (ROM) gibi isimler verilmiştir. Bu amaçla hidrojen peroksit, t-butyl hidroperoksit ve cumeme hidroperoksit solüsyonları gibi çeşitli oksidan türleri kullanılmıştır (218).

2.7.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

TOS'un TAS'a yüzde oranı OSİ olarak tanımlanır ve oksidatif stresin bir belirteçidir. Öncelikle TAS değerleri $\mu\text{mol/L}$ 'ye çevrildi. OSİ değeri Formula yöntemine göre hesaplandı:

$$\text{OSİ (Arbitrary Unit)} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv/L}) / \text{TAS } (\mu\text{mol Trolox Equiv/L})$$

2.8. TRİMETAZİDİN (TMZ)

Trimetazidin koroner arter hastalıklarında yaygın olarak kullanılan bir anti iskemik ajandır. Mitokondride bir tiolaz enzim olan uzun zincir mitokondrial 3-ketoasil koenzim inhibisyonu ile serbest yağ asidi oksidasyonunu azaltıp glukoz oksidasyonu üzerinde indirekt uyarıya neden olan antianginal ilaçtır (219, 220).

Etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Serbest oksijen radikali oluşumunu engelleyerek etkili olduğu düşünülmektedir. TMZ'in glikoliz, glukoz oksidasyonu veya yağ asidi oksidasyonu üzerine direkt etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi amacıyla yapılan deneysel çalışmalarda, TMZ'in oksijen tüketimini, koroner arter kan akımını değiştirmediği ortaya konmuştur. TMZ'in vazodilatatör etkisi yoktur. TMZ'in kalpde aerobik koşullar altında glukoz oksidasyonunu anlamlı oranda arttırdığı, palmitat oksidasyonunu anlamlı oranda azalttığı, glukoz oksidasyonundaki artma oranları glikoliz ve glukoz oksidasyonu yolları arasındaki birleşmeyi iyileştirdiği gösterilmiştir. TMZ beta oksidasyonun ilk üç enziminden herhangi biri üzerine etkili değildir. Beta oksidasyonun son basamağını kataliz eden uzun zincir üç keto açil koA tiolaz enziminin güçlü inhibisyonuna neden olur. TMZ'in inhibe edici konsantrasyonu klinikte kullanılan konsantrasyonu ile uyumludur (219, 220). TMZ'in birçok çalışmada kalpte iskemik hasara karşı koruyucu etkinliğe sahip bir ajan olduğu gösterilmiştir. Ciddi iskemik kardiyomyopatili hastalarda kliniğin düzelmesinde bu ilaç oldukça etkili bulunmuştur. Hücresel düzeyde etkili olan TMZ iskemiye bağlı hasar üzerine belirli aşamalarda etkilidir. TMZ kalpte iskemiye bağlı enerji yetersizliğini iskemik koşullarda yüksek sodyum ve potasyum düzeylerinin oluşumunu ve aşırı miktarlarda serbest radikallerinin açığa çıkmasını azaltmaktadır. Olumsuz yan etkilerinin olmaması nedeniyle oldukça ideal bir ajan olarak görülmektedir. TMZ kardiyoprotektif etkinliğini dinlenme ya da egzersiz esnasında ana hemodinamiklerde herhangi bir değişikliğe yol açmaksızın gerçekleştirmektedir. Dolayısıyla kalp atımı ya da kan basıncı üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmamaktadır. TMZ'in klinik çalışmalarda periferik vasküler hastalıklarda iskemik semptomları belirgin azalttığı rapor edilmiştir. Beyin ve kalpteki iskemik hasarın patogenezi benzerlikler göstermektedir. İskemik hasar sonucu oluşan değişiklikler TMZ'e yanıt verebilmektedir. Sonuç olarak ATP sentezinde toksik düzeylere varan kalsiyum birikiminde ve serbest radikallerin üretiminde azalma ortaya

çıkılmaktadır. TMZ'in lipofilik ve kan beyin bariyerine kolayca geçiş özelliği nedeniyle yüksek düzeyde nöroprotektif etkinliği değişik çalışmalarda ortaya konmuştur. Ayrıca etkinliği kanıtlanmış başka sınıf nöroprotektif stratejilerde TMZ birlikte kullanılarak sinerjistik etkinlikleri araştırılmaktadır (221).

Şok, vasküler cerrahi ve renal organ nakli esnasında oluşan renal iskemi reperfüzyon hasarında oksijen serbest radikal üretimi doku zedelenmesinin en önemli mekanizmasını oluşturmaktadır. Bu hipotezi destekleyen veriler lipid peroksidasyon ürünlerinde değişiklikler, endojen antioksidanların azalması, glutatyon düzeylerinin azalmasına dayanmaktadır. Anti iskemik etkinliği hücresel düzeyde kanıtlanmış olan TMZ'in böbreklerde iskemi reperfüzyon hasarından korunmada oldukça yarar sağladığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (222, 223).

Trimetazidinin marketlerde genel olarak 20 mg'lık hızlı salınımlı günde üç doz alınan ve 35 mg'lık yavaş salınımlı hasta uyumunu artıran günde iki kez kullanılan iki formülasyonu mevcuttur. Oral alımı sonrası hızla bağırsaklardan emilir ve biyoyararlanımı bilinen herhangi bir gıdadan etkilenmez (224). Ortalama plazma pik konsantrasyonuna hızlı emilimli tabletlerde 1,8 saatte ulaşılır ve değeri 53,6 mg/Ldir. Plazma konsantrasyon eğrisi altındaki alan tek dozda 508.9 µg, multi dozda 831.4 µg dır. Kararlı duruma 24 saatte ulaşır ve idrarda tespit edilen düşük metabolite dönüşür. Trimetazidin plazma proteinlerine zayıf bağlanır. Hızlı salınımlı oral tabletlerin tek doz alımlarında veya tekrarlayan alımlarında eliminasyon yarı ömrü 6 saattir ve büyük oranda idrarla atılır (219,220).

Trimetazidinin sitoprotektif etkileri iyi tanımlanmış olup özellikle oksidatif stres markerlarını olumlu yönde değiştirdiği gösterilmiştir. İskesen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada süperoksitdismütaz ve glutatyonredüktaz (normal aerobik metabolizma sırasında ortaya çıkan oksijen radikalleri akımını sınırlayan en önemli endojen antioksidan enzim sistemi) seviyelerini artırdığı ve MDA seviyelerini düşürdüğünü göstermişlerdir (226). Trimetazidin reaktif oksijen türleri ile indüklenen membran hasarını da sınırlar ve antioksidan etkileriyle dokuyu serbest radikallerinden korur.

Klinik çalışmalar, trimetazidinin genellikle iyi tolere edilebilen, genellikle orta dereceli ve ilacın kesilmesinden sonra ortadan kalkan yan etkileri olduğunu

göstermiştir. Trimetazidin sistematik review ve metaanalizlere göre çok düşük oranda yan etki ve ilaç kullanımını bırakma oranına sahiptir. Kontrollü çalışmalarda trimetazidin alan grupta sık görülen yan etkiler mide ya da özefagial yanma, kas krampları, baş dönmesi, depresyon, sedasyon, çarpıntı, görme bozukluğu, anoreksi ve iştah artışıdır. Plasebo kontrollü çalışmalarda gruplar arasında ilaç bırakımı ve yan etki arasında fark izlenmemiştir. Diğer antianjinal ilaçlarla karşılaştırıldığında daha az ilaç bırakma oranları izlenmiştir (227).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 13.05.2014 tarih, 0018 protokol no ile onaylanan bu çalışma T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. HAYVAN BAKIMI VE TEDAVİSİ

Çalışmaya T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen 35 adet Wistar Albino cinsi, genç erişkin, ağırlığı 200-250 g arasında değişen dişi rat dahil edildi. Deney hayvanlarının elle alıştırma (handling) sürecinden geçirilerek deney yapan kişiye alışmaları sağlandı. Çalışma için seçilen sıçanlar, enstitü kurulunun hayvan bakımı yönergelerine uygun olarak Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda kafeslendi. Ratlar çalışma süresince, tabanı ve yanları plastik, üstü tel örgü ile kapalı olan fareler için özel üretilmiş standart kafeslerde yaşatıldı. Her kafese en fazla 7 rat konuldu. Kafeslerin tabanında altlık materyali olarak ince sarı saman kullanıldı. Bakım odası ısısı 24 ± 1 °C, nem oranı $\%55 \pm 5$ ve ışık/karanlık ayarı 12/12 saat olarak belirlendi. Ratların beslenmesi için devamlı yem ve su verilerek (*ad libitum*) bakıldı. Suluk olarak, sürekli kafeslerin üzerinde bulundurulmuş cam suluklar kullanıldı. Yem olarak Türk Standartları Enstitüsü (TSE) standartlarına uygun olarak yaptırılan pelet yemler seçildi. Stres yaratılmadan, sert ve ani hareketlerden kaçınılarak çalışıldı. Gürültüden uzak, sessiz ortamda çalışmalar yapıp, deneyin yapıldığı alanın deney hayvanlarının bulunduğu ortamdan uzak olması sağlandı.

Ratlar 5 eşit gruba ayrıldıktan sonra operasyon öncesi 6 saat açlığı takiben 40 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg xylazine kullanılarak genel anesteziye alındı. Operasyon öncesi ratların batın ön duvarı traşlanarak %10'luk povidin iyot çözeltisi ile antisepsi sağlandıktan sonra abdominal median laparotomi uygulandı.

3.2. GRUPLAR VE CERRAHİ PROSEDÜR

Deney toplam 35 deney hayvanı ile yürütüldü. Ratlar 5 gruba ayrıldı. Her grupta 7 rat mevcuttu.

1. Grup (Sham grubu) (S): Sham grubu olarak kabul edildi ve bu gruba herhangi bir işlem yapılmaksızın laparotomi yapılarak sağ over çıkarıldı.

2. Grup (İskemi grubu) (İ): Bu gruba laparotomi yapılarak sağ overin 0,5 cm üzerinden ve 0,5 cm altından overi besleyen vasküler yapılar 4/0 vikril ile bağlanarak 2 saat boyunca iskemi yapıldıktan sonra over çıkarıldı.

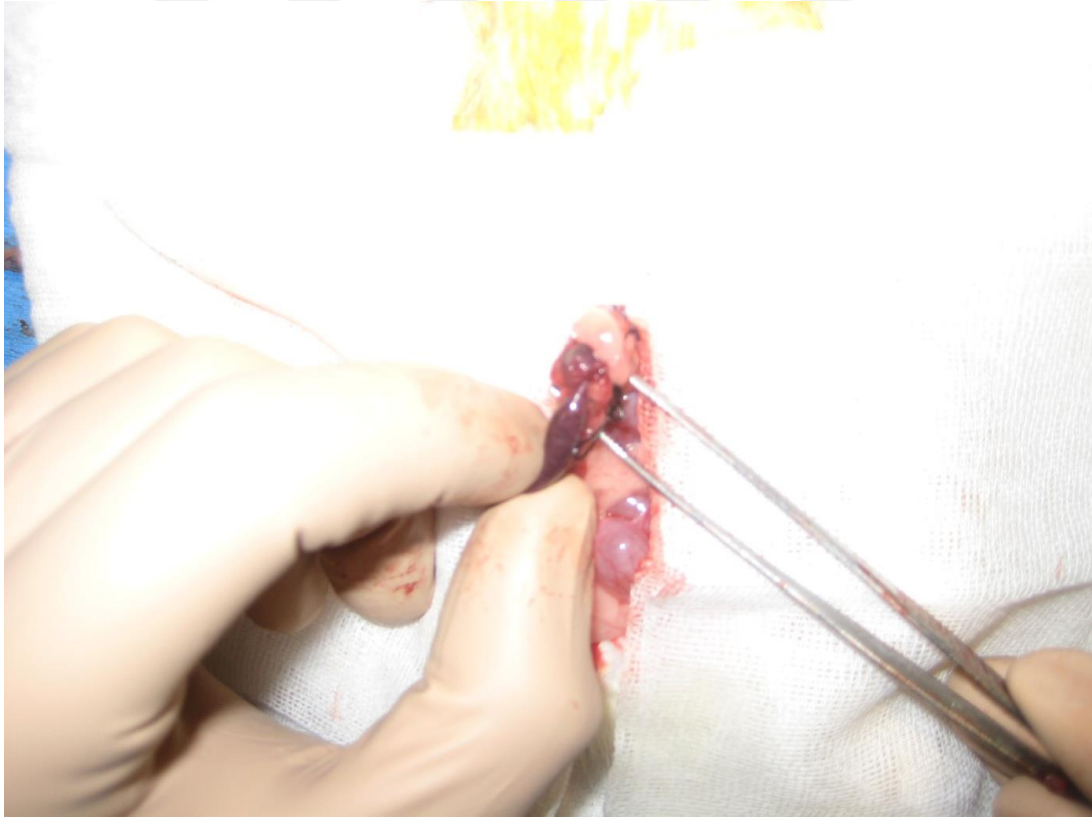
3. Grup (İskemi/Reperfüzyon) (İ/R): Bu gruba laparotomi yapılarak sağ overin 0.5 cm üzerinden ve 0.5 cm altından overi besleyen vasküler yapılar 4/0 vikril ile bağlanarak 2 saat boyunca iskemi yapıldıktan sonra, sütürler çıkartılarak 2 saat boyunca over reperfüze edildi. Reperfüzyon süresi tamamlandıktan sonra over çıkarıldı.

4. Grup (Sham+5 mg/kg oral Trimetazidin) (S+5 mg TMZ): Bu gruba laparotomiden 3 gün önce TMZ 5 mg /kg oral günde iki doz olarak verildi. 3 günün sonunda laparotomi yapılarak iskemi/reperfüzyon modeli yapılmaksızın sağ over çıkarıldı. Bu grupta ilacın patoloji olmadan sağlam over dokusunda etkisi araştırıldı.

5. Grup (İskemi/Reperfüzyon+5 mg/kg oral Trimetazidin) (İ/R+5 mg TMZ): Bu gruba laparotomi öncesi üç gün boyunca günde iki doz TMZ 5 mg /kg oral verildikten sonra laparotomi yapılarak sağ overin 0,5 cm üzerinden ve 0,5 cm altından overi besleyen vasküler yapılar 4/0 vikril ile bağlandı ve 2 saat boyunca iskemi yapıldı. İskemi süresi tamamlandıktan sonra sütürler çıkartılarak over dokusu 2 saat boyunca reperfüze edildi. Reperfüzyon süresi tamamlandıktan sonra over çıkartıldı.

T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda uygulama yapılmak için seçilen ratların aynı menstruel siklusa olmaları göz önünde bulundurulmuş ve bunun için vajinal duvardan yapılan sürüntü örneklerine göre aynı fazda (Östroz) olmaları sağlanmıştır. Uygulamaların sonunda her gruptaki ratlara anestezi intraperitoneal ketamin 40 mg/kg (Ketalar® Flakon 50 mg/ml Pfizer) ve intraperitoneal xylazin 10 mg/kg (Xylazin® 20mg/ml Flakon Kepro) uygulanmıştır. Ratlar dorsal rekümbent pozisyonunda iken insizyon

alanı tıraşlanıp, %10'luk povidon iyot (Batticon® solusyon %10, Adeka) uygulanarak cerrahi işlem yapılmıştır. 2 cm'lik orta hat insizyonla laparotomi yapılmış ve 1.Grup (S) ve 4.Grup (S+5 mg TMZ) hariç diğer gruptaki ratların sağ adneksleri 0,5 cm üzerinden ve 0,5 cm altından 4/0 vikril ile suture edilerek 2 saat süresince iskemiye maruz bırakılmıştır. İskemi/reperfüzyon prosedürü sağ adneksin 0,5 cm üzerinden ve 0,5 cm altından 4/0 vikril ile bağlanarak 2 saat iskemi oluşturulup, iskemi süresi tamamlandıktan sonra sutureler çıkarılarak over dokusu 2 saat boyunca reperfüze edilmiştir. Reperfüzyon süresi tamamlandıktan sonra sağ over çıkarılmıştır. Deneyde kullanılan ilaç Trimetazidin (Vastarel 20 mg tablet- Servier) %0,9 NaCl'de eritilerek homojen hale getirildikten sonra oral olarak yukarıda anlatıldığı gibi uygulanmıştır. Operasyonlar sonrasında çıkarılan over dokusu iki eşit parçaya bölünerek biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler için -80 santigrat derecede ve uygun koşullarda muhafaza edilmiştir. Tüm cerrahi işlemler sonrası ratlar yüksek doz anestezi verilerek feda edilmiştir.



Resim 2: Rat overlerinde iskemi oluşturulması.

3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZ

Doku çalışması, -80⁰ C'deki dokuların oda sıcaklığına getirilmesinin ardından yapıldı. Doku numunesi 0,001 gr hassasiyetindeki terazi ile tartıldı. Numune miktarının 9 katı kadar working solution eklendi. Numuneler mekanik homojenizatör ile homojenize edildi. 3000 rpm. de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınıp Vital Scientific Selectra E (Rel Assay E) otoanalizöründe kalorimetrik olarak aşağıda belirtildiği biçimde çalışıldı. Çalışmalarda "Rel Assay" markalı kitler kullanılmıştır.

3.3.1. MDA Ölçümü

MDA tayini, MDA veya MDA benzeri yapıların tiyobarbitirik asit (TBA) ile 90-100 santigrad derecede reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda ölçülebilen pembe renkli bir bileşik vermesi esasına dayanmaktadır. Reaksiyon 90 derece ısı altında ve pH 2-3 iken 15 dakikada gerçekleştirildi. Örnek, protein presipitasyonu için iki hacimlik soğutulmuş %10 (w/v)'luk trikloroasetik asit ile karıştırıldı. Bu presipitat santrifüj edilerek üst fazdan alınan örnek eşit miktarda %0,67'lik TBA ile kaynayan suyun içinde 10 dakika karıştırıldı. Soğutulduktan sonra 532 nm deki absorbansı ölçüldü. Standart olarak 1.1.3.3- tetrametoksipropan kullanılarak çizilen ölçümleme grafiğinden numunedeki MDA miktarı hesaplandı ve nmol/mg protein olarak ifade edildi.

3.3.2. TAS, TOS ve OSİ Ölçümleri

Total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) Özcan Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntemle ölçülmüştür.

Test yöntemlerinin çalışma prensibi: Dinamik tiyol disülfid dengesi native tiyol, total tiyol ve disülfid düzeyleri ile değerlendirilecek olup Erel&Neselioglu yöntemiyle (217, 218) Ankara Relassay Laboratuvarında Vital Scientific Selectra E seri no: 9-4200 otomatik analizöründe çalışılmıştır.

Total Oksidan Seviye (TOS) /Total Antioksidan Seviye (TAS) bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanmıştır.

Total Oksidan Seviyenin (TOS) Ölçülmesi: TOS Özcan Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemle çalışıldı. Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dionisidin kompleksini ferrik iyonla oksitlemektedirler. Yine ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak reaksiyon hızını yaklaşık 3 katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonları asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Ölçümün sonuçları micromolat hidrojen peroksit eivalan/litre olarak birimlendirilmiştir ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}$) (217).

Total Antioksidan Seviyesinin (TAS) Ölçülmesi: Total antioksidan seviyenin ölçümü Özcan Erel tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır. Bu otomatik metod stabil bir radikal katyon 2,2'-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)'nin antioksidanlarla karakteristik mavi-yeşil renginin beyazlamasına dayanmaktadır. İndirgenmiş ABTS molekülü asidik ortamda H_2O_2 kullanılarak ABTS^{++} 'ya yükseltgenir. ABTS^+ molekülü asetat tamponunda (30 mmol/l, pH 3.6) uzun bir süre stabil kalabilir. ABTS^+ molekülü, pH'ı daha yüksek ve daha konsantre bir asetat tamponuyla seyreltildiğinde (0.4 mol/l, pH 5.8) renk yavaşça kendiliğinden açılır. Numunedeki antioksidanların konsantrasyonlarına bağlı olarak renk açılma hızı artar. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak monitorize edilebilir ve renkteki açılma oranı numunenin total antioksidan kapasitesiyle ters orantılıdır. Bu ölçüm metodunun %3'den daha az bir yanılma payı vardır. Reaksiyon, total antioksidan seviyenin ölçümünde standardı sağlamak için kullanılan Trolox ile kalibre edilmiştir. Ölçümün sonuçları mmol Trolox equivalent/L olarak birimlendirilmiştir (218).

Oksidatif Stres İndeksin (OSİ) Hesaplanması: OSİ değeri Formula yöntemine göre hesaplandı. TAS ve TOS değerlerinin birbirlerine oranının yüzde değeri olarak kabul edildi. Öncelikle TAS değerleri $\mu\text{mol/L}$ 'ye çevrildi.

$$\text{OSİ (Arbitrary Unit)} = \frac{\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv/L})}{\text{TAS } (\mu\text{mol Trolox Equiv/L})} \times 100$$

3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Her bir ratın sağ overinin yarısı ayrı formaldehit içeren kaplara alındı. Dokular %10 tamponlu formalinde tespit edilip, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin ile blokaj yapıldı. Parafinli bloklardan mikrotom ile 4–5µm’ lik kesitler alınıp deparafinize edildi. Hematoksilen-Eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskopu (Olympus DP72,JAPAN) altında ödem, vasküler konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu açısından her bir ölçüt kendi içinde skorlanarak (Grade 0, 1, 2, 3) değerlendirildi.

Grade 0: Normal histolojik bulgular

Grade 1: Patolojik bulgunun over kesitlerindeki toplam sahanın %33’den az olması

Grade 2: Patolojik bulgunun over kesitlerindeki toplam sahanın %33-66 arasında olması

Grade 3: Patolojik bulgunun over kesitlerindeki toplam sahanın %66’sından fazla olması

5 histopatolojik bulgunun her biri 0 ile 3 arasında grade skorlamasına tabi tutuldu. Her bir grade 1 puan olacak şekilde puanlandı. 5 histopatolojik bulgunun puanları toplanarak total histopatolojik grade skorlaması hesaplandı.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın analizleri SPSS 21 (IBM Inc., Armonk, NY, USA) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada sayısal verilerin gösteriminde ortalama ve standart sapma değerleri, kategorik verilerin gösteriminde ise sıklık ve yüzde değerleri kullanılmıştır. İki den fazla bağımsız grup arasında sayısal verilerin karşılaştırılması için Kruskal-Wallis istatistiği kullanılmış, çoklu grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark gösteren parametrelerin post- hoc ikişerli karşılaştırmalar ile değerlendirilmesinde ise Mann-Whitney U istatistiği yapılmıştır. Post-hoc analizlerde Bonferroni düzeltmesi kullanılmıştır. Çalışmada kategorik verilerin bağımsız gruplar arasında karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi uygulanmıştır. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık olarak %5 Tip-I hata sınırı ($p < 0,05$) kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma 35 rat 5 gruba rastgele ve eşit sayıda olacak şekilde (N=7) ayrılarak yürütüldü. Gruplarda oluşan histopatolojik değişiklikler, elde edilen over örneklerinde Hematoksilen& Eozin (H&E) boyaması ile ışık mikroskop altında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen over örneklerinde MDA, TAS, TOS spektrofotometrik yöntemle ölçülerek ve OSİ hesaplanarak incelenmiştir. Sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada değerlendirilen MDA, total oksidan seviye, total antioksidan seviye, ödem, konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu parametrelerinin çalışma gruplarında ölçülen değerleri Tablo 1’de gösterilmiştir. Yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda tüm parametrelerin istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdikleri tespit edilmiştir.

Tablo 1: Grupların tüm parametreler açısından karşılaştırması

	Grup 1*	Grup 2*	Grup 3*	Grup 4*	Grup 5*	P**
MDA	<u>20,52±5,22</u>	37,49±8,24	28,93±6,57	27,14±3,91	28,03±10,37	0,014
TAS	0,59±0,13	0,7±0,28	0,67±0,27	<u>1±0,14</u>	0,56±0,21	0,009
TOS	<u>5,71±1,76</u>	14,54±6,93	14,88±7,92	9,17±2,64	11,24±4,68	0,022
OSİ	<u>1016,89±361,04</u>	1987,36±349,21	2137,14±435,25	<u>915,01±250,89</u>	2001,99±317,13	<0,001
Ödem	<u>0±0</u>	1,14±0,38	1,29±0,76	0,71±0,49	0,86±0,38	0,001
Konjesyon	<u>0,57±0,53</u>	2,57±0,53	2±0,58	1,43±0,53	1,29±0,49	<0,001
Hemoraji	<u>0,14±0,38</u>	2,29±0,95	1,86±0,9	<u>0,29±0,49</u>	0,71±0,76	<0,001
PMNL	0,57±0,79	0,86±0,38	0,86±0,69	0,43±0,53	<u>0±0</u>	0,030
Folikül Dejenerasyonu	<u>0±0</u>	<u>1,86±0,9</u>	1±1	0,29±0,49	0,57±0,53	0,002

*Değerler ortalama ± Standart Sapma olarak belirtilmiştir. **Kruskal –Wallis testi kullanılmıştır.

Grup 1: Sham Grubu; Grup 2: İskemi Grubu; Grup 3: İ/R Grubu; Grup 4: Sham+5 mg/kg oral TMZ Grubu; Grup 5: İ/R + 5 mg/kg oral TZM Grubu. Histopatolojik bulguların şiddeti 0’dan 3’e kadar derecelendirilerek skorlandı. 0, patolojik bulgunun olmadığını temsil etti ve 1, 2, 3 over doku kesitlerinde patolojik bulguların sırasıyla %33’den az, %33-66 arası ve %66’dan fazla olduğunu temsil etti.

Tablo 2: Tüm parametrelerin ikili gruplar halinde P değerleri açısından karşılaştırılması

	p (1-2)*	p (1-3)	p (1-4)	p (1-5)	p (2-3)	p (2-4)	p (2-5)	p (3-4)	p (3-5)	p (4-5)
MDA	0,004	0,025	0,025	0,180	0,064	0,025	0,110	0,749	0,848	0,949
TAS	0,277	0,655	0,002	0,277	0,655	0,025	0,180	0,025	0,277	0,006
TOS	0,035	0,009	0,035	0,018	0,949	0,110	0,406	0,085	0,406	0,482
OSI	0,002	0,006	0,406	0,002	0,277	0,002	0,848	0,003	0,277	0,002
Ödem	<0,001	0,003	0,007	0,002	0,545	0,091	0,173	0,116	0,177	0,530
Konjesyon	0,001	0,002	0,018	0,030	0,081	0,006	0,004	0,081	0,032	0,591
Hemoraji	0,001	0,002	0,530	0,096	0,373	0,003	0,012	0,004	0,031	0,244
PMNL	0,275	0,404	0,827	0,061	0,936	0,107	0,002	0,225	0,008	0,060
Fol.Dej.	0,001	0,024	0,141	0,023	0,143	0,004	0,011	0,153	0,411	0,298

* Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Gruplardan elde edilen over örneklerinde H&E boyaması altında ışık mikroskopisinde ödem, vasküler konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu varlığı araştırılmış ve oluşturulan gradeleme sisteminde skorlanmıştır.

Tablo 3: Histopatolojik bulguların varlığı açısından grupların karşılaştırılması

	Grup 1*	Grup 2*	Grup 3*	Grup 4*	Grup 5*	P**
Ödem	0	7 (100)	6 (85,7)	5 (71,4)	6 (85,7)	<0,001
Konjesyon	4 (57,1)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	0,011
Hemoraji	1 (14,3)	7 (100)	7 (100)	2 (28,6)	4 (57,1)	0,001
PMNL	3 (42,9)	6 (85,7)	5 (71,4)	3 (42,9)	0	0,016
Fol.Dej.	0	7 (100)	4 (57,1)	2 (28,6)	4 (57,1)	0,004

*Değerler n (%) olarak belirtilmiştir. **Ki-kare testi kullanılmıştır.

Ödem, konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu varlığının çalışma gruplarına göre dağılımı Tablo 3'te özetlenmiştir. Buna göre tüm

bu parametrelerin varlığının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark gösterdiği tespit edilmiştir.

4.1.1. Ödem

Çalışma gruplarında ödem varlığı değerlendirildiğinde Sham Grubu'nda (Grup 1) ödem görülmediği, 2 saat İskemi Grubu'nda (Grup 2) 6 ratta (%85,7) Grade 1, 1 ratta Grade 2 (%14,3) ödem olduğu, 2 saat İskemi+ 2 saat Reperfüzyon Grubu'nda (Grup 3) 1 ratta (%14,3) iskemi bulunmadığı, 3'er ratta (%42,9) Grade 1 ve Grade 2 ödem izlendiği, Sham+TMZ Grubu'nda (Grup 4) 2 ratta (%28,6) ödem olmadığı ve 5 ratta (%71,4) Grade 1 ödem olduğu, İ/R+ TMZ Grubu'nda (Grup 5) ise 1 ratta (%14,3) ödem görülmezken 6 ratta (%85,7) Grade 1 ödem bulunduğuna tespit edilmiştir (Tablo 4).

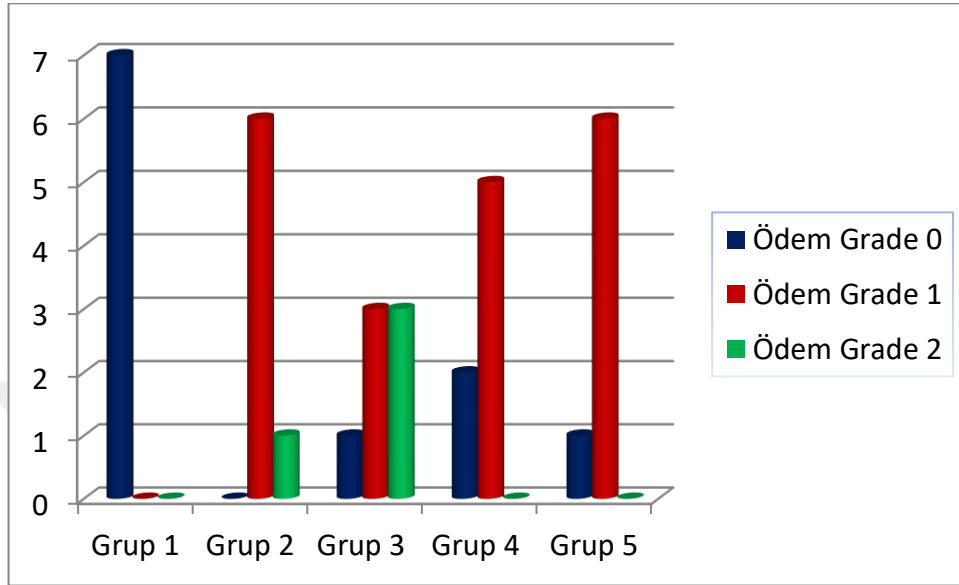
Tablo 4: Gruplar arası ödemin histopatolojik grade dağılımı

Ödem			
	Grade 0	Grade 1	Grade 2
Grup 1*	7 (100)	0	0
Grup 2*	0	6 (85,7)	1 (14,3)
Grup 3*	1 (14,3)	3 (42,9)	3 (42,9)
Grup 4*	2 (28,6)	5 (71,4)	0
Grup 5*	1 (14,3)	6 (85,7)	0

*Değerler n=7 (%) olarak belirtilmiştir. **Ki-kare testi kullanılmıştır.

Ödem grade skorları gruplar arası karşılaştırıldı. Ödemin ortalama grade skoru Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 0 ± 0 , $1,14 \pm 0,38$, $1,29 \pm 0,76$, $0,71 \pm 0,49$ ve $0,86 \pm 0,38$ idi (Tablo 1). Bu değerler için $p < 0,001$ idi ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Beklendiği gibi Grup 2 ve 3, Grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ödem mevcuttu. Bu bulgular deneysel olarak oluşturulan iskemi ve iskemi reperfüzyon modelinin doğruluğunu gösteriyor. TMZ'nin etkisini

değerlendirdiğimizde grup 5'te grup 3'e oranla daha düşük grade skoruna sahip ödem izlenmesine rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Grafik 1: Ödem şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.

4.1.2. Vasküler Konjesyon

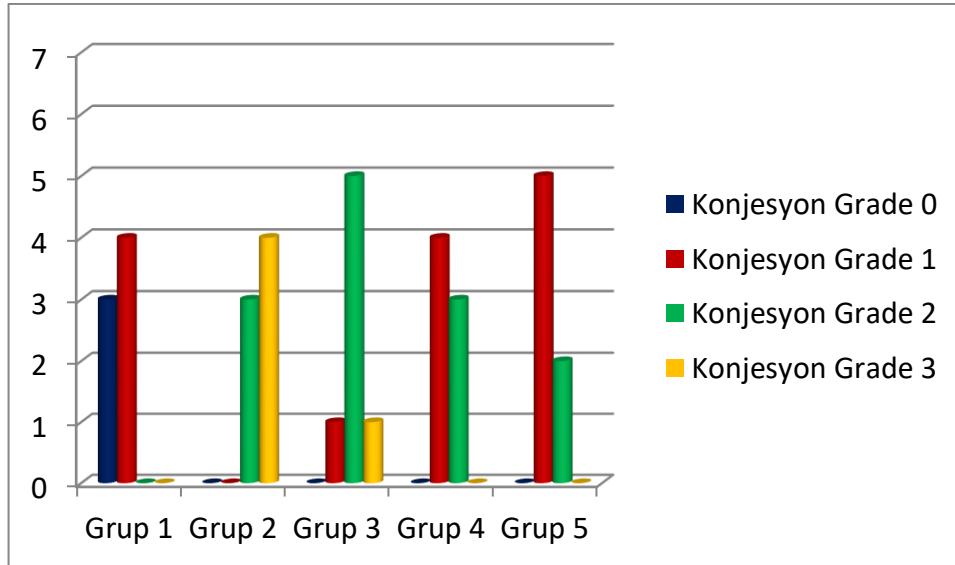
Çalışma gruplarında konjesyon varlığı değerlendirildiğinde Sham Grubu'nda (Grup 1) 3 ratta (%42,9) konjesyon görülmediği ve 4 ratta (%57,1) Grade 1 konjesyon bulunduğu, 2 saat İskemi Grubu'nda (Grup 2) 3 ratta (%42,9) Grade 2, 4 ratta (%57,1) Grade 3 konjesyon olduğu, 2 saat İskemi+2 saat Reperfüzyon Grubu'nda (Grup 3) 1 ratta (%14,3) Grade 1, 5 ratta (%71,4) Grade 2 ve 1 ratta (%14,3) Grade 4 konjesyon izlendiği, Sham+TMZ Grubu'nda (Grup 4) 4 ratta (%57,1) Grade 1 ve 3 ratta (%42,9) Grade 2 konjesyon olduğu, İ/R+TMZ Grubu'nda ise 5 ratta (%71,4) Grade 1 ve 2 ratta (%28,6) Grade 2 konjesyon bulunduğu tespit edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5: Gruplar arası vasküler konjesyonun histopatolojik grade dağılımı

Konjesyon				
	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Grup 1*	3 (42,9)	4 (57,1)	0	0
Grup 2*	0	0	3 (42,9)	4 (57,1)
Grup 3*	0	1 (14,3)	5 (71,4)	1 (14,3)
Grup 4*	0	4 (57,1)	3 (42,9)	0
Grup 5*	0	5 (71,4)	2 (28,6)	0

*Değerler n=7 (%) olarak belirtilmiştir. **Ki-kare testi kullanılmıştır.

Vasküler konjesyonun grade skorları gruplar arası karşılaştırıldı. Vasküler konjesyonun ortalama grade skoru Grup 1, 2, 3, 4 ve 5’de sırasıyla $0,57 \pm 0,53$, $2,57 \pm 0,53$, $2 \pm 0,58$, $1,43 \pm 0,53$ ve $1,29 \pm 0,49$ idi (Tablo 1). Bu değerler için $p < 0,05$ idi ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Grup 2 ve Grup 3, Grup 1 ile karşılaştırıldığında vasküler konjesyon bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Vasküler konjesyon açısından Grup 3 ile 5 karşılaştırıldığında, TMZ’in etkisi istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).



Grafik 2: Konjesyon şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.

4.1.3. Hemoraji

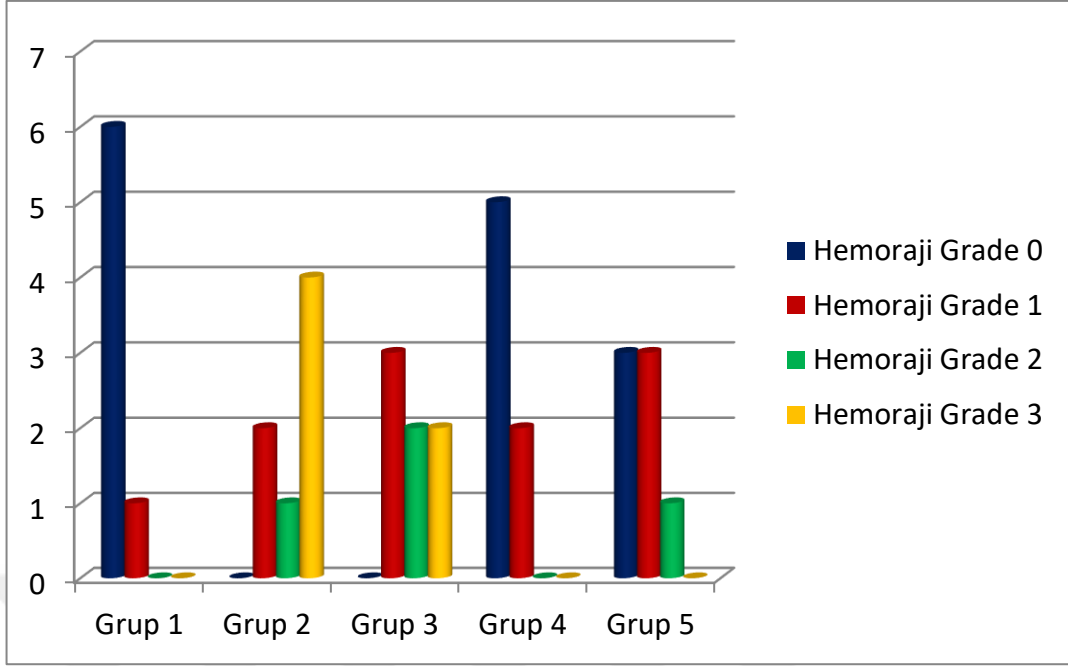
Çalışma gruplarında hemoraji varlığı değerlendirildiğinde Sham Grubu'nda (Grup 1) 6 ratta (%85,7) hemoraji görülmediği ve 1 ratta (%14,3) Grade 1 hemoraji bulunduğu, 2 saat İskemi Grubu'nda (Grup 2) 2 ratta (%28,6) Grade 1, 1 ratta(%14,3) Grade 2 ve 4 ratta (%57,1) Grade 3 hemoraji olduğu, 2 saat İskemi+2 saat Reperfüzyon Grubu'nda (Grup 3) 3 ratta (%42,9) Grade 1, 2 ratta (%28,6) Grade 2 ve 2 ratta (%28,6) Grade 3 hemoraji izlendiği, Sham+TMZ Grubun'da (Grup 4) 5 ratta (%71,4) hemoraji görülmezken 2 ratta (%28,6) Grade 1 hemoraji olduğu, İ/R+TMZ Grubu'nda ise 3 ratta (%42,9) hemoraji görülmezken 3 ratta (%42,9) Grade 1 ve 1 ratta (%14,3) Grade 2 hemoraji bulunduğu tespit edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: Gruplar arası hemorajinin histopatolojik grade dağılımı

Hemoraji				
	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Grup 1*	6 (85,7)	1 (14,3)	0	0
Grup 2*	0	2 (28,6)	1 (14,3)	4 (57,1)
Grup 3*	0	3 (42,9)	2 (28,6)	2 (28,6)
Grup 4*	5 (71,4)	2 (28,6)	0	0
Grup 5*	3 (42,9)	3 (42,9)	1 (14,3)	0

*Değerler n=7 (%) olarak belirtilmiştir. **Ki-kare testi kullanılmıştır.

Hemoraji grade skorları gruplar arası karşılaştırıldı. Hemoraji grade ortalama skorları grup 1, 2, 3, 4 ve 5'de sırasıyla $0,14 \pm 0,38$, $2,29 \pm 0,95$, $1,86 \pm 0,9$, $0,29 \pm 0,49$ ve $0,71 \pm 0,76$ idi (Tablo 1). Bu değerler için $p < 0,05$ idi ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Grup 2 ve Grup 3, Grup 1 ile karşılaştırıldığında hemoraji bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Hemoraji açısından Grup 3 ile 5 karşılaştırıldığında, TMZ'in etkisi istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).



Grafik 3: Hemorajinin şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.

4.1.4. PMNL İnfiltrasyonu

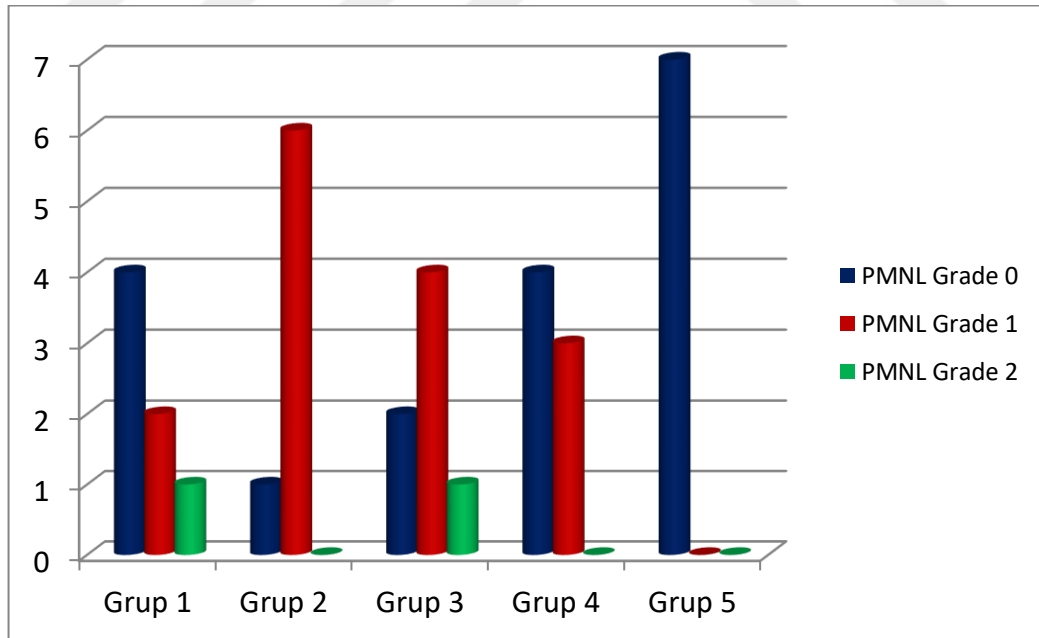
Çalışma gruplarında PMNL infiltrasyonu varlığı değerlendirildiğinde Sham Grubu'nda (Grup 1) 4 ratta (%57,1) PMNL infiltrasyonu görülmediği, 2 ratta (%28,6) Grade 1 ve 1 ratta (%14,3) Grade 2 PMNL infiltrasyonu bulunduğu, 2 saat İskemi Grubu'nda (Grup 2) 1 ratta (%14,3) PMNL infiltrasyonu izlenmezken 6 ratta (%85,7) Grade 1 PMNL infiltrasyonu olduğu, 2 saat İskemi+2 saat Reperfüzyon Grubu'nda (Grup 3) 2 ratta (%28,6) PMNL infiltrasyonu yokken, 4 ratta (%57,1) Grade 1, 1 ratta (%14,3) Grade 2 PMNL infiltrasyonu izlendiği, Sham+TMZ Grubu'nda (Grup 4) 4 ratta (%57,1) PMNL infiltrasyonu görülmezken 3 ratta (%42,9) Grade 1 PMNL infiltrasyonu olduğu, İ/R+TMZ Grubu'nda ise 7 ratta (%100) PMNL infiltrasyonu görülmediği tespit edilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Gruplar arası PMNL infiltrasyonunun histopatolojik grade dağılımı

PMNL			
	Grade 0	Grade 1	Grade 2
Grup 1*	4 (57,1)	2 (28,6)	1 (14,3)
Grup 2*	1 (14,3)	6 (85,7)	0
Grup 3*	2 (28,6)	4 (57,1)	1 (14,3)
Grup 4*	4 (57,1)	3 (42,9)	0
Grup 5*	7 (100)	0	0

*Değerler n=7 (%) olarak belirtilmiştir. **Ki-kare testi kullanılmıştır.

PMNL infiltrasyonu grade skorları gruplar arası karşılaştırıldı. PMNL infiltrasyonu grade ortalama skorları Grup 1, 2, 3, 4 ve 5’de sırasıyla $0,57 \pm 0,79$, $0,86 \pm 0,38$, $0,86 \pm 0,69$, $0,43 \pm 0,53$ ve 0 ± 0 idi (Tablo 1). Bu değerler için $p < 0,05$ idi ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. PMNL infiltrasyonu açısından Grup 3 ile 5 karşılaştırıldığında, TMZ’in etkisi istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).



Grafik 4: PMNL infiltrasyonu şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.

4.1.5. Folikül Dejenerasyonu

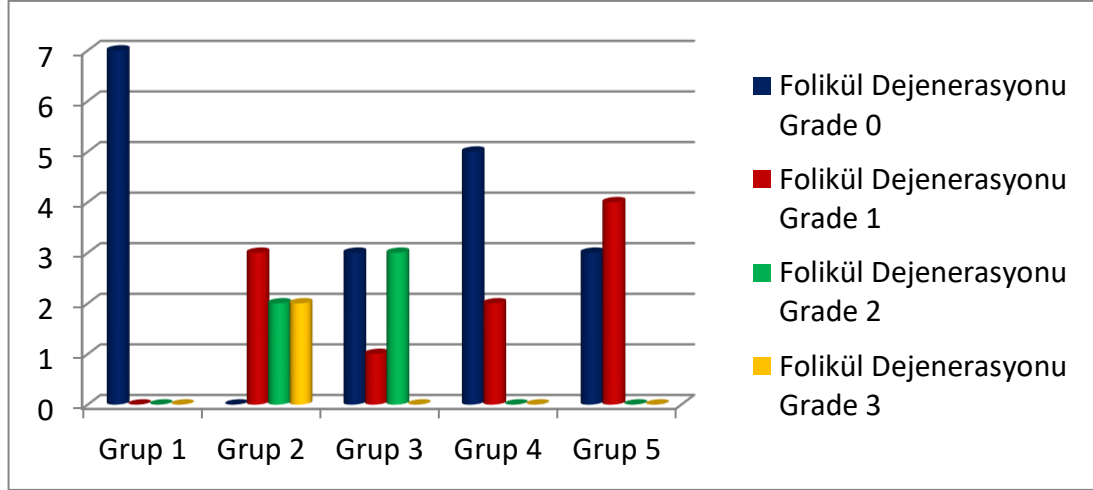
Çalışma gruplarında folikül dejenerasyonu varlığı değerlendirildiğinde Sham Grubu'nda (Grup 1) 7 ratta (%100) folikül dejenerasyonu görülmediği, 2 saat İskemi Grubu'nda (Grup 2) 3 ratta (%42,9) Grade 1, 2'şer ratta (%28,6) Grade 2 ve Grade 3 folikül dejenerasyonu olduğu, 2 saat İskemi+2 saat Reperfüzyon Grubun'da (Grup 3) 3 ratta (%42,9) folikül dejenerasyonu yokken, 1 ratta (%14,3) Grade 1, 3 ratta (%42,9) Grade 2 folikül dejenerasyonu izlendiği, Sham+TMZ Grubun'da (Grup 4) 5 ratta (%71,4) folikül dejenerasyonu görülmezken 2 ratta (%28,6) Grade 1 folikül dejenerasyonu olduğu, İ/R+TMZ Grubu'nda ise 3 ratta (%42,9) folikül dejenerasyonu görülmediği ve 4 ratta (%57,1) Grade 1 folikül dejenerasyonu bulunduğu tespit edilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8: Gruplar arası folikül dejenerasyonunun histopatolojik grade dağılımı

Folikül Dejenerasyonu				
	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Grup 1*	7 (100)	0	0	0
Grup 2*	0	3 (42,9)	2 (28,6)	2 (28,6)
Grup 3*	3 (42,9)	1 (14,3)	3 (42,9)	0
Grup 4*	5 (71,4)	2 (28,6)	0	0
Grup 5*	3 (42,9)	4 (57,1)	0	0

*Değerler n=7 (%) olarak belirtilmiştir. **Ki-kare testi kullanılmıştır.

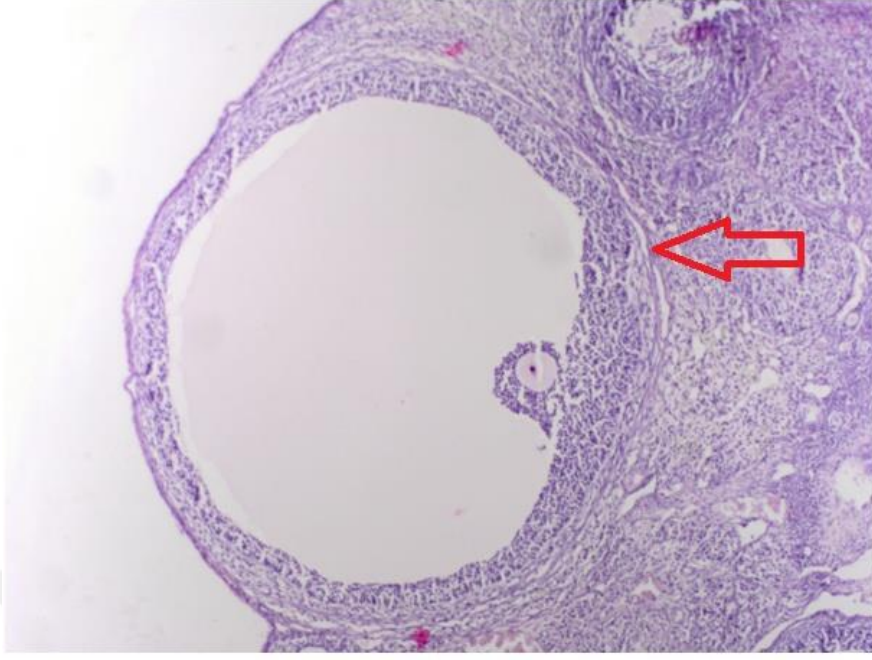
Folikül dejenerasyonu grade skorları gruplar arası karşılaştırıldı. Folikül dejenerasyonu grade ortalama skorları Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'de sırasıyla 0 ± 0 , $1,86\pm0,9$, 1 ± 1 , $0,29\pm0,49$ ve $0,57\pm0,53$ idi (Tablo 1). Bu değerler için $p<0,05$ idi ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Beklendiği gibi Grup 2 ve 3, Grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde Folikül dejenerasyonu mevcuttu. TMZ'nin etkisini değerlendirdiğimizde Grup 5'te Grup 3'e oranla daha düşük grade skoruna sahip Folikül dejenerasyonu izlenmesine rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p >0,05$).



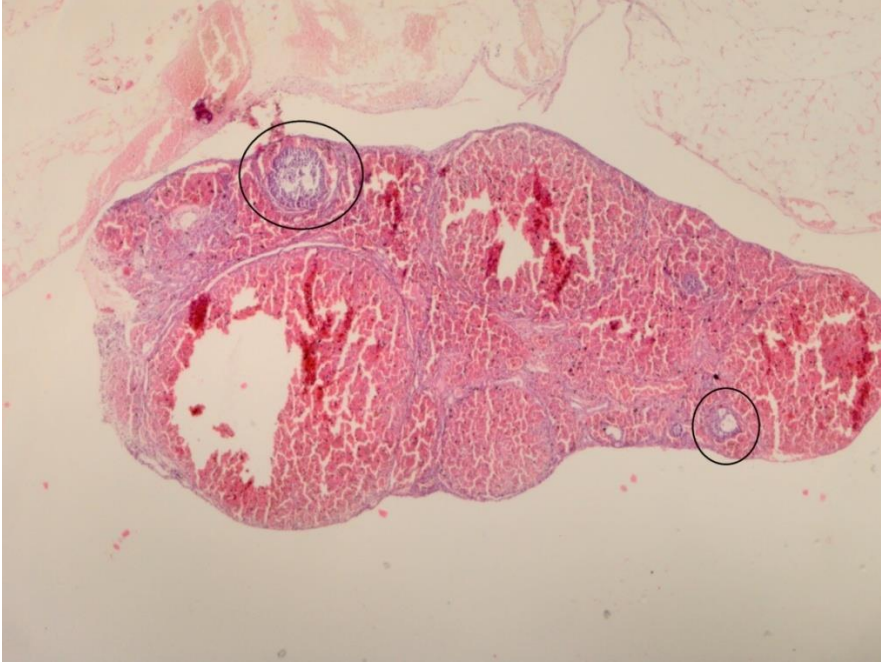
Grafik 5: Folikül dejenerasyonu şiddetine göre olguların gruplar arasında sayısal dağılımı.

Grup 1’de ovaryum örneklerinden alınan kesitlerin, Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskobu altında değerlendirilmesinde en dışta tek katlı yassı veya izoprizmatik epitelyum yapısında germinal epitelyum ve bu epitelin altında stromada ise yoğun bir bağ dokusu tunica albuginea tabakası izlendi. Germinal epitelyum ve tunica albugineanın hemen altında farklı gelişim aşamasında histolojik olarak doğal gelişmekte olan folikülleri içeren korteks ve içte gevşek bir bağ dokusu ve damardan zengin bir yapı gösteren medulla bölgesi izlendi.

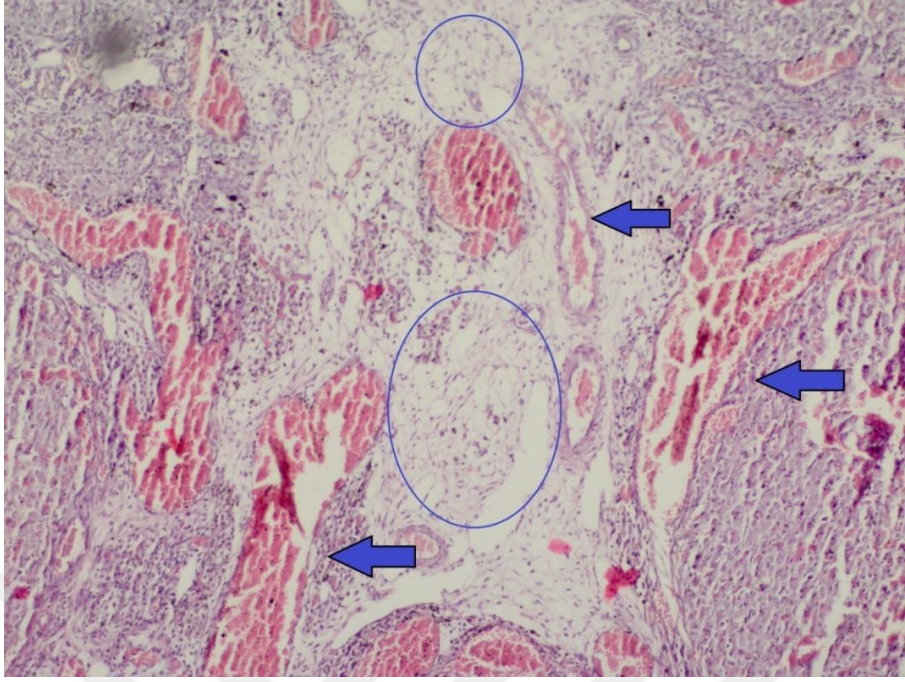
Grup 2 ve 3’den alınan over örneklerinin ışık mikroskobu ile incelenmesinde normal histolojik yapının bozulduğu; değişik derecelerde ödem, vasküler konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu olduğu izlendi. Grup 4 ve 5’den alınan over örneklerinde histolojik yapının grup 2 ve 3’e göre korunduğu; ödem, vasküler konjesyon, hemoraji, folikül dejenerasyonu ve PMNL infiltrasyonunun azaldığı izlendi (Resim 2-10).



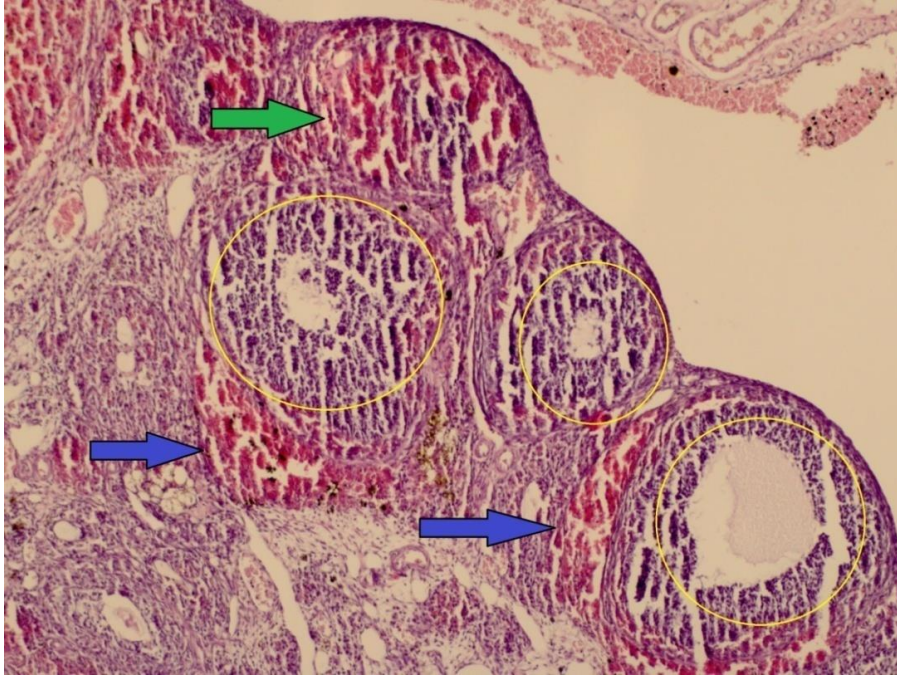
Resim 3: Grup 1(Sham Grubu)'den alınan over örneğinde normal histolojik yapı izlenmekte. Normal bir Graff Folikülü (kırmızı ok). H&E.



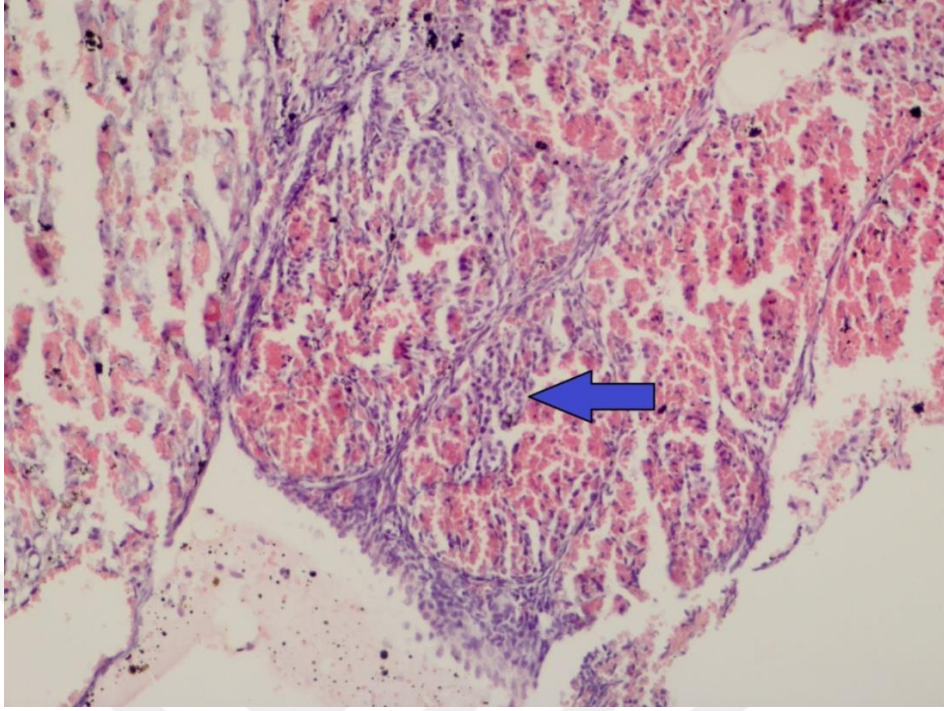
Resim 4: Grup 2 (İskemi Grubu)'den alınan overde ciddi yaygın hemoraji, folikül çevresindeki küboidal hücreler arasında ayrışma ve foliküler kaviteye granüloza hücrelerinin dökülmesini içeren folikül dejenerasyonu (siyah daireler). H&E.



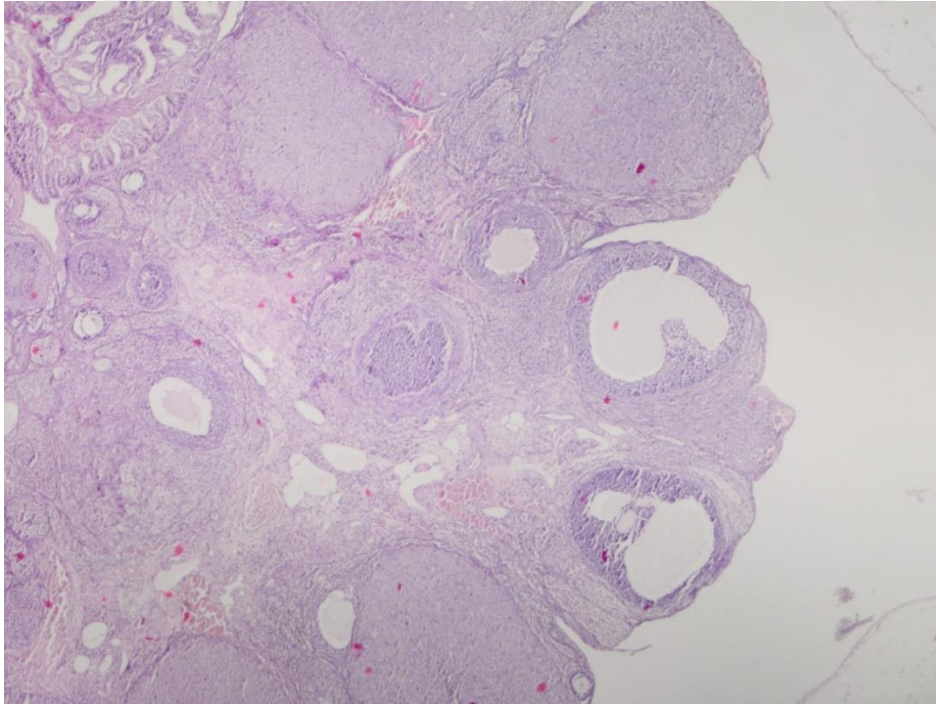
Resim 5: Grup 2 (İskemi Grubu)'den alınan overde ciddi vasküler konjesyon (mavi oklar) ve ciddi ödem (mavi daireler). H&E.



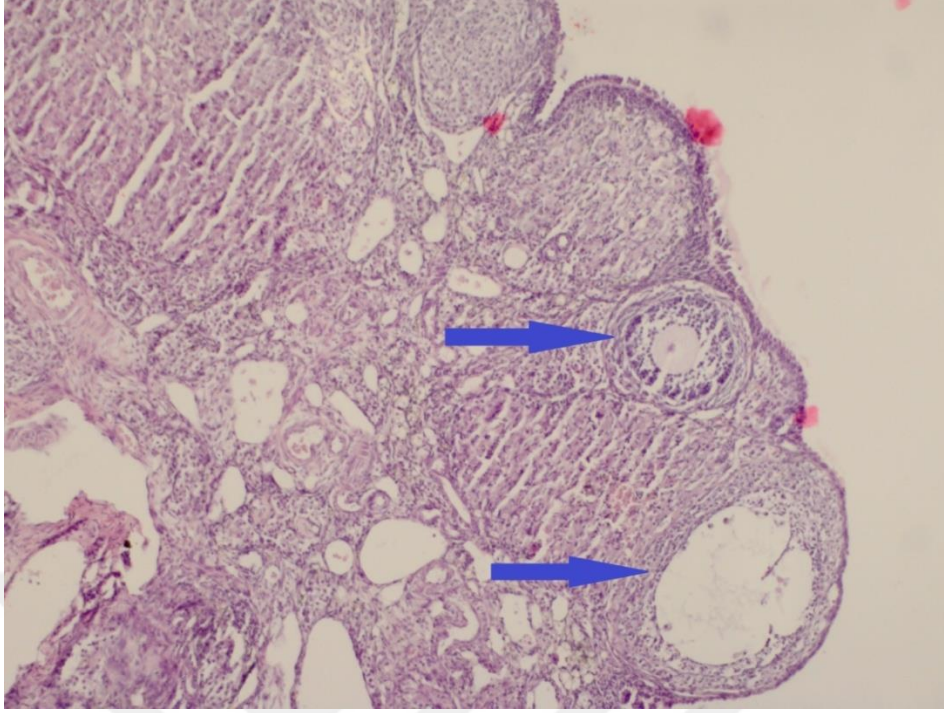
Resim 6: Grup 3 (iskemi/reperfüzyon grubu)'den alınan overde izlenen vasküler konjesyon (mavi oklar), hafif hemoraji (yeşil ok), folikül çevresindeki küboidal hücrelerin ayrışması ve folliküler kaviteye granüloza hücrelerinin dökülmesini içeren hafif folikül dejenerasyonu (sarı daireler). H&E.



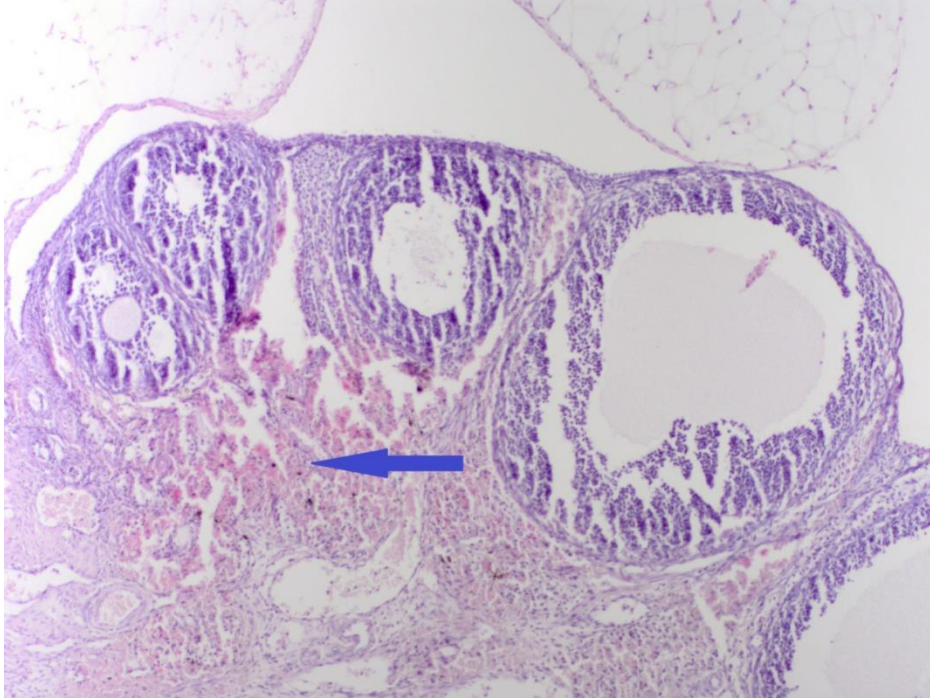
Resim 7: Grup 3 (iskemi/reperfüzyon grubu)'den alınan overde yaygın hemoraji ile beraber hafif derecede PMNL infiltrasyonu (mavi ok). H&E.



Resim 8: Grup 4 (sham + 5 mg/kg oral TMZ verilen grup)'den alınan overde normal over histolojisi (normal foliküller, korpus luteum, korteks, medulla ve hiler yapı). H&E.



Resim 9: Grup 5 (iskemi/reperfüzyon + 5 mg/kg oral TMZ verilen grup)’den alınan overde normal foliküller (mavi oklar) H&E.



Resim 10: Grup 6 (iskemi/reperfüzyon + 5mg/kg oral TMZ verilen grup)’dan alınan overde izlenen hafif hemoraji (mavi ok) ve normal foliküller. H&E.

4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Ratlardan çıkarılan over dokusundan yapılan incelemede total antioksidan seviye, total oksidan seviye ölçüldü ve oksidatif stres indeks hesaplandı.

Tablo 9: Grupların TAS, TOS ve OSİ sonuçlarına göre karşılaştırılması

	Grup 1*	Grup 2*	Grup 3*	Grup 4*	Grup 5*	P**
MDA	20,52±5,22	37,49±8,24	28,93±6,57	27,14±3,91	28,03±10,37	0,014
TAS	0,59±0,13	0,7±0,28	0,67±0,27	1±0,14	0,56±0,21	0,009
TOS	5,71±1,76	14,54±6,93	14,88±7,92	9,17±2,64	11,24±4,68	0,022
OSİ	1016,89±361,04	1987,36±349,21	2137,14±435,25	915,01±250,89	2001,99±317,13	<0,001

*Değerler ortalama ± Standart Sapma olarak belirtilmiştir. **Kruskal –Wallis testi kullanılmıştır.

Grup 1: Sham Grubu; Grup 2: İskemi Grubu; Grup 3: İ/R Grubu; Grup 4: Sham+5 mg/kg oral TMZ Grubu; Grup 5: İ/R + 5 mg/kg oral TZM Grubu.

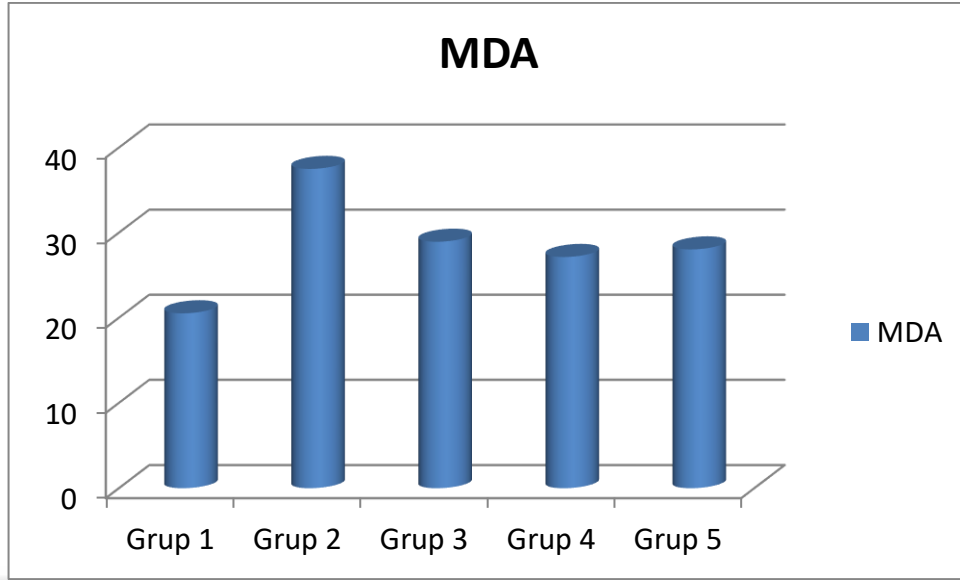
Tablo 10: MDA, TAS, TOS ve OSİ parametrelerinin ikili gruplar halinde P değerleri açısından karşılaştırılması

	p(1-2)*	p(1-3)*	p(1-4)*	p(1-5)*	p(2-3)*	p(2-4)*	p(2-5)*	p(3-4)*	p(3-5)*	p(4-5)*
MDA	0,004	0,025	0,025	0,180	0,064	0,025	0,110	0,749	0,848	0,949
TAS	0,277	0,655	0,002	0,277	0,655	0,025	0,180	0,025	0,277	0,006
TOS	0,035	0,009	0,035	0,018	0,949	0,110	0,406	0,085	0,406	0,482
OSİ	0,002	0,006	0,406	0,002	0,277	0,002	0,848	0,003	0,277	0,002

* Mann- Whitney U testi kullanılmıştır.

4.2.1. MDA

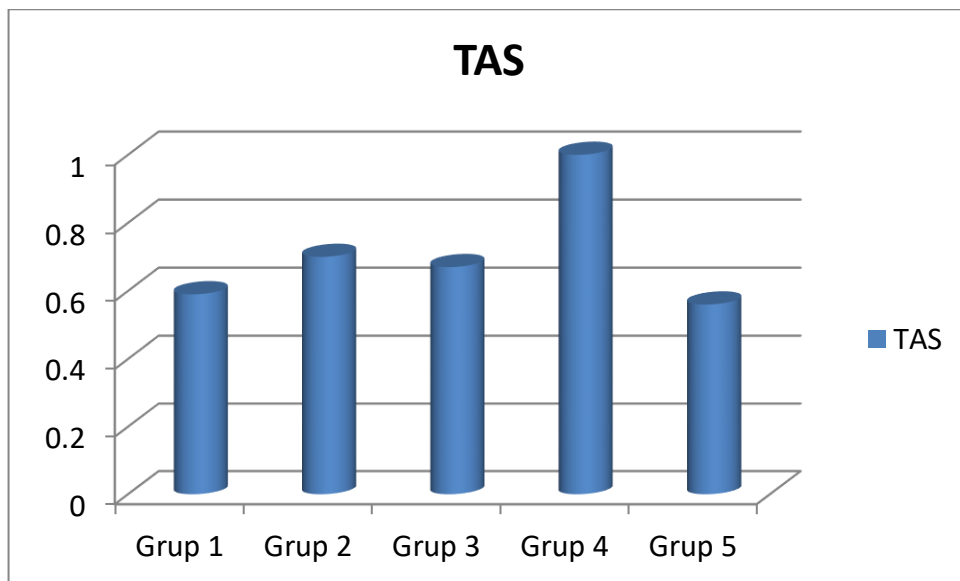
Gruplar arasında MDA değerleri Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 9). MDA değerleri için gruplar ikiyeşerli olarak değerlendirildiğinde ise Grup(1-2), (1-3), (1-4) ve (2-4) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilirken, diğer gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi (Tablo 10) (Grafik 6).



Grafik 6: Gruplar arası ortalama MDA değerleri dağılımı.

4.2.2. Total Antioksidan Seviye (TAS)

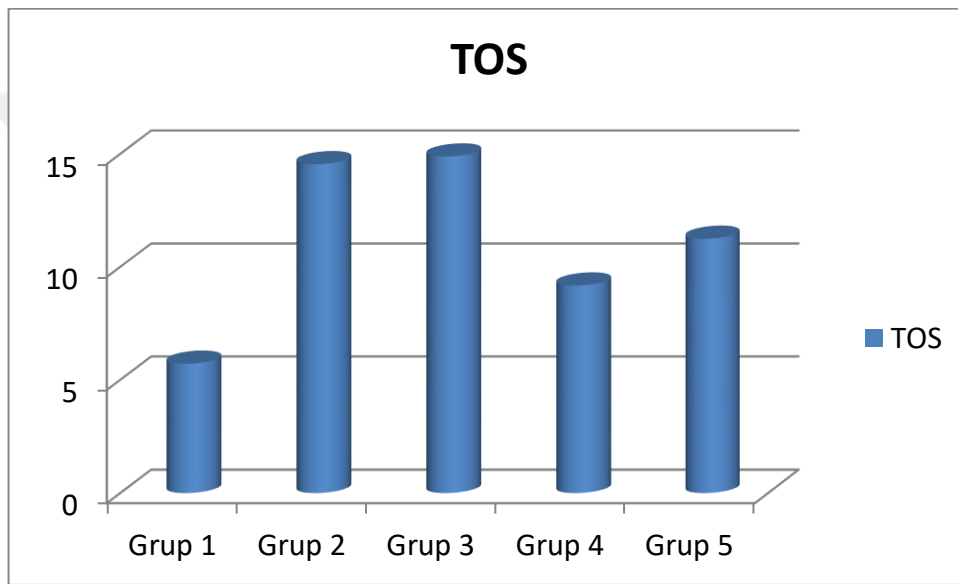
Gruplar arasında TAS değerleri Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı çıkmasına ($p < 0.05$) (Tablo 9) rağmen, grupların ikili olarak karşılaştırıldığı Mann-Whitney U testinde Grup (1-4), (2-4), (3-4) ve (4-5) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Ancak diğer gruplar için ikili karşılaştırmada anlamlı fark tespit edilmemiştir (Tablo 10) (Grafik 7).



Grafik 7: Gruplar arası ortalama TAS değerleri dağılımı.

4.2.3. Total Oksidan Seviye (TOS)

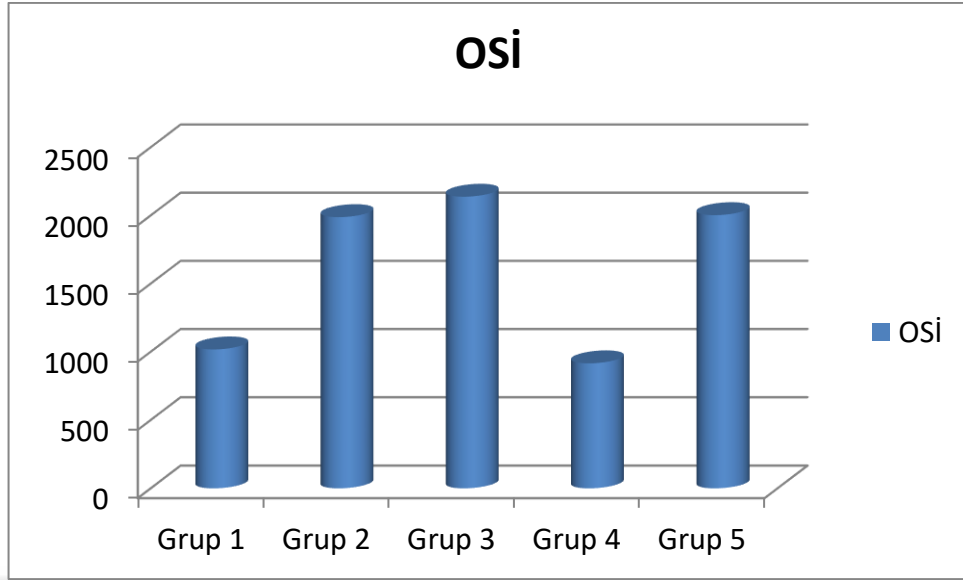
Gruplar arasında TOS değerleri Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı çıkmasına ($p<0.05$) (Tablo 9) rağmen, grupların ikili olarak karşılaştırıldığı Mann-Whitney U testinde Grup (1-2), (1-3), (1-4) ve (1-5) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Ancak diğer gruplar için ikili karşılaştırmada anlamlı fark tespit edilmemiştir (Tablo 10) (Grafik 8). Bu iskemik hasarın oksidan seviyesini artırdığını göstermektedir.



Grafik 8: Gruplar arası ortalama TOS değerleri dağılımı.

4.2.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Gruplar arasında OSİ değerleri Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı çıkmasına ($p<0.05$) (Tablo 9) rağmen, grupların ikili olarak karşılaştırıldığı Mann-Whitney U testinde Grup (1-2), (1-3), (1-5), (2-4), (3-4) ve (4-5) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Ancak diğer gruplar için ikili karşılaştırmada anlamlı fark tespit edilmemiştir (Tablo 10) (Grafik 9).



Grafik 9: Gruplar arası ortalama OSİ değerleri dağılımı.

5. TARTIŞMA

Hücreler fizyolojik koşullarda hemoostazlarını sürdürmek için değişen gereksinimler ve hücre dışı strese uyum sağlayarak sürekli yapı ve fonksiyonlarını ayarlarlar. Eğer hücrenin adaptasyon yeteneği aşılsa hücre zedelenmesi gerçekleşir. Bir yere kadar hücre zedelenmesi geri dönüşlü iken şiddetli ve kalıcı zorlamalar sonucu geri dönüşsüz hücre zedelenmesi olur. Zedeleyici uyarana hücresel cevap zedeleyici tipine, süresine, şiddetine; zedelenen hücrenin tipine, durumuna, uyum yeteneğine ve genetik yapısına bağlıdır (157).

Hücre zedelenmesi birçok mekanizmayla oluşabilmektedir. Bunlar hipoksi, kimyasal etkenler, enfeksiyöz etkenler, immunolojik reaksiyonlar, genetik bozukluklar, beslenme dengesizlikleri, fiziksel etkenler ve yaşlanmadır. İskemi, hipoksinin en sık nedeni olup, arteriyel akımın engellenmesi veya venöz drenajın azalması sonucu dokunun kanlanma kaybıdır (157).

Hücreler geri dönüşlü olarak zedelenirse, kan akımının düzelmesi hücreyi iyileştirebilir. Bununla birlikte bazı durumlarda, iskemik fakat yaşayabilen dokularda kan akımının düzeltilmesi, aksine zedelenmeyi hızlandırarak şiddetlendirir. Sonuç olarak, dokular iskemik olayın sonunda geri dönüşsüz zedelenmiş hücrelere ek olarak hücre kaybını sürdürür. Kan akımının yeniden temini ile etkilenen hücreler henüz kendi iyonik çevrelerini düzeltmemişken yüksek konsantrasyondaki kalsiyumla karşı karşıya kalır; artan hücre içi kalsiyum ATPaz, fosfolipaz, proteaz ve endonükleazları aktive ederek hücre bütünlüğünün kaybına neden olur. Zedelenmiş hücrelerin yeniden kanlanması iltihabi hücrelerin infiltrasyonunu daha da arttırır. Bu hücreler, membran hasarı yanı sıra mitokondrial permeabilite geçişini biraz daha arttıran yüksek seviyelerde oksijen kaynaklı reaktif türevleri serbest bırakır (157).

İskemi/reperfüzyon hasarına birçok dokuya ait patolojilerde rastlanılmaktadır. En sık görüldüğü patolojiler miyokard infarktüsü, serebral vasküler olaylar, testis torsiyonu ve over torsiyonudur. Başarılı cerrahi düzeltmeye rağmen germ hücre apoptozisi reperfüzyona bağlı oksidatif stres sonucu devam etmektedir. Bu iskemi/reperfüzyon hasarından korunmak amacıyla; cerrahi tedaviye yardımcı farmakolojik ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. İskemi/reperfüzyon hasarını

önlemek amaçlı yapılan çalışmalarda birçok anti inflamatuvar ve antioksidan ilaç denenmiş olup bu ilaçların genel özelliği oksidatif stres üzerine etkili olmalarıdır (228-230).

Jinekolojik cerrahi acillerden birisi olan over torsiyonu ile vasküler yapılar okluze olmakta ve overde iskemik hücre zedelenmesi gelişmektedir. Güncel tedavide ve özellikle genç yaş hastalarda fertilitiyi korumak için kullanılan yöntem ise torsiyone olan dokuların detorsiyone edilmesidir. Ancak iskemik doku reperfüze olunca yeni bir süreç başlar. Fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamış, birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücresel ve humoral olaylar dizisi sonucunda nötrofiller reaktif oksijen radikallerini salar ve iskemik hasar İ/R hasarına dönüşür. İ/R hasarı temel olarak serbest radikalleri ve nötrofilleri içerir (228).

Serbest radikaller aracılığı ile gelişen hücre zedelenmesi özellikle 3 mekanizma üzerinden olmaktadır. Bunlar membran lipid peroksidasyonu, DNA parçalanması ve proteinlerin çapraz bağlanmasıdır. Membranda çift bağlı poliansatüre lipidler oksijen türevi serbest radikallerin etkisiyle kolayca zedelenir. Lipit-radikal etkileşimleri değişken olan peroksitleri oluşturarak otokatalitik zincir reaksiyonları meydana gelir. Timinle serbest radikal reaksiyonları nükleer ve mitokondrial DNA'da tek iplik kırılmaları oluşturur. Bu gibi DNA hasarı hem hücre ölümünde hem de hücrelerin malign değişiminde rol alır. Serbest radikaller sülfidril aracılı protein çapraz bağları oluşturarak parçalanmanın artmasına veya enzimatik aktivitenin kaybına neden olur. Serbest radikal reaksiyonları direk olarak polipeptid parçalanmasına da yol açabilir (158).

Overyan torsiyonda İ/R hasarını önlemek için ya da koruyucu olarak Selenyum, C vitamini, erdostein, eritropoetin, vardenafil, curcumin, iloprost, amlodipin, α -lipoik asit, edaravon, montelukast, kafeik asit fenetil ester, atorvastatin gibi moleküller ve hipotermik ortam iskemi öncesinde ve sonrasında kullanılmıştır. Ancak overyan İ/R hasarında standart tedavi için görüş birliği yoktur. Bizim çalışmamızda ratlarda oluşturulan overyan İ/R modelinde anti iskemik, antioksidan, özelliklerinden yararlanmak için literatürde ilk kez olmak üzere TMZ kullanılmıştır.

Overdeki iskemi reperfüzyonun uzun dönem etkilerini araştıran ilk çalışma Taşkın ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Erken tanı ve konservatif tedavinin

adneksiyal torsiyondaki önemini belirtmişlerdir. Ayrıca ‘siyah-nekrotik’ görünümün iskemik dereceyi göstermediğini, venöz staza bağlı ovaryen konjesyonun bu görüntüye neden olduğunu belirtmişlerdir. Çoğu vakada komplet arteriyal obstruksiyonun gelişmediği görülmüştür (9).

Overyan torsiyonda I/R hasarı oluşturmak için yapılan çalışmalarda farklı iskemi-reperfüzyon süreleri ve modelleri uygulanmıştır. İskemi modelleri açısından bakıldığında Türk ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 360-720 derecelik rotasyon ile adneksiyal torsiyon oluşturmuşlarken Abali ve arkadaşları ise adneks vasküler sütün yardımı ile iskemi oluşturmuşlardır (91, 231). Yaptığımız çalışmada ise iskemi modeli olarak vasküler sütünasyon tekniği kullanılmıştır. İskemi süreleri açısından değerlendirildiğinde ratlarda genellikle 2-4 saatlik iskemi oluşturularak sonrasında reperfüzyon gerçekleştirilmiştir. Yurtcu ve arkadaşları 2 saat iskemi süresi uygulamışlardır (232). Ozat M ve arkadaşları rat overlerinde 4 saat iskemi süresi uygulamışlardır (230). Parlakgumus ve arkadaşları da 3 saatlik iskemi oluşturmuşlardır (233). Biz çalışmamızda 2 saatlik iskemi süresi uyguladık. Histopatolojik ve biyokimyasal veriler açısından sham grubu ile iskemi ve iskemi/reperfüzyon grupları arasındaki anlamlı farklılık ($p<0.05$), oluşturduğumuz torsiyon modelinin iskemi açısından yeterli olduğunu göstermiştir.

İ/R hasar mekanizmaları oldukça karmaşık ve tam olarak aydınlatılamamıştır. Hasarın reperfüzyondan tam olarak ne kadar süre sonra başladığı ve ne kadar sürdüğü bilinmemektedir. Bununla birlikte reperfüzyon hasarında asıl doku hasarını oluşturan nedenin SOR’nin dokuda birikmesi olduğunu ve İ/R hasarının dokuya olan etkilerinin reperfüzyondan birkaç saat sonra başladığını gösteren çalışmalar vardır (234). Bu sebeplerden dolayı İ/R hasarı oluşturmak için kullanılan reperfüzyon süreleri farklı çalışmalarda değişkenlik göstermektedir. Haftacı ve arkadaşları rat overlerinde adneksiyal torsiyon modelinde selenyum ve C vitamininin etkilerini değerlendirmek için oluşturdukları İ/R modelinde 4 saat iskemi 1 saat reperfüzyon modelini uygulamışlardır (235). Tunç ve arkadaşlarının rat overlerinde, İ/R hasarında honokiolün koruyucu etkisini araştırdığı çalışmada ise 3 saat reperfüzyon uygulanmıştır (236). Şahin Ersoy ve arkadaşlarının ratlarda over torsiyon modelinde N-asetilsistein’in etkisini konu alan çalışmalarında 24 saatlik reperfüzyon süresi uygulamışlardır (237). Boussaid ve arkadaşlarının rat böbreklerinde oluşturulan İ/R

hasarında TMZ'nin etkilerini araştırdıkları çalışmada reperfüzyon süresi 2 saat olarak belirlenmiştir (238). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda ratlarda ovarian torsiyon modelinde 2 saatlik reperfüzyon süresi uygun bulunmuş ve uygulanmıştır. Bu çalışmada histopatolojik ve biyokimyasal belirteçler açısından sham grubu ile iskemi ve iskemi/reperfüzyon grupları arasında anlamlı fark olması, belirlediğimiz 2 saat reperfüzyon süresinin yeterli olduğunu göstermektedir.

Mitokondride bir tiolaz enzim olan uzun zincir mitokondrial 3-ketoaçıl koenzim inhibisyonu yapan TMZ'in etki mekanizması tam bilinmese de İ/R hasarındaki etkisini hücrel hemoostazı koruyarak sağladığı düşünülmektedir. Birçok çalışmada TMZ'in hücre içi asidozu azalttığı, Na ve Ca seviyelerini düzenlediği, hücre içi ATP seviyelerini koruduğu, membran hasarını azalttığı, mitokondrial fonksiyonları koruduğu ve iskemik alandaki nötrofil infiltrasyonunu sınırladığı gösterilmiştir. Bu yollarla antioksidan kapasite yükselir, oksijen serbest radikallerinin indüklediği toksisiteye karşı korunma artar (239-242).

İskesen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada süperoksitdismütaz ve glutatyonredüktaz (normal aerobik metabolizma sırasında ortaya çıkan oksijen radikalleri akımını sınırlayan en önemli endojen antioksidan enzim sistemi) seviyelerini artırdığı ve malondialdehit (lipit peroksidasyonu son ürünü) seviyelerini düşürdüğünü göstermişlerdir (226).

TMZ anjina pektoris, koryoretinal bozukluklar, vertigo ve sensörinöral iskemide etkinliği gösterilmiş ve aktif kullanılan bir ilaçtır (219-227).

TMZ ratlarda over torsiyon modellerinde daha önce hiç kullanılmadığı için veriliş şekli, dozu ve süresi ratlarda farklı dokularda İ/R hasarını araştıran çalışmalar değerlendirilerek karar verilmiştir. Farklı doku çalışmalarında genellikle oral TMZ kullanımı benimsenmiştir. Bunun yanı sıra Boussaid ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TMZ intraperitoneal olarak kullanılmıştır ve İ/R hasarına karşı etkili olduğu gösterilmiştir (238). TMZ oral biyoyararlanımı yüksek olan ve plazma kararlı duruma 24 saatte ulaşan bir ilaçtır. Bizim çalışmamızda model aldığımız Pekçetin ve arkadaşları ile Ünal ve arkadaşlarının yaptığı testis torsiyon modellerinde olduğu gibi 5mg/kg oral TMZ kullanımı benimsenmiştir (243, 244). Pekçetin ve arkadaşları yaptıkları çalışma için premedikasyon süresini 7 gün olarak belirlemişlerdir. Fakat

TMZ'nin plazma kararlı duruma ulaşma süresinin kısa olması dolayısı ile bu çalışmada premedikasyon süresi 3 gün ile sınırlandırılmıştır.

Deneysel olarak oluşturulan over İ/R modellerinde histopatolojik açıdan çeşitli parametreler morfolojik olarak değerlendirilmiştir.

Sak ve arkadaşları yaptığı over torsiyon deneysel çalışmasında curcuminin etkinliğini incelemişlerdir. Curcumin antiinflamatuvar, antioksidan ve antikarsinojenik etkilerinin olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiş bir moleküldür (245). Sak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada curcumin için gruplar histopatolojik olarak; hemoraji, vasküler konjesyon, hücre dejenerasyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından karşılaştırılmıştır. Curcumin kullanılan grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonu dışındaki diğer parametrelerin anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur. Ancak curcuminin inflamatuvar hücre infiltrasyonuna olan etkisi gösterilememiştir (246).

Akdemir A. ve arkadaşları 2014 yılında, over İ/R hasarında Ursodeoksikolik asitin etkisini inceledikleri çalışmada histopatoloji parametreleri olarak follikül dejenerasyonu, vasküler konjesyon, ödem, hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak Ursodeoksikolik asitin İ/R grubundaki tüm histopatolojik parametreleri istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını göstermişlerdir (247).

İncebiyık A. ve arkadaşlarının sildenafilin rat overlerindeki İ/R hasarına karşı koruyucu etkisini inceledikleri çalışmada; aynı histopatolojik parametreler için sildenafilin PMNL infiltrasyonu ve ödemi anlamlı olarak azalttığını, follikül dejenerasyonuna etkisi olmadığını, vasküler konjesyonu ve hemorajiyi azalttığını ancak istatistiksel olarak fark yaratmadığını tespit etmişlerdir (248).

Haftacı ve arkadaşlarının rat over torsiyon modelinde C vitamini ve selenyumun doku nekrozu üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, histopatolojik parametreler olarak gruplar arasında ödem, kanama, konjesyon ve kohezyon kaybı değerlendirilmiştir. Ödem, kanama ve kohezyon kaybı açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenirken, konjesyon açısından anlamlı fark izlenmemiştir (235).

Çalışmamızda ise literatüre uyumlu şekilde histopatolojik değerlendirme için; vasküler konjesyon, ödem, hemoraji, folliküler hücre hasarı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu parametreleri değerlendirilmiştir. Bu parametreler dokudaki

yaygınlıklarına göre Güven ve arkadaşlarının yaptığı sınıflandırmaya göre kantitatif olarak 0'dan 3'e kadar skorlandırılarak derecelendirilmiştir (249).

Ödem, konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu parametrelerinin varlığının çalışma grupları açısından değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark gösterdiği tespit edilmiştir. TMZ verilen grupta ayrı ayrı tüm histopatolojik parametrelerde düzelme mevcuttu ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı. Genel olarak bakıldığında ödemin Grup 1'de görülmediği, konjesyonun en düşük Grup 1'de olduğu, hemorajinin Grup 1 ve Grup 4'te en düşük seviyelerde izlendiği, PMNL infiltrasyonunun Grup 5'te izlenmediği, folikül dejenerasyonunun ise Grup 1'de görülmezken Grup 2'de en yüksek oranda görüldüğü tespit edilmiştir.

Histopatolojik parametrelerin tamamı için beklendiği gibi iskemi ve iskemi/reperfüzyon grubu ile sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark mevcuttu. Bu bulgular deneysel olarak oluşturulan iskemi ve iskemi reperfüzyon modelinin doğruluğunu gösteriyor. Ancak iskemi ve iskemi/reperfüzyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında hiçbir histopatolojik parametre için istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Hatta iskemi/reperfüzyon grubunda folikül dejenerasyonu ve vasküler konjesyon açısından iskemi grubuna göre daha düşük grade skorları izlendi. Bu sonuç; reperfüzyon hasarının sahip olduğumuz bilgiler ışığında ortaya çıkma süresi ve patofizyolojik mekanizması olarak tam aydınlatılamamış bir kaskad olduğunu ve bahsedilen sürecin netleşmesi için ek birçok çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

Ödem açısından iskemi/reperfüzyon+TMZ grubu ile iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p>0,05$) görülmemesine rağmen TMZ verilen grupta daha düşük grade skoruna sahip ödem izlenmiştir. Vasküler konjesyon açısından iskemi/reperfüzyon ile iskemi/reperfüzyon+TMZ verilen grup karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p<0,05$). TMZ alan grupta daha az vasküler konjesyon izlenmesi vasküler konjesyon üzerine TMZ'nin etkili olduğunu göstermiştir. Bir diğer histopatolojik parametre olan hemoraji açısından İskemi/reperfüzyon grubu ile iskemi/reperfüzyon+TMZ grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$). Bu da TMZ'nin hemoraji üzerine

etkinliğini gösteriyordu. İskemi/reperfüzyon grubu ile iskemi/reperfüzyon+TMZ grubu PMNL infiltrasyonu açısından karşılaştırıldığında ise iki grup arasında anlamlı istatistiksel fark tespit edildi ($p<0,05$). TMZ verilen iskemi/reperfüzyon grubunda hiçbir ratta PMNL infiltrasyonunu izlenmemiştir. Bu da TMZ'nin PMNL infiltrasyonu üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Son parametre olan folikül dejenerasyonu açısından ise ödem ile benzer şekilde iskemi/reperfüzyon+TMZ grubunda, iskemi/reperfüzyon grubuna oranla daha düşük grade skoruna sahip folikül dejenerasyonu izlenmiş ancak istatistiksel anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p >0,05$). Folikül dejenerasyonu açısından en şiddetli hasar iskemi grubunda izlenirken iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon+TMZ grubunda folikül dejenerasyonun klinik olarak hafiflediği izlenmiştir.

Ratlarda oluşturulan overyan iskemi/reperfüzyon modellerinde biyokimyasal olarak çeşitli markerlar oksidan ve antioksidan denge açısından değerlendirilmiştir. MDA, MPO, Katalaz, Protein karbonil, SOD, total glutatyon, Glutatyon peroksidaz, NO, TAS, TOS bu markerlardan bazılarıdır. Literatürde bu parametrelerin değerleriyle çok farklı veriler ve yorumlar mevcuttur. Çeşitli çalışmalardaki farklı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ve anlamsız birçok farklı sonuç elde edilmiştir.

İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının temelinde humoral ve hücrel mekanizmalar sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiği doku hasarı vardır. Serbest radikallerin dokudaki en önemli zarar verici etkisi lipid peroksidasyonudur ve hücre membranındaki yağ asitleri ile fosfolipidler üzerinde oluşmaktadır (213). Bir ara ürün olan malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyonunun göstergesidir (214, 215). Doku lipid peroksid içeriği iskemi ve reperfüzyonun en önemli belirteçidir (216). Doku lipid peroksid içeriği çeşitli yöntemlerle ölçülmektedir. (214-216).

Serebral vasküler iskemide nöroprotektif ajan olarak kullanılan edaravon serbest radikal temizleyicisi olup (250), Kara ve arkadaşları edaravonun rat overindeki iskemi/reperfüzyon hasarına olan etkinliğini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda edaravon uygulanan grupta MDA seviyelerinin düşük, superoksit dismutaz aktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (251).

Aslan ve arkadaşları sham ve torsiyon gruplarında MDA düzeylerinde fark bulmazken, ozon verilen grubun MDA düzeylerinin torsiyon ve sham grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (252).

Bozkurt ve arkadaşlarının rat over İ/R modelinde selenyumun koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada over dokusunda MDA ve NO seviyeleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri değerlendirilmiştir. Selenyum verilen İ/R grubundaki MDA ve NO seviyeleri daha düşük; CAT ve GPx aktiviteleri daha yüksek bulunmuştur (253).

Bizim çalışmamızda reperfüzyon hasarını lipid peroksidasyon ürünleri ile değerlendirmek amacıyla etkinliği birçok yayında ortaya konmuş önemli bir belirteç olan MDA düzeyleri araştırıldı. Gruplar arasında MDA düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0.05$). MDA seviyesi iskemi ve iskemi/reperfüzyon yapılan gruplarda en yüksek seviyede izlenmiştir. MDA değerleri için gruplar ikiye ayrılarak değerlendirildiğinde ise sham ve iskemi, sham ve iskemi/ reperfüzyon grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi. TMZ'nin etkisini değerlendirdiğimiz iskemi/ reperfüzyon ve iskemi/ reperfüzyon+TMZ grupları arasında ise TMZ alan grubun MDA değerleri daha düşük izlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı izlenmemiştir. Ünal ve arkadaşlarının rat testislerinde 2 saat iskemiye takiben 3 günlük reperfüzyon süresi boyunca oral TMZ kullanımı ile yaptıkları İ/R modelinde TMZ alan grupta MDA seviyelerini anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Bu çalışma ile bizim çalışmamız arasında oluşan bu farklılık bu çalışmadaki TMZ tedavisinin reperfüzyon boyunca uygulanmasına ve reperfüzyon süresinin uzunluğuna bağlı olabilir.

Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarı engellemeye çalışan antioksidanların bir kısmı enzim, bir kısmı ise enzim olmayan moleküllerden oluşmuştur. Vücudun antioksidan/oksidan durumu antioksidan enzimlerin aktivitesi ve antioksidan/oksidan moleküllerin konsantrasyonu ayrı ayrı ölçülerek değerlendirilebilmekle beraber, genel antioksidan/oksidan durumu total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) ölçümü ile daha kolay değerlendirilebilmektedir. TAS ve TOS değerleri Özcan Erel tarafından geliştirilen yöntem ile ölçülebilmektedir (217, 218).

Yuluğ ve arkadaşlarının rat testiküler iskemi/reperfüzyon hasarında resveratrolün kısa dönem etkilerini araştırdıkları çalışmada serum TOS ve OSİ değerleri resveratrol alan grupta anlamlı derecede daha düşük tespit edilmiştir. TAS seviyeleri ise resveratrol alan grupta iskemi/reperfüzyon grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (254).

Dokoyucu ve arkadaşlarının erdostein ve lipoik asidin ratlarda over I/R hasarı üzerindeki antioksidan etkilerinin değerlendirildiği çalışmada TAS, TOS ve OSİ seviyeleri incelenmiştir. TOS ve OSİ değerleri erdostein ve lipoik asit verilen grupta en düşük seviyede izlenirken TAS seviyesi en yüksek izlenmiştir. Ayrıca erdostein verilen grupta lipoik asit verilen gruba göre daha düşük TOS ve OSİ seviyeleri izlenirken TAS seviyeleri ise daha yüksek izlenmiştir (255).

Sancak ve arkadaşlarının rat renal iskemi/reperfüzyon hasarında syringic asitin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, syringic asit alan grup iskemi/reperfüzyon grubuna göre anlamlı derecede daha düşük MDA, TOS ve OSİ değerlerine sahipti. Belirtilen iki grup arasında TAS değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu (256).

Aksoy ve arkadaşları ratlarda amikasin ile indüklenmiş ototoksositeye trimetazidinin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 14 gün 10 mg/kg oral trimetazidine+amikasin verilen grupta, 14 gün sadece amikasin verilen gruba göre TOS ve OSİ değerleri anlamlı derecede düşük izlenirken TAS seviyeleri anlamlı derecede yüksek izlenmiştir (257).

Çalışmamızda Oksidatif stresi ölçmek için overyan dokuda TAS ve TOS değerleri ölçülerek oksidatif stres indeksi hesaplanmıştır. Gruplar arasında TAS, TOS ve OSİ değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark izlenmiştir ($p<0.05$). TAS değerleri için gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında, sham grubu ile sham+trimetazidin grubu arasında anlamlı fark izlenmiştir. Bu anlamlı fark trimetazidinin antioksidan etkinliğini göstermektedir. Ancak iskemi/reperfüzyon ile iskemi/reperfüzyon+trimetazidin grupları arasında TAS değerleri açısından anlamlı fark izlenmemiştir. TOS değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında sham grubunda en düşük değerler izlenirken iskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında en yüksek değerler izlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Bu iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarının beklendiği gibi oksidan seviyeyi artırdığını

göstermektedir. İskemi/reperfüzyon ile iskemi/reperfüzyon+trimetazidin grupları karşılaştırıldığında trimetazidin verilen grupta TOS seviyesi düşmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. OSİ değerleri açısından iskemi/reperfüzyon ile iskemi/reperfüzyon+trimetazidin grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmese de trimetazidin alan grubun OSİ değerlerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.



6. SONUÇ

Deneysel olarak ratlarda oluşturulan over torsiyon/detorsiyon modelinde trimetazidinin iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine etkileri biyokimyasal ve histopatolojik parametreler eşliğinde incelendi.

Ödem, konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu parametrelerinin varlığının çalışma grupları açısından değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark gösterdiği tespit edildi. Trimetazidin verilen grupta ayrı ayrı tüm histopatolojik parametrelerde düzelme mevcuttu ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı.

İskemi/reperfüzyon grubu ile trimetazidin verilen iskemi/reperfüzyon grubu arasında folikül dejenerasyonu ve ödem dışındaki tüm histopatolojik parametreler istatistiksel olarak anlamlı idi. Trimetazidin verilen grupta folikül dejenerasyonu ve ödem istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha düşük grade skorlarına sahip olduğu tespit edildi.

Histokimyasal olarak overyan dokuda MDA, TAS ve TOS değerleri ölçüldü ve oksidatif stres indeksi hesaplandı. İskemi/reperfüzyon ile iskemi/reperfüzyon+trimetazidin grupları karşılaştırıldığında trimetazidinin MDA, TOS ve OSİ değerlerini düşürmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Trimetazidinin beklenenin aksine TAS değerlerini bir miktar azalttığı görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı olmayan bu düşüş nedeni ile trimetazidinin TAS değerleri üzerine etkisi net olarak değerlendirilemedi.

Reperfüzyon hasarının sahip olduğumuz bilgiler ışığında ortaya çıkma süresi ve patofizyolojik mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olduğundan bahsedilen sürecin netleşmesi için iyi tasarlanmış araştırmalar gerekmektedir.

Birçok çalışmada antioksidan etkinliği kanıtlanmış olan trimetazidinin, over iskemi/reperfüzyon hasarında histopatolojik parametreler açısından over hasarını önlemede etkin olduğu gösterilmiştir. Trimetazidinin over torsiyonu tedavisinde kullanılabilmesi için farklı iskemi/reperfüzyon modellerinin uygulandığı, trimetazidin verilmiş şekli, süresi ve dozu farklı olan, daha geniş vaka sayıları içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı; ratlarda oluşturulan over iskemi/reperfüzyon modelinde Trimetazidin'in over hasarını azaltmadaki etkinliğini histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen 35 adet Wistar Albino cinsi, genç erişkin, ağırlığı 200-250 gr arasında değişen dişi rat dahil edildi. Çalışma grupları; Grup 1 (Sham), Grup 2 (2 saat iskemi), Grup 3 (2 saat İskemi/ 2 saat Reperfüzyon), Grup 4 (Sham+ 10 mg/kg oral Trimetazidin), Grup 5 (2 saat İskemi/ 2 saat Reperfüzyon+10 mg/kg oral trimetazidin) olmak üzere 5 gruptan ve her grup 7 rattan oluşmaktadır. İskemi/reperfüzyon, laparotomi yapılarak sağ overin 0,5 cm üzerinden ve 0,5 cm altından overi besleyen vasküler yapılar 4/0 vikril ile bağlanarak 2 saat boyunca iskemi yapıldıktan sonra, sütürler çıkartılarak 2 saat boyunca over reperfüze edilerek oluşturuldu. Reperfüzyon süresi tamamlandıktan sonra sağ overler çıkarıldı. Grup 4 ve 5'e laparotomiden 3 gün önce trimetazidin 5 mg/kg oral günde iki doz olarak verildi. Sağ overler histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için çıkarıldı. Overler iskemi/reperfüzyon hasarı açısından, histopatolojik olarak ışık mikroskobu altında; ödem, vasküler konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve follikül dejenerasyonu için incelenerek grade skorları (grade 0, 1, 2, 3) verilerek ve biyokimyasal parametrelerden; MDA, TAS, TOS ve OSİ ölçülerek değerlendirildi.

Bulgular: Elde ettiğimiz bulgularda Grup 3 ve Grup 5'i karşılaştırdığımızda trimetazidin uygulanmasının ödem ve folikül dejenerasyonu dışında tüm histopatolojik parametreleri anlamlı derecede düşürdüğünü gördük ($p<0.05$). Ödem ve folikül dejenerasyonu değerlerindeki düşüş ise istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$). Biyokimyasal açıdan ise trimetazidin MDA, TAS, TOS ve OSİ değerlerinde düşmeye neden olduğunu gördük. Ancak MDA, TAS, TOS ve OSİ değerlerindeki bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Sonuç: Antioksidan bir ajan olan Trimetazidin rat overlerinde iskemi/reperfüzyon hasarını önlemede etkin olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Trimetazidin, iskemi/reperfüzyon, TAS, TOS, MDA

ABSTRACT

Objective: It was aimed to study the effect of Trimetazidine on reducing the ovarian damage in rats those undergo ovarian ischemia/ reperfusion.

Material and Methods: 35 adult Wistar Albino species rats with weights between 200-250 gr obtained from Republic of Turkey Ministry of Health Ankara Education and Research Hospital were included in this study. Study groups were composed of 5 groups and each group was created by 7 rats: Group 1 (Sham), Group 2 (2 hours of ischemia), Group 3 (2 hours of ischemia/2 hours of reperfusion), Group 4 (Sham + 10 mg/kg Trimetazidine peroral), Group 5 (2 hours of ischemia/2 hours of reperfusion + 10 mg/kg Trimetazidine peroral). Ischemia/reperfusion model was created by performing laparotomy and ligating the arteries 0,5 cm below and 0,5 cm above the right ovary with 4/0 vicryl for 2 hours for ischemia and removing the sutures and allowing ovary to reperfuse for 2 hours. Right ovaries were excised following reperfusion. 5 mg/kg of Trimetazidine twice daily was given orally three days before laparotomy in Group 4 and 5. Right ovaries were excised for histopathological and biochemical examination. Ovaries were examined histopathologically under light microscope for ischemia/ reperfusion damage; edema, vascular congestion, hemorrhage, PMNL infiltration and follicular degeneration were evaluated and graded (grade 0, 1, 2, 3) and levels of malondialdehyde (MDA), total antioxidant (TAS), total oxidant (TOS) and oxidative stres index (OSİ) were measured as biochemical parameters.

Findings: When Group 5 was compared with Group 3, it was showed that the initiation of trimetazidine causes a significant decrease in all histopathological parameters except edema and follicular degeneration ($p<0.05$). Decrease in grades of edema and follicular degeneration was not found to be significant ($p>0.05$). Biochemically, it was showed that trimetazidine causes a decrease in levels of MDA, TAS, TOS and OSİ. Decreases in levels of MDA, TAS, TOS and OSİ were not found to be significant ($p>0.05$).

Result: Trimetazidine as an antioxidant agent was found to be effective on preventing the damage of ischemia/reperfusion on ovaries of the rats.

Keywords: Trimetazidine, ischemia/reperfusion, TAS, TOS, MDA

KAYNAKLAR

1. Rock, JA, Thomson JD. Surgery for benign disease of the ovary: Operative Gynecology, Lippincott Raven, 9th Editio, Philadelphia, 2003: 648-649.
2. Hibbard LT. Adnexal torsion. Am J Obstet Gynecol 1985; 152(4): 456-461.
3. Lee RA, Welch JS: Torsion of the uterine adnexa. Am J Obstet Gynecol 1967; 97: 974.
4. Warner MA, Fleischer AC, Edell SL, Thieme GA, Bundy AL, Kurtz AB, James AE Jr. Uterine adnexal torsion: Sonographic findings. Radiology 1985; 154(3): 773-775.
5. Hoffman BL. Pelvik Kitle. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Ceylan Y, Yıldırım G (ed). Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2010: 216-217.
6. Celik A, Ergün O, Aldemir H, Ozcan C, Ozok G, Erdener A, Balýk E. Long-term results of conservative management of adnexal torsion in children. J Pediatr Surg 2005; 40(4): 704-708.
7. Kazez A, Ozel SK, Akpolat N, Goksu M. The efficacy of conservative treatment for late term ovarian torsion. Eur J Pediatr Surg 2007; 17(2): 110-114.
8. Houry D, Abbott JT. Ovarian torsion: a fifteen-year review. Ann Emerg Med 2001; 38(2): 156-159.
9. Taskin O, Birincioglu M, Aydin A, Buhur A, Burak F, Yilmaz I, Wheeler JM. The effects of twisted ischaemic adnexa managed by detorsion on ovarian viability and histology: an ischaemia-reperfusion rodent model. Hum Reprod 1998; 13(10): 2823-2827.
10. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. Annu Rev Med 1991; 42: 225-246.

11. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74(4): 1156-1164.
12. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994; 42: 632-639.
13. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim* 2009; 22 (3): 5-13.
14. Anders J, Powell E. Urgency of evaluation and outcome of acute ovarian torsion in pediatric patients. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005; 159: 532–535.
15. Skandalakis JE, Dişi Genital Organları, Cerrahi Anatomi, 2.Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2008: 1475-1538.
16. Bourne T, Campbell S, Steer C, Whitehead MI, Collins WP. Transvaginal colour flow imaging: a possible new screening technique for ovarian cancer. *British Medical Journal* 1989; 299: 1367-1370.
17. Varras M, Tsikini A, Polyzos D, Samara Ch, Akrivis Ch. Uterine adnexal torsion: pathologic and gray-scale ultrasonographic findings. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2004; 31: 34-38.
18. Moore K. The developing human. Clinically oriented embryology, 3 rd edition, WB Saunders Company, Philadelphia, 1982: 2-13.
19. Clement PB. Anatomy and Histology of the Ovary. In Kurman R (ed): *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*, 5th edition, Springer-Verlag, New York, 2002:649-650.
20. Reeves G: Specific stroma in the cortex and medulla of the ovary. Cell types and vascular supply in relation to follicular apparatus and ovulation. *Obstet Gynecol* 1971; 37: 832-844.
21. Karabulut AK. Kadın Genital Sistemi Anotomisi. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. Güneş kitabevi, Ankara, 2006: 27-28.

22. Clement PB. Histology of the Ovary. In Sternberg SS (ed): Histology for pathologists, Lippincott-Raven, 2 nd edition, New York, 1997: 929-959.
23. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th edition, Edinburgh, London, New York, Oxford: Mosby, 2004: 649-1709.
24. Crum CP. The Female Genital Tract. Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th edition. W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1999: 1036-1037.
25. Zheng W, Magid MS, Kramer EE, Chen YT: Follicle-stimulating hormone receptor is expressed in human ovarian surface epithelium and fallopian tube. Am J Pathol 1996; 148: 47-53.
26. Clement PB. Ovary. In Sternberg SS (ed): Histology for pathologists, 1st edition, Lippincott-Raven, New York, 1992: 765-792.
27. Blaustein A, Lee H. Surface cells of the ovary and pelvic peritoneum: a histochemical and ultrastructural comparison. Gynecol Oncol 1979; 8: 34-43.
28. Mckay DG, Pinkerton JHM, Hertig AT, Danziger Z. The adult human ovary: a histochemical study. Obstet Gynecol 1961; 18: 13-39.
29. Scully RE. Tumors of the ovary and maldeveloped gonads. Atlas of tumor pathology, 2 nd series, fasc 16. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1979.
30. Scully RE. The pathology of incipient neoplasia. Saunders, Philadelphia, 1986: 279-293.
31. Czernobilsky B, Shezen E, Lifschitz-Mercer B, Fogel M, Luzon A, Jacob N, Skalli O, Gabbiani G. Alpha smooth muscle actin in normal human ovaries, in ovarian stromal hyperplasia and in ovarian neoplasms. Virchows Arch 1989; 57: 55-61.

32. Lastarria D, Sachdev RK, Babury RA, Yu HM, Nuovo GJ. Immunohistochemical analysis for desmin in normal and neoplastic ovarian stromal tissue. Arch Pathol Lab Med 1990; 114: 502-505.
33. Sternberg WH. The morphology, androgenic function, hyperplasia and tumors of the human ovarian hilus cells. Am J Pathol 1949; 25: 493-521.
34. Merrill JA. Ovarian hilus cells. Am J Obstet Gynecol 1959; 78: 1258-1271.
35. Halvorson LM. Üreme Endokrinolojisi. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JJ, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Yıldırım G (ed). Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2015: 424.
36. Halvorson LM. Üreme Endokrinolojisi. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JJ, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Ceylan Y, Yıldırım G (ed). Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2010: 348-350.
37. Mazaud S, Guigon C.J, Lozach A, Coudouel N, Forest M.G, Coffigny H, Magre S. Establishment of the reproductive function and transient fertility of female rats lacking primordial follicle stock after fetal gamma-irradiation. Endocrinology 2002; 143(12): 4775-4787.
38. Başaklar AC. Over Tümör ve Kistleri: Başaklar AC, Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları, Palme yayıncılık, Ankara, 2006: 991–1013.
39. Moore KL, Persaud TVN. The urogenital system. In: The Developing Human. Clinically oriented embryology. 7th edition, Saunders, Philadelphia, 2003: 287-328.
40. Sadler TW. Langman's Medical Embriyoloji, Ürogenital Sistem, Editör: Başaklar AC, 9.baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2005: 313-354.
41. Halvorson LM. Üreme Endokrinolojisi. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JJ, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Yıldırım G (ed). Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2015: 429.

42. Albertini DF, Anderson E: The appearance and structure of intercellular connections during the ontogeny of the rabbit ovarian follicle with particular reference to gap junctions. *J Cell Biol* 1974; 63: 234.
43. Fletcher WH, Greenan JR. Receptor mediated action without receptor occupancy. *Endocrinology* 1985; 116:1660-1662.
44. Nixon B, Aitken RJ, McLaughlin EA. New insights into the molecular mechanisms of sperm-egg interaction. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 1805-1823.
45. Silva PD, Gentzschein EE, Lobo RA. Androstenedione may be a more important precursor of tissue dihydrotestosterone than testosterone in women. *Fertil Steril* 2009; 48: 419-422.
46. Sanchez F, Smitz J. Molecular control of oogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822(12): 1896-1912.
47. Hillier SG. Current concepts of the roles follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Human Reprod* 1994; 9: 188-191.
48. Hodgen GD: The dominant ovarian follicle. *Fertil Steril* 1982; 38: 281-300.
49. Chaffkin LM, Luciano AA, Peluso JJ. Progesterone as an autocrine/paracrine regulator of human granulosa cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1404-1408.
50. Young JR, Jaffe RB. Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. 2. Effects of varying concentrations of estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42: 432-442.
51. Hoff JD, Quigley ME, Yen SS. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 792-796.
52. Li W, Yuen BH, Leung PC. Inhibition of progestin accumulation by activin-A in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 285-289.

53. Yen SSC, Jaffe RB. Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management. Philadelphia, Saunders, 1986.
54. Winter JS, Hughes IA, Reyes FI, Faiman C. Pituitary-Gonadal relations in infancy: 2. Patterns of serum gonadal steroid concentrations in man from birth to two years of age. J Clin Endocrinol Metab 1976; 42: 679-689.
55. Bayraktaroğlu AG. Deneklerin histolojik özellikleri ve deneysel çalışmalardaki sınırlayıcı yönleri. Journal of Clinical and Analytical Medicine 2010; 1-6.
56. Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. Ratlarda üreme. Journal of clinical and Analytical Medicine, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji ABD, Ankara, Türkiye, 2011.
57. Boubekri A, Gernigon-Spychalowicz T, Khammar F, Exbrayat J-M. Histological and immunohistological aspects of the ovarian cycle of the algerian wild sand rat, Psammomys obesus Cretzschmar, 1828. Folia Histochemica Et Cytobiologica 2007; 45: 41-49.
58. Aytekin Y, Solakoğlu S. Dişi Üreme Sistemi. Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. 1. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2005: 431-448.
59. Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö, Özgür H. Özel Histoloji Ders Notları. Adana, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları 2006; 156-161.
60. McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. Endocr Rev 2000; 21(2): 200-214
61. Gaytan F, Morales C, Bellido C, Aguilar E, Sanchez-Criado J.E. Ovarian Follicle Macrophages: Is Follicular Atresia in the Immature Rat a Macrophage-Mediated. Event Biol Reprod 1998; 58: 52-59.
62. Maeda KI, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of reproduction. In: Krinke GJ, editor. The Laboratory Rat, Academic Press, New York, 2000: 145-176.

63. Ojeda SR, Urbanski HF, Ahmed CE. The onset of female puberty: studies in the rat. *Recent Prog Horm Res* 1986; 42: 385-444.
64. Advis JP, Ojeda SR. Acute and delayed effects of anterior pituitary transplants in inducing precocious puberty in female rat. *Biol Reprod* 1979; 20: 879-887.
65. Safranski TJ, Lamberson WR, Keisler DH. Correlations among three measures of puberty in mice and relationships with estradiol concentration and ovulation. *Biol Reprod* 1993; 48: 669-673.
66. Snell GD. Reproduction. In: Snell GD(Ed). *Biology of Mouse*. Second edition. Dover Publications, USA, 1956: 55-89.
67. Petroianu A, Vasconcellos LS, Alberti L.R, Nunes M.B. The influence of venous drainage on autologous ovarian transplantation. *J Surg Res* 2005; 124: 175-179.
68. Champlin AK, Dorr DL. Determining the stage of the estrous cycle in the Mouse by the appearance of the vagina. *Biol Reprod* 1973; 8: 491-504.
69. Rao RP, Kaliwal BB. Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. *Ind Health* 2002; 40: 237-244.
70. Gallo RV. Pulsatile LH release during the ovulatory LH surge on proestrus in the rat. *Biol. Reprod* 1981; 24: 100-104.
71. Dluzen DE, Ramirez VD. Transient changes in the in vitro activity of the luteinizing hormone-releasing hormone pulse generator after ovariectomy in rats. *Endocrinology* 1986; 118: 1110-1113.
72. Levine JE, Duffy MT. Simultaneous measurement of luteinizing hormone (LH)-releasing hormone, LH, and folliclestimulating hormone release in intact and short-term castrate rats. *Endocrin* 1988; 122: 2211-2221.
73. Levine JE, Powell KD. Microdialysis for measurement of neuroendocrine peptides. *Methods Enzymol* 1989; 168: 166-181.

74. Levine JE, Bauer-Dantoin AC, Besecke LM, Congahan L A, Legan SJ, Meredith JM, Strobl FJ, Urban JH, Vogelsong KM, Wolfe AM. Neuroendocrine regulation of the luteinizing hormone-releasing hormone pulse generator in the rat. *Recent Prog Horm Res* 1991; 47: 97-153.
75. Peluso JJ. Morphologic and physiologic features of the ovary. In: Mohr U, Dung-worth DL, Capen CC, editors. *Pathobiology in the Aging Rat*, Volume 1, Washington D.C. ILSI Press, 1992: 337-349.
76. Fortune JE. Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals. *Biology of Reproduction* 1994; 50: 225-232.
77. Ackland JF, D'Agostino J, Ringstrom SJ, Hostetler JP, Mann BG, Schwartz NB. Circulating radioimmunoassayable inhibin during periods of transient follicle-stimulating hormone rise: secondary surge and unilateral ovariectomy. *Biol Reprod* 1990; 43: 347-352.
78. Haisenleder DJ, Ortolano GA, Jolly D, Dalkin AC, Landefeld TD, Vale WW, Mars-hall JC. Inhibin secretion during the rat estrous cycle: Relationships to FSH secretion and FSH beta subunit mRNA concentrations. *Life Sci* 1990; 47: 1769-1773.
79. Richards JS, Jahnsen T, Hedin L, Lifka J, Ratoosh S, Durica JM, Goldring NB. Ovarian follicular development: from physiology to molecular biology. *Recent Prog Horm Res* 1987; 43: 231-276.
80. Findlay JK. An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod* 1993; 48: 15-23.
81. Freeman ME. The ovarian cycle in the rat. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*, Raven Press, New York, 1988: 1983.
82. Campbell CS, Ryan KD, Schwartz NB. Estrous cycles in the Mouse: relative influence of continuous light and the presence of male. *Biol Reprod* 1976; 14: 292-309.

83. Baker DEJ. Reproduction and breeding. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH editors. The Laboratory Rat, Volume 1, Academic Press New York, 1979: 153-168.
84. Sharp PE, LaRegina MC. The Laboratory Rat, CRC Press, New York, 1998: 15-19.
85. Oba G, Aslan S, Kaymaz M. Gebelik ve siklus dönemlerinin belirlenmesi amacıyla ratlarda vajinal sitolojinin kullanılması. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2001; 48:51-57.
86. Kazez A, Özokutan H, Küçükaydın M, Okur H, Turan C, Köse Ö. Çocuklarda over torsiyonları. Ped Cer Derg 1996; 10: 95-97.
87. Weir CD, Brown S. Torsion of the normal fallopian tube in a premenarchal girl: A case report. J Pediatr Surg 1990; 25: 685-686.
88. Nichols DH, Julian PJ. Torsion of the adnexa. Clin Obstet Gynecol 1985; 28(2): 375-380.
89. Huchon C, Fauconnier A. Adnexal torsion: a literature review. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2010; 150(1): 8-12.
90. Bayer AI, Wiskind AK. Adnexal Torsion: can the adnexa be saved. Am J Obstet Gynecol 1994; 171(6): 1506-1510.
91. Türk E, Karaca İ, Ozcinar E, Celebiler A, Aybek H, Ortac R, Güven A. The effect of hypothermia on adnexal torsion/detorsion injury in a rat ovary model. J Pediatr Surg. 2015; 28. pii: S0022-3468(15)00054-8.
92. Cass DL. Ovarian torsion. Semin Pediatr Surg 2005; 14(2): 86-92.
93. George Whitfield Holcomb III, J. Patrick Murphy. Ashcraft's pediatric surgery; 5th edition, 2010: 1022-1027.

94. Hoffman BL. Pelvik Kitle. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JJ, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Yıldırım G (ed). Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2015: 270.
95. Beaunoyer M, Chapdelaine J, Bouchard S, Ouimet A. Asynchronous bilateral ovarian torsion. J Pediatr Surg 2004; 39: 746-749.
96. Coran AG, Adzick NS, Krummel TM, Laberge JM, Shamberger RC, Caldamone AA. Pediatric Surgery. 7(Ed), Elsevier Saunders, Amsterdam, 2012: 529-548.
97. Rody A, Jackisch C, Klockenbusch W, Heinig J, Coenen-Worch V, Schneider HP. The conservative management of adnexal torsion--a case-report and review of the literature. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002; 10; 101(1): 83-86.
98. Argenta PA, Yeagley TJ, Ott G, Sondheimer SJ. Torsion of the uterine adnexa. Pathologic correlations and current management trends. J Reprod Med 2000; 45: 831-836.
99. Bider D, Mashiach S, Dulitzky M, Kokia E, Lipitz S, Ben Rafael Z. Clinical, surgical and pathologic findings of adnexal torsion in pregnant and nonpregnant women. Surg Gynecol Obstet 1991; 173: 363-366.
100. Sommerville M, Grimes DA, Koonings PP, Campbell K. Ovarian neoplasms and the risk of adnexal torsion. Am J Obstet Gynecol 1991; 164:577-578.
101. Bernardus RE, Van der Slikke JW, Roex AJ, Dijkhuizen GH, Stolk JG. Torsion of the fallopian tube: some considerations on its etiology. Obstet Gynecol 1984; 64(5): 675-678.
102. James DF, Barber HRK, Graber EA. Torsion of normal uterine adnexa in children. Obstet Gynecol 1970; 35: 226-230.
103. Evans JP. Torsion of the normal uterine adnexa in premenarchal girls. J Pediatr Surg 1978; 13(2): 195-196.

104. Mc Crea RS. Uterine adnexal torsion with subsequent contralateral recurrence. *J Reprod Med* 1980; 25: 123-124.
105. Germain M, Rarick T, Robins E. Management of intermittent ovarian torsion by laparoscopic oophoropexy. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 715-717.
106. Dietrich JE, Heard MJ, Edwards C. Uteroovarian ligament torsion of the due to a paratubal cyst. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2005; 18(2): 125-127.
107. Harmon JC, Binkovitz LA, Binkovitz LE. Isolated fallopian tube torsion: sonographic and CT features. *Pediatr Radiol* 2008; 38(2): 175-179.
108. Antoniou N, Varras M, Akrivis C, Kitsiou E, Stefanaki S, Salamalekis E. Isolated torsion of the fallopian tube: a case report and review of the literature. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2004; 31(3): 235-238.
109. Ding DC, Hsu S, Kao SP. Isolated torsion of the hydrosalpinx in a postmenopausal woman. *JSLs* 2007; 11(2): 252-254.
110. Krissi H, Shalev J, Bar-Hava I, Langer R, Herman A, Kaplan B. Fallopian tube torsion: laparoscopic evaluation and treatment of a rare gynecological entity. *J Am Board Fam Pract* 2001; 14(4): 274-277.
111. Avni EF, Godart S, Israel C, Schmitz C. Ovarian torsion cyst presenting as wandering tumor in a newborn: antenatal diagnosis and postnatal assessment. *Pediatric Radiology* 1983; 13: 169-171.
112. Curranio G, Rutledge JC. Ovarian torsion and amputation resulting in partially calcified, pedunculated cystic mass. *Pediatric Radiology* 1989; 19: 395-399.
113. Atasü T, Sahmay S. Adneksiyel kitlenin değerlendirilmesi. *Jinekoloji*. 3.baskı, Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, 2001: 334.
114. Fitzhugh VA, Shaikh JR, Heller DS. Adnexal torsion leading to death of an infant. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2008; 21: 295-297.

115. Oelsner G, Bider D, Goldenberg M, Admon D, Mashiach S. Long-term follow-up of the twisted ischemic adnexa managed by detorsion. *Fertil Steril* 1993; 60: 976–979.
116. Breech LL, Hillard PJ. Adnexal torsion in pediatric and adolescent girls. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005; 17(5): 483-489.
117. Mazouni C, Bretelle F, Menard JP, Ménard JP, Blanc B, Gamberre M. Diagnosis of adnexal torsion and predictive factors of adnexal necrosis. *Gynecol Obstet Fertil* 2005; 33: 102–106.
118. Abbott J. Pelvic pain: lesson from anatomy and physiology. *J Emerg Med* 1990; 8: 441–447.
119. Lomano JM, Trelford JD, Ullery JC. Torsion of the uterine adnexa causing an acute abdomen. *Obstet Gynecol* 1970; 35: 221-225.
120. Pena JE, Ufberg D, Cooney N, Denis AL. Usefulness of Doppler sonography in the diagnosis of ovarian torsion. *Fertil Steril* 2000; 73(5): 1047-1050.
121. Sasaki KJ, Miller CE. Adnexal torsion: review of the literature. *J Minim Invasive Gynecol* 2014; 21(2): 196-202.
122. Pansky M, Smorgick N, Herman A, Schneider D, Halperin R. Torsion of normal adnexa in postmenarchal women and risk of recurrence. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 355-359.
123. Shadinger L, Andreotti R, Kurian R. Preoperative sonographic and clinical characteristics as predictors of ovarian torsion. *J Ultrasound Med* 2008; 27: 7-13.
124. McWilliams GD, Hill MJ, Dietrich 3rd CS. Gynecologic emergencies. *Surg Clin North Am* 2008; 88: 265-283.

125. Chiou SY, Lev-Toaff AS, Masuda E, Feld RI, Bergin D. Adnexal torsion: new clinical and imaging observations by sonography, computed tomography, and magnetic resonance imaging. *J Ultrasound Med* 2007; 26: 1289-1301.
126. Merriman TE, Auldist AW. Ovarian torsion in inguinal hernias. *Pediatr Surg Int* 2000; 16: 383-385.
127. Boley SJ, Cahn D, Lauer T, Weinberg G, Kleinhaus S. The irreducible ovary: a true emergency. *J Pediatr Surg* 1991; 26: 1035-1038.
128. Descargues G, Tinlot-Mauger F, Gravier A, Lemoine JP, Marpeau L. Adnexal torsion: a report on forty-five cases. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 98(1): 91-96.
129. Huang FJ, Chang SY, Lu YJ. Laparoscopic treatment of isolated tubal torsion in a premenarchal girl. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1999; 6: 209-211.
130. Kruger E, Heller DS. Adnexal torsion: a clinicopathologic review of 31 cases. *J Reprod Med* 1999; 44: 71-75.
131. Oelsner G, Shashar D. Adnexal torsion. *Clin Obstet Gynecol* 2006; 49(3):459-463.
132. Kirsten J. Sasaki, MD, and Charles E. Miller, MD Adnexal Torsion: Review of the Literature *Journal of Minimally Invasive Gynecology*, Volume 21, Issue 2, 2014; 196-202.
133. Hiller N, Appelbaum L, Simanovsky N, Lev-Sagi A, Aharoni D, Sella T. CT features of adnexal torsion. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: 124-129.
134. Hoffman BL. Pelvik Kitle. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Yıldırım G (ed). *Williams Jinekoloji*. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2015: 270-272.
135. Moravec WD, Angerman NS, Reale FR, Hajj SN. Torsion of the uterine adnexa: a clinicopathologic correlation. *Int J Gynaecol Obstet* 1980; 18(1): 7-14

136. Lee EJ, Kwon HC, Joo HJ, Suh JH, Fleischer AC. Diagnosis of ovarian torsion with color Doppler sonography: depiction of twisted vascular pedicle. *J Ultrasound Med* 1998; 17(2): 83-89.
137. Hasson J, Tsafrir Z, Azem F, Bar-On S, Almog B, Mashiach R, Seidman D, Lessing JB, Grisaru D. Comparison of adnexal torsion between pregnant and nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202(6): 536.e1-6.
138. Rosado W, Trambert M, Gosink B. Adnexal torsion: diagnosis by using doppler sonography. *American Journal of Radiology* 1993; 59: 1251-1253.
139. Duigenan S, Oliva E, Lee SI. Ovarian torsion: diagnostic features on CT and MRI with pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 198: 122-131.
140. Ghossain MA, Buy JN, Bazot M, Haddad S, Guinet C, Malbec L, Hugol D, Truc JB, Poitout P, Vadrot D. CT in adnexal torsion with emphasis on tubal findings: correlation with US. *J Comput Assist Tomogr* 1994; 18(4): 619-625.
141. Graif M, Shalev J, Strauss S, Engelberg S, Mashiach S, Itzhak Y. Torsion of the ovary: sonographic features. *AJR* 1984; 143:1331-1334.
142. Mage G, Canis M, Mahnes H, Pouly JL, Bruhat MA. Laparoscopic management of adnexal torsion. A review of 35 cases. *J Reprod Med* 1989; 34: 520-524.
143. Porpora MG, Gomel V. The role of laparoscopy in the management of pelvic pain in women of reproductive age. *Fertil Steril* 1997; 68: 765-779.
144. Eckler K, Laufer MR, Perlman SE. Conservative management of bilateral asynchronous adnexal torsion with necrosis in a prepubescent girl. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 1248-1251.
145. Chapron C, Capella-Allouc S, Dubuisson B. Treatment of adnexal torsion using operative laparoscopy. *Hum Reprod* 1996; 11: 998-1003.
146. Quillin SP, Siegel ML. Transabdominal color doppler ultrasonography of the painful adolescent ovary. *J Ultrasound Med* 1994; 13: 549-555.

147. Ben Rafael Z, Bider D, Mashiach S. Laparoscopic unwinding of twisted ischemic hemodutgic adnexum after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990; 53: 569-571.
148. Fuchs N, Smorgick N, Tovbin Y, Ben Ami I, Maymon R, Halperin R, Pansky M. Oophoropexy to Prevent Adnexal Torsion: How, When, and for Whom? *J Minim Invasive Gynecol* 2010; 17: 205-208.
149. Djavadian D, Braendle W, Jaenicke F. Laparoscopic oophoropexy for the treatment of recurrent torsion of the adnexa inpregnancy: case report and review. *Fertil Steril* 2004; 82: 933-936.
150. Crouch NS, Gyampoh B, Cutner AS, Creighton SM. Ovarian torsion: to pex or not to pex? Case report and review of the literature. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2003; 16: 381-384.
151. Abes M, Sarihan H. Oophoropexy in children with ovarian torsion. *Eur J Pediatr Surg* 2004; 14: 168-171.
152. Douzinas EE, Livaditi O, Tasoulis MK, Prigouris P, Bakos D, Goutas N, Viachodimitropoulos D, Andrianakis I, Tsoukalas GD. Nitrosative and oxidative stresses contribute to post-ischemic liver injury following severe hemorrhagic shock: the role of hypoxemic resuscitation. *PLoS ONE* 2012; 7 (3): e32968.
153. Arkadopoulos N, Defterevos G, Nastos C, Papalois A, Kalimeris K, Papoutsidakis N, Kampouroglou G, Kypriotis D, Pafiti A, Kostopanagiotou G, Smyrniotis V. Development of a porcine model of post-hepatectomy liver failure. *J Surg Res* 2011; 170: 233-242.
154. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepaticischemia reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: 15-26.
155. Homer-Vanniasinkam S, Crinnionand JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14: 195-203.

156. Sahin FK, Cosar E, Koken G, Toy H, Basarali K, Buyukbas S. Protective effect of aprotinin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *J Obstet Gynaecol Res* 2008; 34(5): 794-800.
157. Pignataro G, Scorziello A, Di Renzo G, Annunziato L. Post-ischemic brain damage: effects of ischemic preconditioning and postconditioning and identification of potential candidates for stroke therapy. Review. *FEBS J* 2009; 276(1): 46-57.
158. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Basic Pathology*. 7th edition, 2003: 6-11, 531-533.
159. Mc Michael M, Moore MRM. Ischemia-reperfusion injury pathophysiology, part I. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 231-241.
160. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* 1988; 254(5 Pt 1): G768-774.
161. Grum CM. Cellular energetics. In: Zelenock GB. *Clinical ischemic syndromes: mechanism and consequence of tissue injury*. St. Louis: The C. V. Mosby Company, 1990: 47-62.
162. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386.
163. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
164. García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol* 2008; 48: 109-114.
165. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.

166. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 2007; 68: 1363-1370.
167. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007; 97: 738-747.
168. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
169. Akkoç H. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Dicle Tıp Dergisi* 2008; 3: 211-215.
170. Özgür O, Kubilay I, Fazıl TA, Dilara Z, Sevdâ FM. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte. *Acta Histochem* 2009; 10: 10-16.
171. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 612-628.
172. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
173. Akçetin Z, Busch A, Kessler G, Heynemann H, Holtz J, Brömme HJ. Evidence for only a moderate lipid peroxidation during ischemia-reperfusion of rat kidney due to its high antioxidative capacity. *Urol Res* 1999; 27: 280-284.
174. Sorensen V, Nilsson U, Pettersson S, Schersten T, Sjöquist PO, Svensson L, Jonsson O. Effects of pretreatment with an indole-indole compound on lipid peroxidation in the cortex and medulla of rabbit kidneys after ischemia-reperfusion. *Acta Physiol Scand* 1997; 161: 403-409.
175. Greene EL, Paller MS. Oxygen Free Radicals in Acute Renal Failure. *Miner Electrolyte Metab* 1991; 17: 124-132.

176. Grace PA. Ischemia–reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81: 637-647.
177. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Role of superoxide radicals in intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981; 81: 22-29.
178. Baines CP. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol* 2009; 104: 181-188.
179. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol* 2011; 301: 1723-1741.
180. De Martino GN. Calcium-dependent proteolytic activity in rat liver: identification of two proteases with different calcium requirements. *Arch Biochem Biophys* 1981; 211: 253-257.
181. Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 1482-1495.
182. Solaini G, Harris DA. Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia and reperfusion. *Biochem J* 2005; 390: 377-394.
183. Di Lisa F, Kaludercic N, Carpi A, Menabó R, Giorgio M. Mitochondrial pathways for ROS formation and myocardial injury: the relevance of p66 (Shc) and monoamine oxidase. *Basic Res Cardiol* 2009; 104: 131-139.
184. Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 556-592.
185. Rodriguez SF, Granger DN. Role of blood cells in ischemia-reperfusion-induced endothelial barrier failure. *Cardiovasc Res* 2010; 87: 291-299.
186. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001; 181: 160–166.

187. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012; 298: 229-317.
188. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009; 22: 46-55.
189. Hein TW, Zhang C, Wang W, Chang CI, Thengchaisri N, Kuo L. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase. *FASEB J* 2003; 17: 2328-2330.
190. Vaghasiya JD, Sheth NR, Bhalodia YS, Jivani NP. Exaggerated liver injury produced by renal ischemia reperfusion in diabetes: effect of exenatide. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16: 174–180.
191. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3: 30-39.
192. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine* 2001; 31(11): 1287-1312.
193. Akkuş I, Kalak S, Vural H. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1996; 244: 221-227.
194. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J SurgRes* 1996; 61: 469-472.
195. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 2004; 70: 71-86.
196. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *ArteriosclerThromb Vasc Biol* 2007; 27: 2514-2523.

197. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 481-497.
198. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.
199. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol* 1993; 16: 19-26.
200. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 1991; 42: 125-138.
201. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999; 101:148-160.
202. Kuroda S, Siesjö BK. Reperfusion damage following focal ischemia: pathophysiology and therapeutic windows. *Clin Neurosci* 1997; 4 (4):199-212.
203. Chayen J, Bitensky L, Mehdizadeh S. Histo- and Cytochemistry of guanylate Cyclase and Nitric Oxide Synthase: A Critical Appraisal. *Cell Biochemistry and Function* 1994; 12: 179-183.
204. Hu J, El-Fakahany EE. Role of Intercellular and Intracellular Communication by Nitric Oxide in Coupling Muscarinic Receptors to Activation of Guanylate Cyclase in Neuronal Cells. *Journal of Neurochemistry* 1993; 61: 578-585.
205. Mittal CK. Nitric Oxide Synthase: Involvement of Oxygen Radicals in Conversion of L-Arginine to Nitric Oxide. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993; 193:126-132.
206. Balçıoğlu A. Nitrik Oksid: Yeni Biyolojik İkincil Haberci. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 1993; 13: 31-45.

207. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 1995; 9: 526-533.
208. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007; 115: 81-103.
209. Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem* 2008; 15: 1236-1248.
210. Mickle DA, Weisel RD. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol* 1993; 9: 89-93.
211. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 375-429.
212. Zembowicz A, Hatchett RJ, Jakubowski AM, Gryglewski RJ. Involvement of Nitric Oxide in The Endothelium-Dependent Relaxation Induced by Hydrogen Peroxide in The Rabbit Aorta. *Br J Pharmacol* 1993; 110(1):151-158.
213. Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc* 1973; 32: 1870-1874.
214. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 2000; 39: 1529-1542.
215. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochemistry* 1984; 22:1-5.
216. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995; 41: 1819-1828.
217. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277-285.

218. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38(12): 1103-1111.
219. Harpey C, Clauser P, Labrid C, Freyria JL, Pairier JP. Trimetazidine, a cellular anti-ischemic agent. *Cardiovasc Drug Rev* 1989; 6: 292-312.
220. Rose Mery Robertson. Drugs used for the treatment of myocardial ischemia. Joel G. Handman, Limbid Lee E (ed). Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutics. Mc Graw Hill Companies, New York, 1996: 775-779.
221. Iqbal S, Baziany A, Hussain M, James S, Wright S, Heming S, Shuaib A, Rajput A. Trimetazidine as a potential neuroprotectant in transient global ischemia in gerbils: a behavioral and histological study. *Brain Research* 2002; 928: 1-7.
222. Özden A, Aybek Z, Saydam N, Çalli N, Saydam O, Düzcan E, Güner G. Cytoprotective Effect of Trimetazidine on 75 min Warm Renal Ischemia Reperfusion Injury in Rats. *Eur Surg Res* 1998; 30: 227-234.
223. Noble MIM, Belcher PR, Drake Holland AJ. Limitation of infarct size by trimetazidine in the rabbit. *Am J Cardiol* 1995; 76: 41-44.
224. Ozbay L, Unal DO, Erol D. Food effect on bioavailability of modified-release trimetazidine tablets. *J Clin Pharmacol* 2012; 52: 1535-1539.
225. Jackson PJ, Brownsill RD, Taylor AR, Resplandy G, Schwietert HR. Identification of trimetazidine metabolites in human urine and plasma. *Xenobiotica* 1996; 26: 221-228.
226. Iskesen I, Saribulbul O, Cerrahoglu M, Var A, Nazli Y, Sirin H. Trimetazidine reduces oxidative stress in cardiac Surgery. *Circ J* 2006; 70: 1169-1173.
227. Ciapponi A, Pizarro R, Harrison J. Trimetazidine for stable angina (Cochrane Review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2005; 19: CD003614.

228. Dorweiler B, Pruefer D, Andrasi TB, Maksan SM, Schmiedt W, Neufang A, Vahl CF. Ischemia-Reperfusion Injury Pathophysiology and Clinical Implications. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2007; 33(6): 600-612.
229. Oral A, Odabasoglu F, Halici Z. Protective effects of montelukast on ischemia-reperfusion injury in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertility and Sterility* 2011; 95(4): 1360-1366.
230. Ozat M, Gungor T, Barun S, Demirogullari B, Sokmensuer LK, Gulbahar O, Gursoy D, Muftuoglu S. The effects of iloprost, a prostacyclin analogue, in experimental ischaemia/reperfusion injury in rat ovaries. *Exp Toxicol Pathol* 2009; 61(5): 519-527.
231. Abali R, Tasdemir N, Yuksel MA, Guzel S, Oznur M, Nalbantoglu B, Tasdemir UG. Protective effect of infliximab on ischemia/reperfusion injury in a rat ovary model: biochemical and histopathologic evaluation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 171(2): 353-357.
232. Yurtcu E, Togrul C, Ozyer S, Uzunlar O, Karatas YH, Seckin KD, Caydere M, Hucumenoglu S, Cicek N. Dose dependent protective effects of vardenafil on ischemia-reperfusion injury with biochemical and histopathologic evaluation in rat ovary. *J Pediatr Surg* 2015; 50(7): 1205-1209.
233. Parlakgumus HA, Aka Bolat F, Bulgan Kilicdag E, Simsek E, Parlakgumus A. Atorvastatin for ovarian torsion: effects on follicle counts, AMH, and VEGF expression. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 175: 186-190.
234. Filho DW, Torres MA, Bordin ALB, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004; 25(1-2): 199-210.
235. Haftacı SM, Albayrak M, Demir Ş, Yıldırım Ü, Ankaralı H, Keskin F. Rat Overinde Oluşturulan Adneksiyal Torsiyon Modelinde Perioperatif Selenyum ve C Vitamini Uygulamasının Ovaryan Nekroz Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi* 2013; 4: 118-123.

236. Tunc SY, Agacayak E, Goruk NY, Icen MS, Turgut A, Alabalik U, Togrul C, Ekinçi C, Ekinçi A, Gul T. Protective effects of honokiol on ischemia/reperfusion injury of rat ovary: an experimental study. *Drug Des Devel Ther* 2016; 10: 1077–1083.
237. Sahin Ersoy G, Eken M, Tal R, Oztekin D, Devranoglu B, Isik Kaygusuz E, Cevik O. N-acetylcysteine leads to greater ovarian protection than enoxaparin sodium in a rat ovarian torsion model. *Reprod Biomed Online* 2016; 7: 1472.
238. Boussaid AM, Zaouali MA, Hauet T, Ayed KH, Miled AH, Mazgar SG, Mosbahi DS, Catafau JR, Abdennebi HB. Attenuation of endoplasmic reticulum stress and mitochondrial injury in kidney with ischemic postconditioning application and trimetazidine treatment. *Journal of Biomedical Science* 2012; 19: 71.
239. Reymond F, Steyaert G, Carrupt PA, Morin D, Tillement JP, Girault HH, Testa B. The pH-partition profile of the anti-ischemic drug trimetazidine may explain its reduction of intracellular acidosis. *Pharmaceutical Research* 1999; 16(5): 616–624.
240. Renaud JF. Internal pH, Na⁺, and Ca²⁺ regulation by trimetazidine during cardiac cell acidosis. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 1988; 1(6): 677–686.
241. Guarnieri C, Finelli C, Zini M, Muscari C. Effects of trimetazidine on the calcium transport and oxidative phosphorylation of isolated rat heart mitochondria. *Basic Research in Cardiology* 1997; 92(2): 90–95.
242. Maupoil V, Rochette L, Tabard A, Clauser P, Harpey C. Direct measurement of free radical generation in isolated rat heart by electron paramagnetic resonance spectroscopy: effect of trimetazidine. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1990;264: 373–376.

243. Pekcetin C, Ergur BU, Kiray M, Bagriyanik A, Tugyan K, Erbil G, Ozogu C. The protective effects of trimetazidine on testicular ischemia and reperfusion injury in rats. *Pediatr Surg Int* 2007; 23: 1113–1118.
244. Unal D, Karatas OF, Savas M, Yeni E, Keser BS, Verit A, Erel O, Bitiren M. Protective Effects of Trimetazidine on Testicular Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Urol Int* 2007; 78: 356–362.
245. Srivastava G, Mehta JL. Currying the heart: curcumin and cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2009; 14(1): 22-27.
246. Sak ME, Soydinc HE, Sak S. The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *International Journal of Surgery* 2013; 11: 967-970.
247. Akdemir A, Sahin C, Erbas O, Yeniel AO, Sendag F. Is ursodeoxycholic acid crucial for ischemia/reperfusion-induced ovarian injury in rat ovary? *Arch Gynecol Obstet* 2015; 292(2): 445-450.
248. Incebiyik A, Seker A, Camuzcuoglu H, Kocaslan S, Camuzcuoglu A, Hilali NG, Vural M, Taskin A, Aksoy N. Does sildenafil have protective effects against ovarian ischemia-reperfusion injury in rats? *Arch Gynecol Obstet* 2015; 291(6): 1283-1288.
249. Guven S, Muci E, Unsal MA, Yulug E, Alver A, Kadioglu Duman M, Mentese A. The effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on ovarian blood flow, oxidative stress markers, and morphology during laparoscopy: a rabbit model. *Fertil Steril* 2010; 93: 1327–1332.
250. Yamamoto T, Yuki S, Watanabe T, Mitsuka M, Saito KI, Kogure K. Delayed neuronal death prevented by inhibition of increased hydroxyl radical formation in a transient cerebral ischemia. *Brain Res* 1997; 762: 240–242.
251. Kara M, Daglioglu YK, Kuyucu Y. The effect of edaravone on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 162: 197-202.

252. Aslan MK, Boybeyi Ö, Şenyücel MF, Ayva Ş, Kısa Ü, Aksoy N, Soyer T, Cesur Ö, Çakmak M. Protective effect of intraperitoneal ozone in experimental ovarian ischaemia-reperfusion injury. *J Pediatric Surgery* 2012; 47: 1730-1734.
253. Bozkurt S, Arikan DC, Kurutas EB, Sayar H, Okumus M, Coskun A, Bakan V. Selenium has a protective effect on ischemia/reperfusion injury in a rat ovary model: biochemical and histopathologic evaluation. *J Pediatr Surg* 2012; 47(9): 1735-1741.
254. Yuluğ E, Türedi S, Karagüzel E, Kutlu O, Menteşe A, Alver A. The short term effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Surg* 2014; 49(3): 484-489.
255. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, Kurt RK, Ozcan O, Ozturk S, Tas ZA, Karateke F, Duru M. Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 183: 23-27.
256. Sancak EB, Akbas A, Silan C, Cakir DU, Turkon H, Ozkanli SS. Protective effect of syringic acid on kidney ischemia-reperfusion injury. *Ren Fail* 2016; 38(4):629-635.
257. Aksoy F, Dogan R, Ozturan O, Eren SB, Veyseller B, Pektas A, Hüseyinbas Ö. Protective effect of trimetazidine on amikacin-induced ototoxicity in rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014; 78(4): 663-669.

EKLER

Ek-1. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
Sağlık Bakanlığı
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi
“Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Karar Defteri”

Toplantı No: 0018

13.05.2014

PROJENİN ADI (Varsa Kodu): Ratlarda Deneyisel olarak oluşturulan over torsiyonu modelinde trimetazidin’in İskemi-Reperfüzyon hasarının tedavisindeki rolü.

SORUMLU ARAŞTIRMACI : Doç.Dr.Melike DOĞANAY. Tıpta Uzmanlık Tezi

T.C.S.B.Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğt.ve Arş.Hst Jinekoloji Kliniği

(Dr.Aylin Önder Dirican, Doç.Dr.Melike Doğanay, Dr.Ergin Yurtçu, Dr.Cihan Toğrul, Dr.Gizem Tanrikulu, Dr.Muzaffer Çaydere, Doç.Dr.Sema Hücümenoğlu, Dr.Tuba Çandar)

ARAŞTIRMAYI DESTEKLEYEN KURULUŞ(LAR): Yok.

KARAR:

287.Çalışmanın Protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden “ETİK” değerlendirmesinde “UYGUN” “OLDUĞUNA”/”ÖLMADIĞINA” “OYBİRLİĞİ” / “OYÇOKLUĞU” ile karar verilmiş ve araştırma için belirlenen tüm hayvan, uygulama, tetkik ve girişimlerin bedellerinin araştırma grubunca karşılanması kaydı ile çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin ve Hayvan Deneyleri Laboratuvarı’nın kullanılmasına “İZİN” “VERİLMİŞTİR” / “VERİLMEMİŞTİR”.

Prof.Dr.Nevres AYDOĞAN
(BAŞKAN)

Doç.Dr.Yalçın ARAL

Prof.Dr.Ali Pekcan Demiröz

Doç.Dr.Nezih SUNGUR

Uz.Dr.Mustafa KOTANOĞLU

Gülcan BAŞEĞMEZ
(Sivil Üye)

Prof.Dr.Uğur KOÇER

Veteriner Hek. Cengiz YALÇIN
(Raportör ve Kurul Sekreteri)

Doç.Dr.Kemal KİSMET

Prof.Dr.Münir DEMİRCİ

Ahmet Zeki GÜLER
(Sivil Toplum Örgütü Üyesi)