

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

RATLARDA OVARYAN TORSİYON – DETORSİYON
MODELİNDE İSKEMİ – REPERFÜZYON HASARINDA,
CURCUMİN, ERDOSTEİN VE GİNKGO BİLOBA’NIN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. MEHMET BEHRENGİ KAHRAMAN

UZMANLIK TEZİ

KIRIKKALE

2012

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

RATLARDA OVARYAN TORSİYON – DETORSİYON
MODELİNDE İSKEMİ – REPERFÜZYON HASARINDA,
CURCUMİN, ERDOSTEİN VE GİNKGO BİLOBA’NIN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. MEHMET BEHRENGİ KAHRAMANI
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. VOLKAN NOYAN

KIRIKKALE
2012

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 8/11/2012

Prof. Dr. Nevin SAĞSÖZ
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD. Başkanı
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Volkan NOYAN
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.
Üye

Doç. Dr. Aykan YÜCEL
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.
Üye

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca deneyim ve desteğini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum saygı değer hocam Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nevin SAĞSÖZ'e,

Beyin gücünü ve emeğini bu topraklarda bilim adamları yetiştirmeye adanmış, özellikle ileri laparoskopik girişimlerde öncülüğünü kanıtlamış, bilimsel düşünceye verdiği önemi her fırsatta vurgulayan, kanıta dayalı çalışma ilkesinden vazgeçmeyen, gerek bilgi birikimi gerekse de evrensel ve özgür düşünce değerlerini örnek almaya çalıştığım, uzman hekim kimliğini kazanmamda çok büyük emeği olan, saygı değer hocam Doç. Dr. Volkan NOYAN'a,

Adalet ilkesinden ödün vermeyen, ayırım yapmaksızın tüm hastalara ve çalışma arkadaşlarımıza hümanist yaklaşımıyla örnek teşkil eden, bilim adamı nasıl olmalıdır ? sorusuna yanıt ararken defalarca hatırladığım, güncel tıbbi gelişmeleri ve cerrahi tedavi prensiplerini doğru kavramamda ve uygulamamda klavuz edindiğim saygı değer hocam Doç. Dr. Aykan YÜCEL'e,

Asistanlık eğitimimde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Aylin Pelin ÇİL ve Yrd. Doç. Dr. Zeynep Özcan DAĞ'a,

Tanımdan ve beraber çalışmaktan ayrı bir keyif ve haz duyuyum, bana eğitimim süresince her anlamda destek olan, çok değerli ve saygı değer hocalarım Prof. Dr. Erdal Yılmaz ve Prof. Dr. Üçler Kısa'ya,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, hemşire, personel ve ameliyathane çalışanlarına,

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca hiçbir konuda desteğini esirgemeyen anneme, babama ve kardeşlerime,

Zorlu eğitim hayatımda her zaman yanımda olan, bu zorlu tedavi sürecindeki dik duruşunu şaşkınlıkla izleyerek omuz verdiğim yol arkadaşım Gökçen'e

Sonsuz teşekkürlerimle...

ÖZET

KAHRAMAN MB., Ratlarda ovaryan torsiyon-detorsiyon modelinde iskemi reperfüzyon hasarında, Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba'nın koruyucu etkilerinin araştırılması, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2012

Over torsiyonu reproduktif dönemde sık görülen, mümkün olduğunca erken tanı ve müdahale gerektiren jinekolojik acillerden biridir. Torsiyon sonucunda meydana gelebilecek iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci sorumlu tutulmaktadır. İskemik hasar dönemi olarak adlandırılan bu süreçte ovaryan hasar temel olarak hipoksiye bağlıdır. Torsiyon ortadan kaldırıldıktan sonra da reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin oluşmasıyla reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan süreç başlar. Dokudaki toplam hasar iskemi ve reperfüzyonun her ikisinin de yol açtığı hasarın toplamı olarak kabul edilmektedir. Sonuç olarak, reperfüzyon hasarının önlenmesi iskemi tedavisinin başarısını daha da arttıracaktır. Bu hipotezden yola çıkarak farklı çalışmalarda antioksidan etkisi gösterilmiş olan Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba'nın iskemi-reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkisini ortaya koymayı amaçladık. Çalışmada kullandığımız ajanlardan Curcumin, bitkisel kökenli bir bileşik olup çeşitli çalışmalarda güçlü antioksidan, anti-inflamatuvar ve anti-kanserojen etkileri gösterilmiştir. Bir diğer ajan Erdosteine klinikte mukolitik ve ekspektoran özelliğinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Erdosteine'in bu etkilerinin yanında antioksidan özelliği de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızda kullanılan Ginkgo biloba, aynı isimli bitkinin yapraklarından elde edilir ve yapılan birçok çalışmada iskemi-reperfüzyon hasarında nöroprotektif ve kardiyoprotektif olduğu gösterilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla her üç ajanın overde iskemi-reperfüzyon hasarında kullanımına ilişkin şimdiye kadar yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda ratlarda deneysel olarak ovaryan torsiyon-detorsiyon modeli oluşturup bunun sonucunda overde oluşan iskemi-reperfüzyon hasarının derecesini histopatolojik olarak değerlendirmeyi, serum ve dokudaki,

malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) seviyelerini biyokimyasal olarak ölçmeyi ve Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba tedavilerinin ovaryan iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkinliklerini değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla çalışmada 36 adet Wistar albino cinsi, 16 haftalık, 250 – 300 gr. ağırlığındaki dişi ratlar kullanıldı. Ratlar randomize olarak her grupta 6'şar adet olmak üzere Grup I (sham grubu): Sadece laparotomi uygulanan ve overleri çıkarılan, Grup II (iskemi grubu): Ovaryan iskemi oluşturulan, 3 saat sonra overleri çıkarılan, Grup III (iskemi-reperfüzyon grubu): 3 saatlik iskeminin ardından, 3 saat reperfüzyon oluşturulup, overleri çıkarılan, Grup IV (iskemi-reperfüzyon + Curcumin): 3 saatlik iskemi oluşturulup reperfüzyondan 30 dk. önce 200 mg/kg intraperitoneal Curcumin verilen ve overleri çıkarılan, Grup V (iskemi-reperfüzyon + Ginkgo biloba): 3 saatlik iskemi oluşturulup reperfüzyondan 30 dk. önce 100 mg/kg intraperitoneal Ginkgo biloba verilen ve overleri çıkarılan, Grup VI (iskemi-reperfüzyon + Erdosteine): 3 gün boyunca oral gavaj ile 150 mg/kg Erdosteine verilen ve 3 saatlik iskemi ve 3 saat reperfüzyondan sonra overleri çıkarılan grup olarak ayrıldılar.

Curcumin grubunda serum katalaz düzeyleri, iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, doku katalaz düzeyleri iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Oksidasyon ürünü olan serum malondialdehit seviyesinin ise iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Patoloji sonuçlarına bakıldığında Curcumin grubunda, iskemi reperfüzyon grubuna göre infarkt-vital parankim kaybı oranının anlamlı olarak azaldığı, yine iskemi sonrası dokuda görülen polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterildi. Hemorajinin ise iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı. Erdosteine grubuna bakıldığında; dokudan alınan örneklerde NO seviyelerinin iskemi grubuna göre anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Serum NO seviyeleri ise iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Serum ve doku katalaz düzeyleri, iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Patoloji sonuçlarına bakıldığında Erdosteine grubunda, infarkt-vital parankim kaybı ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Polimorfonükleer

lökosit infiltrasyonunun iskemi grubuna göre azaldığı görülürken, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ginkgo biloba grubunda, serum katalaz seviyesinin iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu, doku katalaz düzeylerinin de iskemi grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Doku örneklerinde, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunsa da, infarkt-vital parankim kaybı yönünden iskemi veya iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı fark saptanmadı. Benzer olarak iskemi grubuna göre hemorajinin anlamlı olarak arttığı saptandı. Sonuç olarak, Curcumin ve Erdosteine'in ovarian iskemi-reperfüzyon hasarında özellikle doku morfolojik incelemeleri bazında koruyucu etkilerinin olduğu, erken müdahale edilirse ovarian torsiyona bağlı organ kayıplarının önlenmesinde etkili olabilecekleri düşünülmüştür. Ginkgo biloba'nın ise benzer etkileri ortaya konulamamıştır. Curcumin ve Erdosteine'in oksidatif hasar üzerine olan etkinliklerinin prospektif çalışmalarla desteklenmesi, ovarian torsiyonun yönetiminde yeni tedavi modalitelerini gündeme getirebilir.

Anahtar kelimeler: Rat, over, torsiyon, detorsiyon, iskemi, reperfüzyon, Curcumin, Erdosteine, Ginkgo biloba, antioksidan

ABSTRACT

KAHRAMAN MB., Investigation of the protective effects of Curcumin, Erdosteine and Ginkgo biloba on ischemia-reperfusion injury in a rat model of ovarian torsion-detorsion. University of Kırıkkale Medical Faculty, Department of Obstetric and Gynecology Speciality Thesis, Kırıkkale, 2012

Ovarian torsion is a frequent gynaecological emergency of the reproductive period which should be diagnosed and intervened immediately. The etiology of torsion-related ischemic injury has been contributed to oxidative stress due to the surrounding reactive oxygen metabolites and the inflammatory process. In this period which is referred to as the ischemic injury period, the ovarian injury is mainly related to the hypoxia. Following the removal of the torsion, the formation of reactive oxygen and nitrogen species initiates another entity referred to as reperfusion injury. The total tissue injury is considered as the total of ischemic and reperfusion-related injuries. As a result, the prevention of reperfusion injury will increase the success of ischmeia treatment. Starting with this hypothesis, we aimed to investigate the preventive effects of Curcumin, Erdosteine and Ginkgo biloba, the antioxidant effects of which have been demonstrated in different studies, on ischemia-reperfusion injury. Curcumin is a herbal compound that has been proven by various studies to have strong antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer effects. Erdosteine has been widely used clinically due to its mucolytic and expectorant effects. Various studies have also demonstrated the antioxidant effects of the compound. Ginkgo biloba is extracted from the leaves of the plant with a same name, and has been shown in many studies to be neuroprotective and cardioprotective in ischemia-reperfusion injury. To our knowledge, there is no study in the literature regarding the use of all three agents in the ischemia-reperfusion injury of the ovary. In our study, we aimed to grade the degree of ischemia-reperfusion injury histopathologically following the formation of an experimental torsion-detorsion model in rats, to biochemically measure the levels of serum and tissue malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), superoxide dismutase (SOD) and

catalase (CAT), and to investigate the preventive effects of Curcumin, Erdosteine and Ginkgo biloba treatments on ovarian ischemia-reperfusion injury. For this purpose, 36 female Wistar albino rats of 16 weeks of age with an average weight of 250 – 300 gr were used. The rats were randomized into six groups: Group I (sham group) (n=6): those undergoing only laparotomy and ovarian dissection, Group II (ischemia group) (n=6): ovarian ischemia-induced group with ovarian dissection 3 hours subsequent to the induction, Group III (ischemia-reperfusion group) (n=6): the group with ovarian dissection following a 3 hour ischemia and 3 hour reperfusion periods, Group IV (ischemia-reperfusion + Curcumin group) (n=6): the group with ovarian dissection following a 3 hour ischemia and 200 mg/kg intraperitoneal Curcumin administration 30 minutes prior to reperfusion, Group V (ischemia-reperfusion + Ginkgo biloba group) (n=6): the group with ovarian dissection following a 3 hour ischemia and 100 mg/kg intraperitoneal Ginkgo biloba administration 30 minutes prior to reperfusion, and Group VI (ischemia-reperfusion + Erdosteine) (n=6): the group with 150 mg/kg Erdosteine administration via oral gavage for 3 days and ovarian dissection following a 3 hour ischemia and 3 hour reperfusion periods.

The serum catalase levels in the Curcumin group were significantly higher than those in the ischemia and ischemia-reperfusion groups, whereas the tissue catalase levels were significantly lower than those in these two groups. The level of serum malondialdehyde, which is an oxidation product, was found to be significantly lower in the Curcumin group than that in the ischemia-reperfusion group. According to the pathology results, the rate of infarct-vital parenchymal loss and the polymorphonuclear leukocyte infiltration that is seen was the ischemic tissue in the Curcumin group were both significantly decreased compared to those in the ischemia-reperfusion group. Hemorrhage on the other hand, was found to be significantly increased compared to the ischemia-reperfusion group. In the Erdosteine group, the NO levels in the tissue samples were significantly decreased compared to the ischemia group. The serum NO levels, on the other hand, were found to be significantly higher than that of both the ischemia and the ischemia-reperfusion groups. The serum and tissue catalase levels were significantly lower than those in the ischemia and the ischemia-reperfusion groups. According to the

pathology results, the infarct-vital parenchymal loss and polymorphonuclear leukocyte infiltration were both significantly lower than those of the ischemia-reperfusion group. Polymorphonuclear leukocyte infiltration was decreased compared to the ischemia group, although not statistically significant. The serum catalase levels in the Ginkgo biloba group were found to be significantly decreased compared to those of the ischemia and ischemia-reperfusion groups, and the tissue catalase levels were significantly decreased compared to the ischemia group. Although the polymorphonuclear leukocyte infiltration in the tissue samples was at a significantly lower degree than that in the ischemia-reperfusion group, no difference was observed with regard to the infarct-vital parenchymal loss compared to the ischemia and the ischemia-reperfusion groups. Likewise, the degree of hemorrhage was found to be significantly high compared to the ischemia group. As a result, it was concluded that Curcumin and Erdosteine have tissue-based protective effects in ovarian ischemia-reperfusion injury and that they may be effective in the prevention of ovarian torsion-related organ losses by rapid intervention. However, no similar results were obtained by Ginkgo biloba. Supporting the effects of Curcumin and Erdosteine on oxidative stress by prospective studies may bring new treatment modalities in the management of ovarian torsion.

Key Words: Rat, ovary, torsion, detorsion, ischemia, reperfusion, Curcumin, Erdosteine, Ginkgo biloba, antioxidant.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR	xiii
TABLolar LİSTESİ	xvi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvii
RESİM LİSTESİ	xviii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Overler	2
2.1.1. Overlerin Anatomisi	2
2.1.1.1. Over Arterleri	3
2.1.1.2. Over Venleri	3
2.1.2. Over Histolojisi	3
2.1.3. Over Fizyolojisi	3
2.2. İskemi ve Reperfüzyon	6
2.2.1. İskemi	6
2.2.2. Reperfüzyon	6
2.3. Serbest Radikaller	9
2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri	9
2.3.1.1. Süperoksit Radikali	10
2.3.1.2. Nitrik Oksit	10
2.3.2. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	10
2.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri	11
2.4. Antioksidanlar	11
2.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	12
2.4.2. Katalaz (CAT)	12
2.5. Overde İskemi-Reperfüzyon	12

2.5.1. Overde İskemi – Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Kullanılan Ajanlar ve Etkinlik Düzeyleri	12
2.6. Curcumin	14
2.6.1. Kaynaklar ve Kimyasal Yapı	14
2.6.2. Farmakokinetik Özellikleri	15
2.6.3. Farmakolojik Kullanımı	16
2.6.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kullanımı	16
2.7. Erdosteın	18
2.7.1. Kaynaklar ve Kimyasal Yapı	18
2.7.2. Farmakokinetik Özellikleri	19
2.7.3. Farmakolojik Kullanımı	19
2.7.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kullanımı	20
2.8. Ginkgo biloba	22
2.8.1. Kaynaklar ve Kimyasal Yapı	22
2.8.2. Farmakokinetik Özellikleri	22
2.8.3. Farmakolojik Kullanımı	22
2.8.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kullanımı	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Ratların Temin ve Bakımı	26
3.2. Deneyde Kullanılan Curcumin, Erdosteın, Ginkgo biloba Dozlarının Belirlenmesi ve Hazırlanışı	26
3.2.1. Dozlarının Belirlenmesi	26
3.2.2. Deneyde Kullanılan Curcumin, Erdosteın ve Ginkgo biloba'nın Hazırlanışı	28
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	28
3.4. Torsiyon-Detorsiyon Modelinin Yapılması	29
3.5. Deneyin Sonlandırılması	30
3.6. Doku Biyokimyasal Analizleri	31
3.7. Histopatolojik İncelemeler	31
3.8. İstatistiksel Analiz Gruplarının Oluşturulması	32
3.8.1. İstatistiksel Analiz	32

4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇLAR	54
7. KAYNAKLAR	56

KISALTMALAR

GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
FSH	Folikül stimüle edici hormon
LH	Luteinize edici hormon
hCG	İnsan koryonik gonadotropin
İ	İskemi
R	Reperfüzyon
İR	İskemi-reperfüzyon
ATP	Adenozin trifosfat
XO	Ksantin oksidaz
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
MDA	Malondialdehit
İL	İnterlökin
TNF	Tümör nekrotizan faktör
ICAM	İnterselüler adezyon molekülü
ROT	Reaktif oksijen türleri
DNA	Deoksiribonükleik asit
NOS	Nitrikoksit sentaz
4-HNE	4-Hidroksinonenal
LPO	Lipid peroksidaz
MPO	Myelo peroksidaz
CAPE	Kafeik asit fenilester
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
DMSO	Dimetil sülfoksit
IUPAC	İnternational Union of Pure and Applied Chemistry
LAD	Left anterior descending
AAT	Alfa-1-antitripsin

SH	Sülfhidril
BUN	Blood ürea nitrogene
TBARS	Thiobarbituric acid-reactive substances
EGb-761	Extract formulation of Ginkgo biloba
Gb	Ginkgo biloba
PAF	Platlet adezyon faktörü
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
CUR	Curcumin
İP	İntraperitoneal
HE	Hematoksilen eozin
VK	Vasküler konjesyon
H	Hemoraji
PMNLİ	Polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu
İVPK	İnfarkt-vital parankim kaybı
S	Sham
C	Curcumin
G	Ginkgo biloba
E	Erdostein
NSAİİ	Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar
CCL4	Carbon tetrachloride
VGf	Vasküler endotelial büyüme faktörü
Nf-KB	Nuclear Factor kappa B
CO2	Karbondioksit
O₂•	Süperoksit
H₂O₂	Hidrojen peroksit
¹O₂	singlet oksijen
OH•	Hidroksil
HO₂•	Hidroperoksil
HOCl	Hipokloröz asit
RO•	Alkoksil

ONOO⁻	Peroksinitrit radikali
ROO[•]	Peroksil
O₃	Ozon
NO[•]	Nitrik oksit
LOOH	Lipid hidroperoksit
NO₂[•]	Azot dioksit

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Ürünleri	10
Tablo 3.1. Ovaryum kesitlerinin histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan skorlama skalası	32
Tablo 4.1. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Curcumin Gruplarına Göre Serumdan Alınan Malondialdehit, Nitrik Oksit, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	34
Tablo 4.2. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Curcumin Gruplarına Göre Dokudan Alınan Malondialdehit, Nitrik Oksit, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	35
Tablo 4.3. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Curcumin Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları	36
Tablo 4.4. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Erdosteine Gruplarına Göre Serumdan Alınan Malondialdehit, Nitrik Oksit, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	38
Tablo 4.5. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Erdosteine Gruplarına Göre Dokudan Alınan Malondialdehit, Nitrik Oksit, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	39
Tablo 4.6. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Erdosteine Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları	40
Tablo 4.7. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Ginkgo biloba Gruplarına Göre Serumdan Alınan Malondialdehit, Nitrik Oksit, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	42
Tablo 4.8. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Ginkgo biloba Gruplarına Göre Dokudan Alınan Malondialdehit, Nitrik Oksit, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Ölçümleri	43
Tablo 4.9. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Ginkgo biloba Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Uterus, Vajina, Tubalar, Overler ve Ligamentler	2
Şekil 2.6. Curcumin ve analog bileşiklerin kimyasal yapısı	15
Şekil 2.7. Erdosteın'in kimyasal yapısı	18

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa
Resim 3.1. Sham Grubu	30
Resim 3.2. Overler mikrovasküler klemp ile tutularak torsiyon oluşturuldu.	30
Resim 3.3. İskemik over	30
Resim 3.4. İskemi sonrası reperfüzyona uğrayan over	30
Resim 4.1. Curcumin grubunda orta derecede hemorajik infarkt ile birlikte minimal vital parankim kaybı (HE X 40)	36
Resim 4.2. Curcumin grubunda orta derecede vasküler konjesyon izlenirken, parankim kaybı izlenmedi (HE X 100)	37
Resim 4.3. Curcumin grubunda submezotelyal alanda hafif-orta derecede olarak değerlendirilen polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (HE X 400).	37
Resim 4.4. Erdosteın grubunda orta derecede hemoraji ve vasküler konjesyon (HE X 40)	40
Resim 4.5. Erdosteın grubunda orta derecede vasküler konjesyon izlenirken, parankimde hemorajik infarkt görülmedi (HE X 100).	41
Resim 4.6. Erdosteın grubunda serozal yağ dokuda polimorfonükleer lökosit İnfiltrasyonu görülmedi (HE X 400).	41
Resim 4.7. Ginkgo biloba grubunda serozal yağ dokuda hafif derecede polimorfonükleer lökosit birikimi (HE X 400)	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemiden sonra doku ve organların reperfüzyonu doku veya organ hasarını arttırmakta ve bu durum iskemi-reperfüzyon hasarı olarak adlandırılmaktadır (1-3). İskemi-reperfüzyon hasarında iskemideki hipoperfüzyona ilave olarak inflamatuvar yanıt ve birçok organda disfonksiyon sendromları meydana gelmektedir (4). İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi ve tedavisiyle ilgili birçok teori geliştirilmekte ve araştırmalar yapılmaktadır (5). Overde iskemi-reperfüzyon hasarına neden olan ve en sık görülen durum over torsiyonudur (6). Over torsiyonuna yol açan başlıca durumlar ise ovaryan kistler, ovaryan kistler ve yardımcı üreme tekniklerinde overlerin gonadotropinlerle hiperstimülasyonudur (7,8). Nadiren ovaryan arterin trombozu da iskemi-reperfüzyon hasarına sebep olabilmektedir (9). Overler iki farklı arter (ovaryan arter ve uterin arterin ovaryan dalı) tarafından beslendikleri için bu durum iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmaya yardımcı olmaktadır (10,11). Reperfüzyon hasarı paradoksal olarak doku veya organlara iskemik hasardan daha fazla zarar vermektedir. Bu sebepten ötürü iskemi-reperfüzyon modeli birçok çalışmada kullanılmakta ve reperfüzyon hasarının azaltılması için birçok farmakolojik ajan denenmektedir (12-15). Curcumin, curcuma longa bitkisinin kök ve sap kısımlarının kurutulup toz haline dönüştürülmesiyle elde edilen ve daha önce antioksidan, antikanserojen ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı birçok deneysel araştırmada kullanılan güçlü bir serbest radikal kovucudur (16-18). Erdosteine, kimyasal adı N-karboksimetiltioasetil-homosistein tiolaktone olan, klinikte mukolitik ve ekspektoran özelliğinden dolayı yaygın olarak kullanılan ve bu etkilerinin yanında antioksidan özelliğinden dolayı birçok deneysel çalışmada kullanılan güçlü bir farmakolojik ajandır (19-21). Ginkgo biloba antik bir Çin ağacı olup aynı isimli bitkinin yapraklarından elde edilen ekstresinin sağlığa yararlı etkilerinden dolayı yüzyıllarca yetiştirilen ve korunan ve yapılan birçok çalışmada iskemi-reperfüzyon hasarında nöroprotektif ve kardiyoprotektif etkileriyle lisanslı olarak günümüzde de kullanımı sürdürülen etkili bir ajandır (22). Bildiğimiz kadarıyla literatürde Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba'nın ovaryan iskemi-reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkinliklerini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı, Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba'nın ovaryan iskemi-reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkilerini ortaya koymaya çalışmaktır.

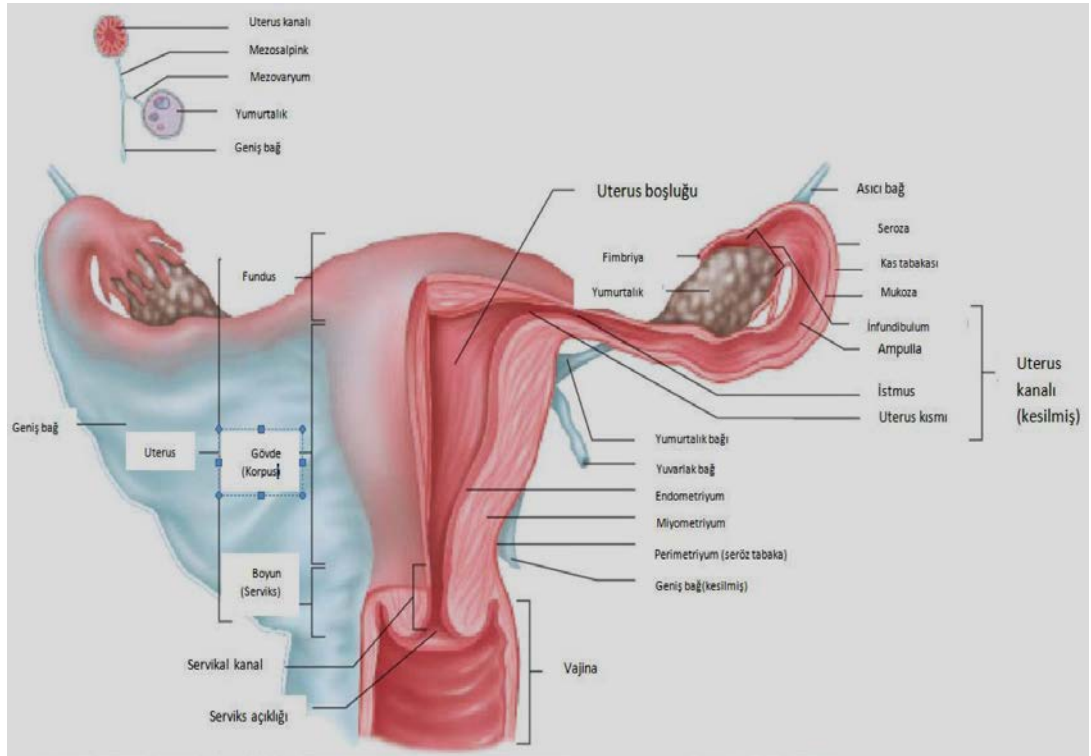
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Overler

2.1.1. Overlerin Anatomisi

Overler uterusun her iki yanında yerleşmiş bir çift organdır. Oval şekilli olan overlerin boyutları erişkinlerde yaklaşık olarak 3-4/1.5-2/1 cm'dir. İç ve dış olmak üzere iki yüzü, ön (mezoovaryan) ve arka (serbest) olmak üzere iki kenarı, tubal (üst) ve uterin (alt) olmak üzere iki ucu vardır (23). Overler, uteroovaryan ve infundubulopelvik (suspansor) ligamentlerle uterusun her iki yanında asılı halde yerleşmişlerdir (24). Uteroovaryan ligament overi iç kenarından uterusu bağlar. İnfundubulopelvik ligament ise overi dış kenarından pelvik duvara asar. Her iki ligament de uterusu ait broad ligament içerisinde bulunurlar (25). İnfundubulopelvik ligamentin içinde overin damar ve sinirleri bulunur (Şekil 2.1.).

Şekil 2.1. Uterus, Vajina, Tubalar, Overler ve Ligamentler (Kaynak 24'ten alınmıştır).



2.1.1.1. Over Arterleri

Overlere kan getiren esas damar ovaryan arter olup abdominal aortanın dallarındandır. Birinci lumbal vertebra seviyesinde, renal arter altında aortadan

ayrılır (23). Testiküler arterlerin dişideki karşılığıdır. Ovaryan arter suspansör ligament içinde ilerleyerek mesovaryuma gelir (24). Overlerin kanlanması sağlayan diğer damar da uterin arterin ovaryan dalıdır (ramus ovaricus). Mezovaryumda, overlere kan getiren ramus ovaricus ile ovaryan arter anastomoz yapar ve helisin arter olarak da isimlendirilirler. Arterler overlere hilustan girerek korteks ve medulla sınırında pleksus meydana getirirler. Bu pleksustan çıkan dallar foliküllerin etrafını saran kılcal damar ağını oluştururlar (25).

2.1.1.2. Over Venleri

Overin venleri ovaryan arterlerle birlikte yükselir ve pampiniform pleksusu oluşturur. Karın boşluğunda sağ ovaryan ven inferiyor vena kavaya, sol ovaryan ven sol renal vene ağılır (23-25).

2.1.2. Over Histolojisi

Over, tek katlı yassıdan kübiğe kadar değişiklik gösteren bir yüzey epiteli ve yüzey epitelinin altında overi saran tunika albuginea denilen bağ dokusu ile çevrilmiştir (26). Overin diğer parankim hücresi olan granüloza hücreleri ile folikül hücresi arasında karşılıklı sinyal iletimini sağlayan özel gap-junctionlar bulunmaktadır (27). Granüloza hücreleri bu gap-junctionlar aracılığıyla folikül hücresinin beslenmesini sağlamaktadır. Granüloza hücreleri bazal membran içinde yer aldıklarından folikül hücrelerinden kolaylıkla ayırt edilebilirler (28). Overin stroma hücresi olan teka hücreleri, overe özel endokrin hücrelerdir. Tekal hücrelerin temel fonksiyonu steroid hormon üretimidir (29).

2.1.3. Over Fiziyojisi

Overlerin steroid hormonlarının sentezi ve salgılanması (steroidogenez), dişi üreme hücresi oositin üretimi ve atılması (oogenez) olmak üzere temel iki görevi vardır (30,31). Overler tarafından salgılanan iki temel steroid hormon, östrojen ve progesterondur (32). Hipotalamusta sentezlenen gonadotropin serbestleştirici hormona (GnRH) yanıt olarak ön hipofiz hormonlarından folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH) salgılanır (33). Ön hipofiz bezinden salgılanan bu iki hormona yanıt olarak overden östrojen ve progesteron salgılanır. Bu

hormonlar, memelilerde üreme hücrelerinin gelişip olgunlaşmalarını, ovülasyonu, gebeliğin başlamasını ve devamını sağlarken sekonder seks karakterlerinin ve meme bezlerinin gelişme ve büyümelerini de kontrol ederler (34-36).

FSH, foliküllerin gelişimini ve foliküler hücrelerden östrojen salgılanmasını uyarır (37,38). LH, sekonder oositte 1. mayotik bölünmenin tamamlanmasını uyararak ovulasyonu tetikler ve ovulasyon sonrasında kalan folikülü korpus luteuma dönüştürerek progesteron salınmasını sağlar (37,38). Vücutta sentezlenen östrojenlerden östradiol granüloza hücreleri tarafından üretilir ve kadında doğurganlık döneminde en fazla bulunan ve en etkin hormondur (39,40).

Overde teka hücreleri tarafından sentezlenen progesteron, menstrual siklusun ikinci yarısında endometriyumda sekresyonla ilgili değişimleri başlatarak uterusu dölleniş yumurtanın implantasyonuna uygun hale getirir. Ayrıca memedeki salgı bezlerinin gelişimlerini sağlar (41).

Foliküllerin puberteden başlayarak menapoza kadar olan dönemdeki büyüme, atreziye uğrama gibi fizyolojik sürecine folikülogenez denir (42). Overde somatik ve primordiyal germ hücrelerinin etkileşmesi ile primordiyal foliküller ortaya çıkar. Bu süreç, fetal overlerde 16. haftadan sonra görülür. Folikül içindeki birincil oositler de yumurta havuzunu meydana getirir. Bunların en fazla sayıya ulaştıkları dönem gebeliğin 20. haftasıdır (43). Bu haftadan başlayarak menopoza kadar olan süreçte atreziye uğrarlar (44). Puberte ile birlikte folikülogenez başlar ve üç bölümden oluşur. Bunlar; başlangıç (initial), döngüsel (siklik) ve baskın (dominant) folikül dönemleridir (45,46). Bu folikülogenez süreci her folikül için yaklaşık 84 gün sürer. Folikül içindeki birincil oosit bu dönemde 1. mayozun profaz 1 evresinden 2. mayozun metafaz 2 evresine kadar ilerler (47,48). Oosit etrafındaki folikül hücreleri ise gonadotropin bağımsız ve gonadotropin bağımlı olmak üzere iki ana süreçten geçer.

Gonadotropinden bağımsız dönem yaklaşık 84 günlük periodun son 14 gününe kadar devam eder (49,50). Bu dönemde ovaryan rezervin kapasitesine, yaşa ve çevresel faktörlere bağımlı olarak her bir overde 3-11 adet folikül seçilir. Bu foliküller FSH'nin tonik salınımının etkisi ile geç birincil folikül evresine kadar gelişir (51,52).

Gonadotropin bağımlı dönemde FSH ve LH birlikte folikülü etkileyerek siklik

folikülogenez dönemine geçişi sağlarlar. Ovülasyondan önceki son 7 günde seçilen foliküllerden bir tanesi dominant hale gelir. Ovülasyondan önceki son 24 saatte ise LH pikiyle bu foliküldeki oosit ovülasyonla birlikte atılır (49-52).

Ovülasyon, yaklaşık 28 günlük menstrüel siklusun ortalama 10-17. günleri arasında olur ve her siklusta overden bir oosit atılır (53). Her menstrual siklusta ovülasyon gerçekleşmeyebilir ya da birden fazla oosit atılabilir. LH olgun folikülün hızlıca büyümesine ve duvarının zayıflamasına sebep olarak ovülasyonu tetikler (54,55).

Ovülasyondan hemen önce folikül hücreleri sahip oldukları FSH reseptörlerinin yanı sıra LH reseptörleri de edinir (56). Dominant folikülün (preovülatuar) korpus luteuma dönüşmesi için granüloza hücrelerindeki LH reseptörlerinin gelişmesi gerekmektedir. LH reseptörleri, teka hücreleri üzerinde bulunmakta olup başlangıçta granüloza hücrelerinde bulunmazken folikül büyüdükçe, FSH granüloza hücreleri üzerinde LH reseptörlerinin oluşumunu uyarır. LH tarafından teka interna hücrelerinde androjen sentez ve salınımı artarak oluşan androjenler östrojen öncülü olarak granüloza hücrelerine yollar. Granüloza hücreleri FSH etkisiyle iç tekadan gelen androjenleri östrojene çevirirler (57,58). Östrojenin artışıyla granüloza hücrelerinin sayısı artar ve folikül büyümeye devam eder. Ovülasyondan 24 saat önce olan LH piki ile granüloza hücreleri üzerindeki LH reseptörleri duyarsızlaşır ve LH cevabı sonucu sentezlenen östrojen üretimi durur. Ovülasyondan sonra ise overde kalan folikülün granüloza ve iç teka hücreleri, LH tarafından uyarılarak luteinizasyona uğrarlar ve hormon salgılayan geçici, büyük bir endokrin bez olan korpus luteumu oluştururlar. Korpus luteum, progesteron ve az miktarda östrojen salgılamaktadır (59,60).

Korpus luteum varlığını fertilizasyondan sonra 8. haftaya kadar sürdürerek, bundan sonra görevini plasentaya devreder. Bu 8 haftalık dönemde korpus luteumda yeni damarsal oluşumlar ve luteinizasyon devam ederek gebeliğin oluşumu için gerekli steroid ve hormonları salgılamaya devam eder. Bu süreçte korpus luteumun gerilemesi sinsityotrofoblastlardan salınan human koryonik gonadotropin (hCG) ile engellenir (61). Gebelik oluşmamışsa korpus luteum giderek geriler, progesteron sentezi durur ve korpus albicans veya beyaz cisim olarak adlandırılan beyaz renkli fibrotik dokuya dönüşür. Korpus luteumun gerilemesine luteoliz denir. Korpus albicans giderek küçülür ve bir nedbe dokusu olarak kalır (62,63).

2.2. İskemi ve Reperfüzyon

2.2.1. İskemi

İskemi, organ veya dokulara ait damarların pıhtı veya mekanik etkenlerle tıkanması sonucunda dokunun oksijensiz kalması ve beslenememesi olarak tanımlanır (4,5). İskemi sonrası reperfüzyon paradoksal olarak organ veya doku hasarını arttırmakta ve bu olay iskemi-reperfüzyon (İR) hasarı olarak adlandırılmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında iskemideki hipoperfüzyona ek olarak inflamatuvar yanıt ve birçok organda disfonksiyon sendromları ortaya çıkmaktadır (2,4,5).

İskemiyle oluşan hipoksi sonucunda hücrelerde adenosin trifosfat (ATP) sentezi durur ancak mevcut ATP kullanılmaya devam eder ve adenozeine parçalanır (2). Adenosin hücre dışına difüze olur, inozin ve hipoksantin meydana gelir. Hipoksanteinde ksantin dehidrogenaz enzimi aktifleşmez, dolayısıyla hipoksantin ksantin oksidaz (XO) ile metabolize olur ve ksantin oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda serbest oksijen radikalleri açığa çıkar (64-66). Ayrıca ATP sentezinin bozulması ile sodyum-potasyum (Na-K) pompaları durur. Hücrenin elektrolit dengesi bozulur ve hücre içine kalsiyum (Ca) iyonu akışı başlar (67-70). Bu metabolik olaylar sonucu iskeminin erken safhasında dokuda konjesyon, kanama ve ödem görülür (71).

2.2.2. Reperfüzyon

İskemi sonrası dokunun iskemiye önlemek ve kan akımını sağlamak amacıyla geliştirdiği mekanizmalar sonucu dokudaki oksijen miktarının artmasına reperfüzyon denir (3,4). Reperfüzyon sonucunda dokuda serbest oksijen radikalleri artar, endotel hücreleri hasarlanır, kompleman sistemi aktifleşir ve polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) göçü başlar. Reperfüzyon sırasında gözlenen bu dört faktör dokuda iskemi hasarından daha fazla bir hasara yol açar (72-74).

Reperfüzyon hasarında rol oynayan hücrenel ve humoral olaylar karmaşık ve henüz net olarak aydınlatılmamış fizyopatolojik bir süreçtir (4,5,70). Bu süreçte nitrik oksit sentaz düzeylerinin ve serbest oksijen radikallerinin artması, lipid peroksidasyonunun gerçekleşmesi (75), endoteldeki selektin ekspresyonunun görülmesi (76), lökositlerdeki integrinlerin olaya karışması (77), Na-K iyon pompasının bozulması, hücre içi Ca iyonunun artışı, protein kinaz C'nin aktivasyonu,

fosfotidil inositol 3 kinaz-protein kinaz B ve mitojen aktive edici protein kinaz yollarının çalışması gibi henüz aydınlatılmamış çeşitli mekanizmalar sonucu hücrede nekroz veya programlı hücre ölümü şeklinde sonuçlanan patolojik durumlar ortaya çıkar (78,79).

Genel olarak kabul gören, reperfüzyon hasarının, serbest radikallerin aktivasyonuna bağlı olduğudur. Oksidasyona neden olan serbest radikaller temel olarak oksijen kaynaklı metabolitler (süperoksit anyonları O_2^- , hidrojen peroksit H_2O_2 , hidroksil radikali OH^-), hipoklorik asit, kloraminler, azot dioksit, ozon ve lipid peroksitlerdir (80). Bunlar organizmalar tarafından hücre içinde mitokondriyal solunum zincirinde, ya da hücre dışında, özellikle de fagositler tarafından oluşturulur.

İskemi aerobik solunum mekanizmasındaki oksijen metabolitlerinin birikimine yol açar. Reperfüzyon ile bu metabolitler ve bunların yol açtığı reaksiyonlar oksijen radikallerinde hızlı ve ani artışa yol açar. Oksijen radikallerindeki artış hücre içinde kontrolsüz oksidasyona yol açacak şekilde hücrenin savunma mekanizmalarını baskılar ve oksijen radikallerine ek olarak inflamatuvar sitokin salınımını da tetikleyerek hasarın boyutunu artırır (81).

Reperfüzyon hasarının azaltılmasının iki yolu vardır. Birincisi direkt olarak hidrojen peroksidi ve serbest radikal oluşumunu engellemektir. Allopurinol, ksantin oksidaz ile süperoksit oluşumunu inhibe eder (82). Sonuçlar henüz genel olarak başarılı kabul edilmese de, Allopurinol'ün pekçok hayvan modelinde ve klinik çalışmada infarktı azalttığı gösterilmiştir (83,84).

Bir diğer yol serbest radikallerin nötralizasyonu için doku kapasitesini arttırmaktır. O_2^- 'yi detoksifiye eden, rekombinant süperoksit dismutaz (SOD) enziminin, bazı hayvan modellerinde reperfüzyon hasarında etkili olduğu bildirilmişse de (80) etkisiz olarak değerlendiren çalışmalar da bulunmaktadır (85,86). Klinik çalışmalar çok değişkenlik göstermektedir. Bir çalışmada transplante böbreklere reperfüzyonundan 1 saat önce infüzyonla rekombinant SOD uygulanmış, fakat postoperatif renal fonksiyonlarda herhangi bir olumlu değişiklik izlenmemiştir (87). Bir başka çalışmada ise, rekombinant SOD renal transplantasyon hastalarına reperfüzyon öncesi tek bir hızlı infüzyonla verilmiş akut rejeksiyon insidansı büyük oranda azalmış ve dokunun uzun dönem yaşayabilirliği artırılmıştır. Bu da serbest

radikal hasarında azalma ve sonuç olarak immün sistemin greft tarafından daha az miktarda uyarımıyla sonuçlanmıştır (88). Akut myokard infarktüsü nedeniyle anjioplasti yapılan 120 hastaya rekombinant SOD verilerek yapılan bir başka çalışmada ise kardiyak fonksiyonlar üzerine enzimin olumlu bir etkisi gösterilememiştir (89).

Reperfüzyon hasarında bir diğer teori nötrofil aktivasyonudur. Nötrofiller bakterisidal etki için serbest radikallerin yıkıcı potansiyellerini kullanırlar (90). Bir çalışmada cerrahi sırasında geçici aortik oklüzyon geçiren hastaların bacaklarında iskemi-reperfüzyonun etkileri araştırılmış, çalışma sonucunda iskemi-reperfüzyon sırasında çoğu nötrofil olmak üzere yoğun granülosit infiltrasyonu ve diğer dolaşan nötrofillerde artış izlenmiştir (90). Kas fibrillerindeki morfolojik hasar, reperfüzyonun hemen ardından gözlenmiştir. Başka bir çalışmada koroner arter bypass grefti sırasında nötrofillerin myokardiuma girdiği ve reperfüzyon sırasında degranüle oldukları gösterilmiştir (91). Bir diğer çalışmada dolaşımdaki sitokin üretim kinetiğini araştırmak için iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulmuş, dolaşımdaki IL-1, TNF - α ve IL - 6 seviyelerinin reperfüzyonla hızlı bir şekilde arttığı TNF - α ve IL - 1 artışının reperfüzyondan 2 saat sonra pik yaptığı ve IL - 6'nın diğer 4 saatlik dönemde artmaya devam ettiği gösterilmiştir (92). Dahası, bacak kasları ve akciğerdeki hasarın miktarının, IL - 1 ve TNF antikorlarıyla, IL-1 reseptör antagonistiyle ve suda eriyen TNF reseptörüyle büyük oranda azaldığı izlenmiştir.

Başka bir diğer teori, iskemik dokuya nötrofil infiltrasyonunu engellemektir (93). Adezyon molekülleri nötrofillerin ekstrasvazasyonu için gereklidir (94). Birkaç çalışmada iskemi-reperfüzyon sırasında bu moleküllerin arttığı gösterilmiş ve sonuç olarak ICAM-1 (intraselüler adezyon molekülü) ve P-selektin adezyon molekülü antikorları, hayvanlarda potansiyel tedavi olarak uygulanmıştır (95).

Reperfüzyon hasarının engellenmesine yönelik henüz yeterli tedavi seçenekleri mevcut değildir. İnflamatuar sitokinlerin keşfi ve son zamanlarda ortaya konulan nötrofil üzerine olan etkileri, yeni araştırma alanlarını gündeme getirmektedir. Belki de, uzun dönemde reperfüzyonun hızlı sağlanması, antioksidanların ve nötrofil inhibitörlerinin kullanımı, iskemi-reperfüzyon hasarının sonuçlarını büyük ölçüde azaltacaktır.

2.3. Serbest Radikaller

Dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına radikal denilir (96). Kimyasal tepkimeler hemen daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar Pauli eksklüzyon ilkesine göre her bir orbitalde spinleri zıt yönde iki elektron bulunması gerekir (97). Pozitif yüklü, negatif yüklü veya yüksüz olabilirler. Radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek bunları redükte veya okside edip yeni radikal oluşturabilirler (98).

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Moleküler oksijene tek elektron transferi ile organizmada oksidasyon reaksiyonları oluşur. Moleküler oksijen yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturma eğilimindedir (99).

Oksijene bir elektron transferiyle süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), iki elektron transferi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelir (100). Güçlü bir oksidan madde olan hidrojen peroksit ikiden fazla elektron alabilir ve oldukça sitotoksik ürünlere dönüşebilir (101). Ferro demir (Fe^{+2}) üçüncü elektronunu hidrojen peroksit'e transfer ederse O-O bağı kırılarak, su ve hidroksil radikali meydana gelir. OH^{\bullet} radikali en güçlü serbest radikaldir (102). Oluşan reaktif ara ürünlerin hepsi radikal değildir. Reaktif oksijen ürünleri bu özellikleri ile iki ana başlık altında incelenmektedir (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Ürünleri (100,102)

RADİKALLER		RADİKAL OLMAYANLAR	
O_2^{\bullet}	Süperoksit	H_2O_2	Hidrojen peroksit
OH^{\bullet}	Hidroksil	1O_2	Singlet oksijen
HO_2^{\bullet}	Hidroperoksil	HOCl	Hipokloröz asit
RO^{\bullet}	Alkoksil	ONOO	Peroksinitrit radikali
ROO^{\bullet}	Peroksil	O_3	Ozon
NO^{\bullet}	Nitrik oksit	LOOH	Lipid hidroperoksit
NO_2^{\bullet}	Azot dioksit		

2.3.1.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) hücrede redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu sonucu oluşur. Bu reaksiyonların en önemlisi Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonucunda O_2 ve H_2O_2 demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO^{\bullet} radikallerine dönüşür. Üretilen OH^{\bullet} radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla etkileşerek ciddi hasarlara yol açabilirler (103).

Oldukça kısa bir yarı ömre sahip olan süperoksit radikalleri dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve oksijen oluştururlar. Spontan olarak meydana gelen dismutasyon reaksiyonu süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenir (103).

Süperoksit radikalının nitrik oksit (NO^{\bullet}) ile birleşmesi ile bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO_2^{\bullet}), hidroksil radikali (OH^{\bullet}), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere çevrilebilir. Peroksinitrit, nitrik oksitin (NO^{\bullet}) zararlı etkilerinden sorumludur (100-102).

2.3.1.2. Nitrik Oksit (NO)

NO, bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesi ile oluşur ve bu nedenle radikal tanımına uymaktadır (104). Etkilerini hem grupları, sülfhidril grupları, demir ve çinko gibi moleküllerde gösterir (105). NO endotel hücresi, sinir hücresi, makrofaj, trombosit ve birçok hücrede L-Argininden nitrikoksit sentetazlar (NOS) olarak adlandırılan enzimler tarafından sentezlenir (106).

2.3.2. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

Serbest oksijen radikallerinin, birçok organ ve sistemleri etkileyen pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı ileri sürülmektedir (107). Oksijen radikalleri fazla miktarda olmadıkça patolojik etkileri başlamaz. Enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (pO_2), ozon (O_3) ve azot dioksit (NO_2^{\bullet}), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi uyarıların etkisi ile reaktif oksijen ürünlerinin arttığı bilinmektedir. Serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi bütün önemli bileşikleri ile tepkimeye girip hücrede fonksiyon bozukluğu yaparlar (102).

2.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Hücre membranında bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve poliansatüre yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksit, alkol, aldehid, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi zararlı ürünlere dönüşmesi lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır (108).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona erer. Oluşan bileşiklerden biri olan malondialdehid (MDA), membranlarda çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olarak esneklik kaybı, iyon transportu, enzim aktivitesinde bozukluklar ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi patolojilere yol açar. Son olarak hücre zarının akışkanlığını ve permeabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına neden olurlar. Bu da hidrolitik enzimlerin salınması ve intrasellüler sindirimle sonuçlanır (98,100,102)

Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan ürünlerden en önemlileri; malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE)'dir (109,110). MDA; linolenik asit ve araşidonik asit gibi üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan bir üründür. Tiyobarbitürik asit ile ölçülebilir (109,111). Yüksek reaktivitesi ile MDA, hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki ederek geri dönüşümsüz hasarlara yol açmaktadır. İlâveten membranın akıcılığının azalmasına, fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktivitesine ve Ca^{+2} iyonlarına geçirgenliğin artmasına neden olur. MDA ve lipid peroksitleri, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranda deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi özellikler değişir. Ayrıca DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girmesi MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (109).

2.4. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücutta antioksidan savunma sistemleri veya antioksidanlar denilen savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bütün hücreler, güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı korunurlar. Öncelikle savunma sisteminde enzim sistemi ve serbest radikal tutucular etkili olmaktadır. Serbest radikaller nötralize edilmezlerse organizmada ciddi hasarlara neden olabilirler (102).

2.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Oksijen kullanan tüm organizmalarda yaygın olarak bulunan SOD, bir metalloproteinaz enzimidir. Süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. SOD, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur. Ayrıca bakterilerin fagosite edilerek temizlenmesinde rol alır. Hücreyi ve DNA'yı radyasyonun iyonizan etkilerinden korur (102,112-114)

2.4.2. Katalaz (CAT)

Yapısında 4 hem grubu içeren katalaz, tetramerik bir enzimidir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve muköz membranlarda bol miktarda bulunur. H₂O₂ üretiminin düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle, H₂O₂ üretiminin yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksiti, oksijen ve suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (115).

2.5. Overde İskemi-Reperfüzyon

Overde iskemî-reperfüzyona yol açan en sık görülen patolojik durum over torsiyonudur (3). Ovaryan torsiyon hasarına zamanında müdahale edilirse over doku hasarı önlenerek reproduktivite korunabilir (4). Over torsiyonuna yol açan nedenler ovaryan kitleler, ovaryan kistler ve yardımcı üreme tekniklerinde overlerin gonadotropinler tarafından aşırı uyarılması olarak sıralanabilir (6-8). Daha nadir olmakla birlikte ovaryan arterin geçici veya kalıcı trombozları da iskemî-reperfüzyon (İR) hasarına yol açabilmektedir (9). Overler iki farklı damar (ovaryan arter ve uterin arterin ovaryan dalı) tarafından beslendikleri için bu damarlanma İR hasarını azaltıcı yönde rol oynamaktadır. Çünkü overlerin kanlanması kısmen de olsa uterin arterin ovaryan dalı tarafından devam eder (10).

2.5.1. Overde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Kullanılan Ajanlar ve Etkinlik Düzeyleri

Overde iskemî-reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik olarak daha önce birçok çalışma yapılmış olup genel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Literatürde, overde iskemî-reperfüzyon hasarında etkinliklerinin araştırılmasına

yönelik birçok ajan mevcut olup kısaca bazılarına değinmek gerekirse; Bir çalışmada 5 ve 10 mg'lik dozlarda Atorvastatin kullanılmış olup çalışma sonucunda Atorvastatin'in oksidan enzimlerin yükselişini tersine çevirdiği ve antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı, ayrıca iskemiyle indüklenmiş doku hasarının geri çevrilmesinde etkin olduğu gösterilmiştir (116). Başka bir çalışmada reperfüzyon hasarında 10 mg Melatonin'in etkinliği araştırılmış, çalışma sonucunda Melatonin'in oksidan enzim seviyelerini düşürdüğü ve antioksidan enzim seviyelerinin yükselttiği, histopatolojik olarak ise PMNL infiltrasyonu ve vasküler konjesyonu azaltarak overde reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (117). Eritropoietin'in kullanıldığı bir diğer çalışmada bazı antioksidan belirteçlerin (CAT, SOD) seviyelerinin reperfüzyon grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunduğu ve histopatolojik olarak ovaryan doku hasarının daha az olduğu dolayısıyla Eritropoietin'in ovaryan reperfüzyon hasarını engellemede etkili bulunduğu belirtilmiştir (118). Tadalafil'in kullanıldığı bir diğer çalışmada oksidasyon ürünü olan MDA seviyelerinin reperfüzyon grubuna göre daha az yükseldiği, antioksidan enzimlerden SOD ve CAT' in daha yüksek bulunduğu ve dolayısıyla Tadalafil'in reperfüzyon hasarında etkili olduğu belirtilmiştir (119). 10 ve 20 mg dozlarında Montelukast'ın kullanıldığı bir diğer çalışmada reperfüzyonla indüklenmiş oksidatif ürünlerden lipid peroksidaz (LPO) ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin normale döndüğü, antioksidan enzim (SOD ve GSH) aktivitelerinin yükseldiği ve dolayısıyla Montelukast'ın overde reperfüzyon hasarını önlemede etkili olduğu belirtilmiştir (120). Kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in kullanıldığı bir diğer çalışmada oksidasyon ürünlerinin (MDA ve XO) seviyelerinin CAPE uygulamasıyla reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, antioksidan (GSH) seviyelerinin arttığı, histopatolojik olarak da PMNL infiltrasyonu ve vasküler konjesyonun parsiyel olarak geri çevrildiği ve sonuç olarak CAPE'nin ovaryan dokuda reperfüzyon hasarını engellemede kısmen etkili olduğu belirtilmiştir (121). Dimetilsülfoksit (DMSO), Alfa-lipoik asit, L-Carnitin ve N-Asetilsistein de overde iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliği araştırılan ve ovaryan dokuda reperfüzyon hasarını engellemede etkin oldukları gösterilen diğer farmakolojik ajanlardır (122-124).

2.6. Curcumin

Geleneksel tedavi amacıyla günümüzde kullanılan, bitkisel kökenli bir bileşik olan ve geçmişte sonsuz hayat kaynağı olarak adlandırılan Curcumin'in (Turmeric) tarihi 5000 yıl öncesine kadar dayanır. İlk olarak Marco Polo'nun 1280 yılında Hindistan ve Çin'e yaptığı seyahatler sırasında yazdığı notlarda adı geçen Curcumin, Avrupa'ya 13. yy.'da Arap seyyahlar tarafından getirilen bir baharattır (125). Curcuma longa bitkisinin, kök ve sap kısımlarının kurutulup toz haline dönüştürülmesiyle elde edilen, Hindistan'da Haldi olarak adlandırılan bu bitki, Curcumin bileşiğinin temel kaynaklarından (126). Curcumin, yüzyıllar boyunca hiçbir yan etkisi bilinmeksizin hem gıda maddesi hem de çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmıştır (127).

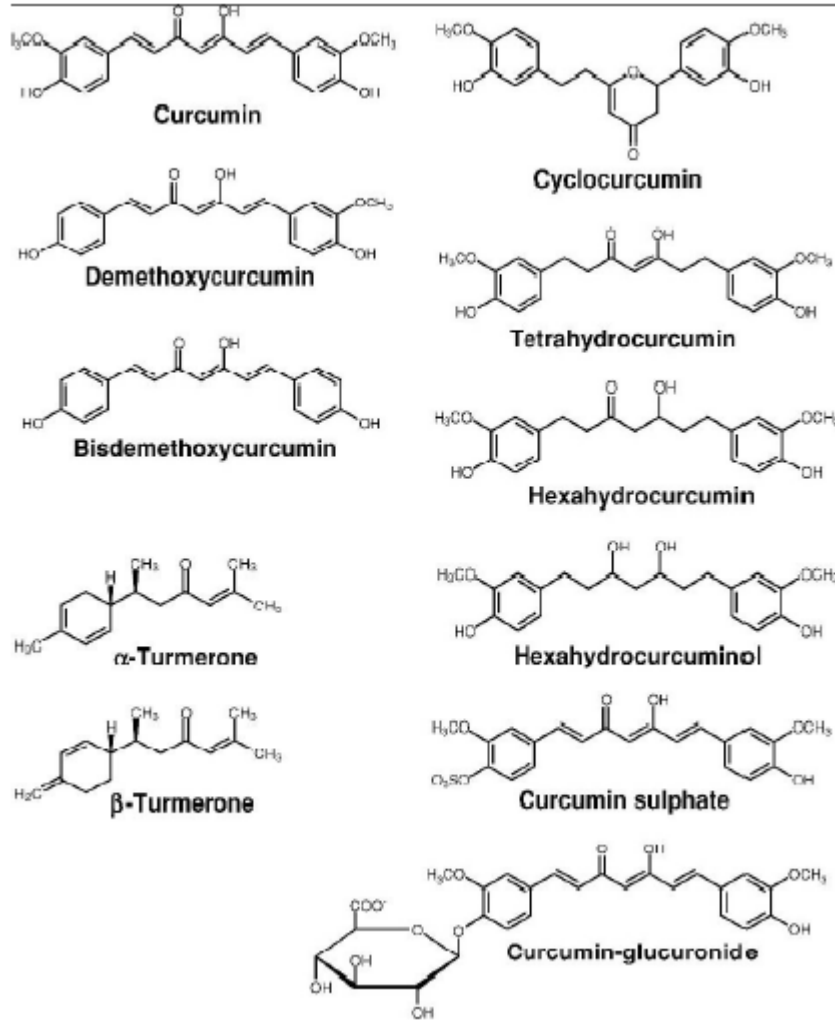
Curcumin'in antioksidan, gıda koruyucu, gıdalara tat ve renk verici özellikleri tam olarak bilinmesine rağmen, sağlık açısından olumlu etkileri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (127). Tarih boyunca; sarılık tedavisi, iştah kesici ve sindirim düzenleyicisi olarak kullanılmış, daha sonra anti-inflamatuar olarak ve ayrıca, kolit, diş ağrısı, göğüs ağrısı, menstrüel bozukluklar, karaciğer, mide hastalıkları ve yara iyileşmesinde kullanılmıştır (128).

2.6.1. Kaynaklar ve Kimyasal Yapı

Curcuma longa isimli bitkiden ekstrakte edilen Curcumin; altın sarısı renğinde, acı tatta, suda çözünmeyen, çeşitli organik çözücüler (Etanol, Dimetilsülfoksit, Aseton) ve yağda iyi çözünen, asitli bileşiklerle etkileşime girdiğinde koyu kırmızı renge dönüşen fenolik yapıda bir bileşiktir (129, 130).

İlk olarak Vogel ve Pellatier tarafından 1815 yılında C₂₁H₂₀O₆ olarak formüle edilen Curcumin, daha sonra 1910 yılında, Lampe ve arkadaşları tarafından diferuloylmethane olarak adlandırılmaya başlamış ve Lampe ve Milobedzka tarafından 1913 yılında bileşik ilk olarak üretilmiştir (128,129,131,132) Şekil 2.6.' da kendisinin ve analoglarının kimyasal formülü verilen Curcumin'in kimyasal adı IUPAC tarafından (1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxy-phenyl) hepta-1,6-diene-3, 5-dione) olarak belirlenmiştir (129).

Şekil 2.6. Curcumin ve Analog bileşiklerin kimyasal yapısı (Kaynak 125'ten alınmıştır)



2.6.2. Farmakokinetik Özellikleri

Curcumin'in farmakokinetik özellikleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, başlangıçta farklı bulgular elde edilse de son yıllarda, gelişen teknoloji ile farmakokinetik özellikleri tam olarak ortaya konulmuştur (133,134). Bileşiği H⁺ iyonu ile işaretleme yöntemi sayesinde, diyetle alınan Curcumin'in büyük bir kısmının gaita yolu ile atıldığı ve vücuttan uzaklaştırılan kısmın, üçte birinin hiçbir değişikliğe uğramadığı belirlenmiştir (135).

Damar ve periton içi uygulamalarla vücuda verilen Curcumin'in ise uygulamadan hemen sonra hızlı bir şekilde safra kanallarına geçtiği ve burada metabolize edilerek yine gaita yolu ile atıldığı tespit edilmiştir (136). Ayrıca

Curcumin'in, vücutta glukronikasit asit (glukronidasyon) ve sülfatla (sülfasyon) birleştirilerek metabolize edildiği ve sonuçta, trans-6-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-4-diokso-5-hexenal başta olmak üzere, vanillin, ferulik asit ve ferulol metan bileşiklerine dönüştürüldüğü tespit edilmiştir (137-139). Böylece Curcumin'in, glukronidasyon ve sülfasyon yolu ile metabolize edilen, büyük oranda gaita yolu ile atılan, biyoyararlanımı düşük ve yarı ömrü oldukça kısa olan bir bileşik olduğu sonucuna varılmıştır (139).

2.6.3. Farmakolojik Kullanımı

Yapılan çalışmalar sonucunda Curcumin'in pek çok transkripsiyon faktörünü, sitokinleri, büyüme faktörlerini ve çeşitli enzimlerin salınım veya baskılanmasını düzenlediği tespit edilmiş, güçlü antioksidan etkiye sahip olan Curcumin'in, bu etkiyi yapısında bulunan fenolik ve metilonik grupların serbest radikallerle etkileşmesi ile yaptığı saptanmıştır (140).

Son yarım yüzyıl boyunca, Curcumin'in farmakolojik kullanım alanlarının tespiti amacıyla, pek çok deneysel araştırma yapılmasına karşın; bu bileşiğin ilaç olarak kullanılabilmesi için gerekli sistematik inceleme henüz gerçekleştirilememiştir. Yapılan bazı araştırmalarda, inflamatuvar süreç ile seyreden pankreatit, artrit, enfeksiyöz bağırsak hastalıkları, kolit, gastrit gibi hastalıkların erken dönemlerinde Curcumin ile tedavinin başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (141-147). Ayrıca Curcumin'in, skleroderma, psöriazis, multiple skleroz, diyabet gibi çeşitli otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ve olumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir (148-151). Curcumin'in, bu hastalıklara karşı anti-inflamatuvar özelliği ile etki gösterdiği belirlenmiş, kansere karşı gösterdiği olumlu etkilerin mekanizması ise henüz tam olarak ortaya konulamamıştır (125). Bununla birlikte bu etkisinin anti-inflamatuvar, anti-oksidan, immünmodulator özelliklerinin bir sonucu olduğu ve anılan etkinin de aynı mekanizmalar aracılığıyla oluştuğu düşünülmektedir (152).

2.6.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kullanımı

Curcumin iskemi-reperfüzyon hasarında çeşitli çalışmalarda kullanılmış ve güçlü antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir. Literatürde Curcumin'in testis,

beyin, hipokampus, karaciğer, böbrek, myokard ve ince barsak iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliğini araştıran çalışmalar mevcut olup Curcumin'in bu dokularda antioksidan enzim seviyelerini yükseltip oksidan ürünlerin oluşumunu azalttığı ve dolayısıyla iskemi-reperfüzyon hasarını belirgin olarak azalttığına yönelik anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Si-Ming Wei ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ratlarda oluşturulan deneysel testis torsiyonunda iskemi-reperfüzyon hasarında Curcumin'in koruyucu etkinlikleri araştırılmıştır. Curcumin verilen ratlarda oksidan enzimlerden Xantin Oksidaz (XO) ve oksidasyon ürünü MDA seviyelerinin azaldığı bununla birlikte spermatogenezisin arttığı rapor edilmiştir. Curcumin'in rat testisinde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur (153).

Başka bir çalışmada Curcumin'in fokal serebral iskemide, iskemi-reperfüzyon hasarında etkinlikleri araştırılmıştır. Reperfüzyon grubuyla karşılaştırıldığında Curcumin'in nörolojik skorda artış sağladığı, serebral infarkt volümünü azaltmakla beraber oksidan ürünlerden MDA seviyesini azalttığı bulunmuştur (154).

Bir diğer çalışmada bilateral renal iskemi oluşturularak deneysel akut böbrek yetmezliği tablosu oluşturulan ratlarda Curcumin'in reperfüzyon hasarına karşı etkinliği araştırılmıştır. Reperfüzyon grubuna göre kıyaslandığında böbrek yetmezliği tablosunun gerilediği, üre ve sistatin C seviyelerinin arttığı, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerindeki azalmanın gerilediği gösterilmiştir. Histopatolojik olarak da Curcumin verilen ratlarda normal morfolojide renal dokular izlendiği tespit edilmiştir (155).

Başka bir çalışmada karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında Curcumin'in etkinliği araştırılmıştır. Curcumin grubunda antioksidan CAT ve SOD'un arttığı, oksidasyon ürünlerinden MDA ve NO'nun azaldığı ve apoptozisin daha az izlendiği bulunmuştur (156).

Bir diğer çalışmada rat kalbinde deneysel myokard infarktüsü oluşmak amacıyla LAD (left anterior descending) koroner arter oklüzyonu oluşturularak Curcumin'in rat myokardiyumunda iskemi-reperfüzyon hasarında koruyuculuğu araştırılmıştır. Curcumin verilen grupta iskemi oranının anlamlı olarak azaldığı, hemodinamik parametrelerin düzeldiği, lipid peroksidasyonunun daha az izlendiği, histopatolojik bulguların da bu sonuçları desteklediği ve Curcumin'in

kardiyoprotektif etkinliği olduğu sonucuna ulaşılmıştır (157).

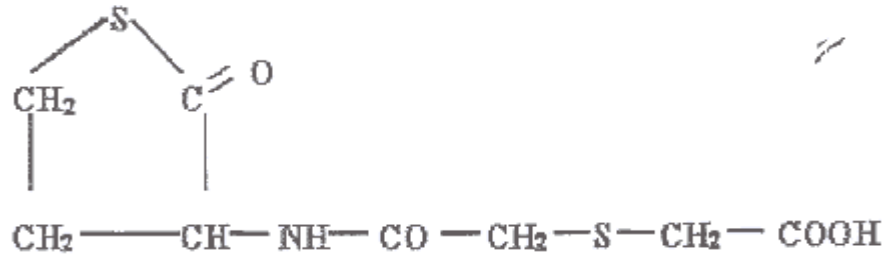
Başka bir çalışmada rat n beyinde deneysel olarak iskemi oluşturulup Curcumin'in iskemi-reperfüzyon sonrası nöronal hasara karşı koruyuculuğu araştırılmıştır. Curcumin'in oksidasyon ürünü MDA'yı azalttığı, antioksidan SOD, GSH ve CAT'ı arttırdığı ve sonuç olarak rat hipokampüsünde erken ve geç dönemde iskemiyle indüklenmiş nöronal hasara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (158).

2.7. Erdosteine

Erdosteine mukolitik ve ekseptoran özelliğinden dolayı klinikte yaygın olarak kullanılan farmakolojik bir ajandır (159). Mukolitik tipte mukus modifiye edici orijinal maddelerden biridir. Bronşiyal mukozaların sekresyonları üzerine sulandırıcı aktivitesi esas olarak absorpsiyondan sonra transformasyona uğrayarak aktif metabolitlerine dönüşmesine bağlıdır. Mukus elastikliğinde ve vizkozitesinde azalma oluşturarak ekseptoran etki gösterir. Mukosiliyer temizlenmeyi arttırarak ekseptorasyonu daha rahat hale getirir (160). Serbest radikal süpürücü aktivitesi nedeniyle antioksidan özelliklere sahiptir (161). Bronşiyal inflamasyonun önemli derecede azalmasına yol açar. Hem sağlıklı bireylerde hem de kronik bronşitli hastalarda sigara içimiyle inaktive olan alfa-1-antitripsin (AAT)'nin fonksiyonunu koruyucu etki gösterir (162). Yine Erdosteine ve metabolitleri PMNL'lerin tütün ile indüklenen kemotaktik aktivitelerindeki azalmaya karşı koruyucu etki gösterir (163).

2.7.1. Kaynaklar ve Kimyasal Yapı

Erdosteine doğal bir aminoasit olan homosisteinin bir formu olup bu aminoasitin N-tiolaktonik şeklidir. Kimyasal adı N-karboksimetiltioasetil homosisteine tiolaktondur. Kimyasal kapalı formülü $C_8H_{11}O_4N_1S_2$ 'dir (160). Kimyasal yapısı aşağıda görüldüğu gibidir. Beyaz mikro kristalli acı ve renksiz toz görünümlüdür.



2.7.2. Farmakokinetik Özellikleri

Erdosteine oral olarak alındıktan sonra hızla absorbe olur. Oral tek bir dozdan sonraki Tmax.: 1.2 saattir. Alındıktan sonra hızla en az üç adet aktif metabolite dönüştürülür: N-tioglikolil homosistein (Metabolit I), N-asetilhomosistein (Metabolit II) ve homosistein (Metabolit III). Bunların her birinin ortak özelliği serbest tiyol gruplarını içermesidir (161). Yarılanma ömrü 1.4 saattir. Ancak metabolitlerin tek tek yarılanma ömürleri birbirinden farklıdır. Örneğin Met. I ve Met. II'nin yarılanma ömrü 1.2 ve 2.7 saattir (163). Bu üç metabolitten hiçbirisi idrarda ve feçeste bulunmaz. Kullanıldığında idrardaki inorganik sülfatların miktarı artar. Besinlerle birlikte alınması Erdosteine'in ve metabolitlerinin pikini hafifçe geciktirir. Fakat bu hiçbir zaman maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmasını engellemez.

2.7.3. Farmakolojik Kullanımı

Mukus Modifiye Edici Etki: Akut ve kronik bronkopulmoner hastalıklarda (akut ve kronik bronşitin alevli veya stabil fazları, bronşektaziler, hipersekretuar bronşiyal astma), mukus ve mukopürülan içeriğin sulandırılması veya ekspektorasyonun artırılarak ventilasyonun sağlanması (165).

Antioksidan Etki: Erdosteine ancak karaciğer metabolizması ile serbestleştirilebilen iki adet bağlı sülfhidril (-SH) grubu içerir. Erdosteine'in temizleyici ve antioksidan mekanizmasında bu iki sülfhidril grubu rol oynar (2, 3). Deneysel ve klinik çalışmalar Erdosteine'in antioksidan olarak serbest radikal temizleyici fonksiyonlarını göstermiştir (161,163)

Diğer yandan Erdosteine sigaranın gaz fazına maruziyetten sonra meydana gelen AAT (alfa-1-antitripsin)'nin hasarına karşı koruyucu etki gösterir. Alkali hidrozisini takiben Erdosteine, glutatyon ve askorbik asit gibi indirgeyici ajanlara

benzer aktivite sergilemiştir. Erdosteine antioksidan etkisini temel olarak taşıdığı –SH grubu nedeniyle gösterir. Ayrıca Erdosteine'in bu etkisini; çeşitli dokularda PMNL infiltrasyonunu engelleyerek, oksidatif patlamayı baskılayarak, akciğerde alfa-1-antitripsin düzeylerini arttırarak, kendisinin ve metabolitinin H₂O₂ ve hipoklorik asiti salınımını azaltarak ve direkt olarak lipid peroksidasyonunu azaltarak gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (161,163).

Erdosteine'in taşıdığı –SH grubu nedeniyle antioksidan özellik gösterdiği için periferel nötrofillerin bu fonksiyonları üzerine regüle edici ve koruyucu etkilerinin olabileceği düşünülmüş ve yapılan bir araştırmada sigara içen sağlıklı bireylerin PMNL'si üzerine Erdosteine'in kemotaksisi düzenleyici yönde etki ettiği gösterilmiştir (161). Ayrıca aynı çalışmada sigaranın direkt etkisiyle serbest oksijen radikallerinin bazı biyolojik yapılar üzerine olan toksik etkilerinin Erdosteine'in –SH gruplarından kaynaklanan antioksidan etki ile azaldığı bulunmuştur. Sigaranın bu yan etkileri üzerine antioksidan karakterli maddelerin koruyucu etkisi yapılan birçok araştırma ile gösterilmiştir (163). Bunlar daha çok reaktif serbest –SH grupları taşıyan antioksidan karakterli maddelerdir. Erdosteine ile bu maddelerin en büyük benzerliği serbest –SH grubu taşımalarıdır. Bu çalışmayı daha önceden yapılan birçok çalışma desteklemektedir (161,163, 164,166).

2.7.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kullanımı

Erdosteine iskemi-reperfüzyon hasarında çeşitli çalışmalarda kullanılmış ve güçlü antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir. Literatürde Erdosteine'in beyin, akciğer, ince barsak ve böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliğini araştıran çalışmalar mevcut olup Erdosteine'in bu dokularda antioksidan enzim seviyelerini yükseltip oksidan ürünlerin oluşumunu azalttığı ve dolayısıyla iskemi-reperfüzyon hasarını belirgin olarak azalttığına yönelik anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Bir çalışmada Erdosteine'in böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında antiiskemik etkisini gösterilmiştir. Erdosteine'in renal hücre membranında oksidasyon ürünü olan MDA seviyesini azalttığı, SOD aktivitesini arttırdığı ve böylece lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu engellediği gösterilmiştir. Erdosteine'in uzun süreli kullanımının renal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu

sonucuna ulaşılmıştır (167).

Başka bir çalışmada Erdosteın'ın intestinal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinliği araştırılmıştır. Çalışma sonucunda Erdosteın'ın iskemi-reperfüzyon sonrasında oluşan intestinal hasarı belirgin olarak azalttığı ve yükselen oksidasyon ürünlerinden MDA ve NO seviyelerini düşürdüğü, antioksidan SOD ve GSH-Px seviyelerini arttırdığı ve intestinal dokuda serbest radikal kovucu etkisinin olduğu tespit edilmiştir (168).

Bir diğer çalışmada Erdosteın'ın domuz böbreğinde iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliği araştırılmıştır. 30 dakika renal pedikül oklüzyonu oluşturularak renal iskemi oluşturulmuş ve Erdosteın verilen grupta reperfüzyon grubuna göre serum kreatin ve BUN (blood urea nitrojen) seviyelerinin azaldığı, GSH-Px ve CAT aktivitesinin arttığı ve sonuç olarak Erdosteın'ın renal iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu olduğu gösterilmiştir (169).

Bir diğer çalışmada Erdosteın'ın rat intestinal dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarında koruyuculuğu araştırılmıştır. 30 dakika süperior mezenterik arter oklüzyonu ile intestinal iskemi oluşturulmuş ve ardından 3 gün reperfüzyon uygulanmış ve Erdosteın verilen grupta reperfüzyon grubuna göre doku antioksidan enzimi GP- x ve SOD aktivitesinin arttığı, oksidan ürün MDA'nın azaldığı ve histopatolojik olarak da doku zedelenme skorunun düştüğü bulunmuştur (170).

Bir diğer çalışmada akciğer iskemi-reperfüzyon hasarında Erdosteın'ın koruyucu etkinliği araştırılmıştır. 60 dakika turnike uygulanıp ardından 120 dakika reperfüzyon yapılarak akciğer iskemi-reperfüzyonu oluşturulmuş ve Erdosteın verilen grupta reperfüzyon grubuna göre oksidan XO (Xantin oksidaz) ve MPO (Myeloperoksidaz) seviyelerinin azaldığı, NO seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Erdosteın'ın akciğer zedelenmesini, oksidatif stresi ve nötrofil infiltrasyonunu azalttığı ve akciğer iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (171).

Başka bir çalışmada beyin iskemi-reperfüzyon hasarında Erdosteın'ın koruyucu etkisi araştırılmıştır. 10 dakika boyunca bilateral karotis arter oklüzyonu uygulanarak beyin iskemisi oluşturulmuş ve ardından 30 dakika reperfüzyon uygulanmış ve Erdosteın grubunda reperfüzyon grubuna göre plazma antioksidan enzimlerinden NO, SOD ve GSH-Px aktivitesinin arttığı, oksidasyon ürünleri

thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)'ın azaldığı ve beyin dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarına karşı Erdostein'in koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (172).

2.8. Ginkgo biloba Ekstresi (EGb-761)

Antik bir Çin ağacı olan Ginkgo biloba, sağlığa yararlı etkilerinden dolayı yüzyıllarca yetiştirilmiş ve korunmuştur. 5.000 yıldan daha fazla süredir meyve ve tohumları geleneksel Çin tıbbında öksürük, astım ve enürezis tedavisinde kullanılmaktadır (173).

2.8.1. Kaynaklar ve Kimyasal Yapı

EGb-761, Ginkgo biloba (Gb) ağacının yapraklarından elde edilen patentli bir ekstrelerdir. 1964'te geliştirilmesinden sonra çok sayıda hastalık ve tıbbi bozuklukta etkileri araştırılmıştır (173).

Ginkgo biloba'nın hazırlanması için Gb yaprakları henüz yeşilken toplanıp kurutulur ve 15 adımlı ekstraksiyon işlemine alınır. Ekstraksiyon işlemine aseton-su karışımıyla başlanır, sonra lipofilik yapılar çıkartılır ve aktif bileşenler konsantre edilir (174). EGb-761 ekstresinde standart olarak %24 flavonoid glikozidler ve %6 terpenoidlaktonlar bulunur. Flavonoidler esas olarak quersetin, kamferol ve isorhamnenitinglikozdur. Terpenoid fraksiyonu diterpenler (ginkgolid A,B,C ve J) ve bilobalid'den oluşur. Ayrıca EGb-761, ekstrenin suda çözünürlüğünde rol oynadığı bildirilen kinürenik asit, hidroksikinürenik ve vanilik asit dahil organik asitleri içerir (175,176).

2.8.2. Farmakokinetik Özellikleri

Oral alımı sonucunda gastrointestinal sistemden hızla emilmektedir. Ginkgolid A, ginkgolid B ve bilobalid bileşenlerinin biyo yararlılığı oldukça iyidir. Ginkgolid A için % 100, ginkgolid B için %93, bilobalid için %72 biyo yararlanım mevcuttur. Maksimum plazma konsantrasyonu ginkgolid A için 15 ng/ml, ginkgolid B için 4 ng/ml, bilobalid için ise 12 ng/ml'dir. Yarılma ömrü ise 3,2-7

saat arasında değişmektedir (174).

2.8.3. Farmakolojik Kullanımı

EGb-761'in pek çok biyokimyasal ve farmakolojik aktiviteleri bulunmaktadır:

Antioksidan Etki: Özellikle terpenoid fraksiyonları etkiler (174) Normal metabolizmanın oksidan yan ürünleri mitokondri tarafından devamlı üretilir. Bu reaktif oksijen türleri DNA, protein ve lipidlerde oksidatif hasara neden olabilir (177). Terpenoidlerin antioksidan özelliklerinin farklı nörotransmitterler üzerine etkilerine bağlı olduğu düşünölmektedir (178).

Peroksit Radikal Toplayıcısı Etki: EGb-761'in süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi olduğu bilinmektedir (176). İskemi-reperfüzyon sırasında süperoksit anyonları ksantin oksidaz sistemiyle oluşur. EGb-761, meydana gelen süperoksit anyonlarını ortadan kaldırır, reaktif oksijen türlerinin doku düzeylerini düşürür ve nitrik oksit (NO)'yu ortadan kaldırarak membran lipid peroksidasyonunu önler (180,181).

PAF (Platet Aktivasyon Faktörü) Antagonist Etki: Özellikle ginkgolid fraksiyonu sorumludur. PAF hücre membranında yapılan bir otokoiddir. Fosfolipid yapısındadır ve başlıca inflamatuvar hücreler olmak üzere pek çok hücre tarafından salgılanır. Akut iskemik olaylarda hücre dejenerasyonunda önemli bir mediatör olarak karşımıza çıkar. PAF, iskemi sonucu dokularda vasküler permeabilityi artırır ve hücre iskeletinde bozulma ve endotel hasarına neden olur. Ekstre içindeki çeşitli terpen türevleri PAF'ın hedef hücrelerde kendine özgü reseptörlerini antagonize ederek etki gösterir (182).

Nöroprotektif Etki: Özellikle beyin dokusunda olmak üzere hipoksiye toleransta artışa neden olur. Bu etkinin fosfodiesterazlar ve Na-K-ATP'azlara bağlı olduğu düşünölmektedir (178). Travmatik veya toksik nedenlerle oluşan beyin ödeminin gelişmesinde inhibisyon ve regresyonun hızlanmasına yol açar (181). Kortikal infarkt hacmini azaltır (181,184,185). Serebral korteksin periferik benzodiazepin reseptör (PBR) seviyesinde azalmaya neden olur (181). Nöroblastoma hücrelerinde amiloid agregasyonunda inhibisyona yol açar. Nöronal plastisiteyi artırır (178). Hipokampusta kolin alınımında düzelmeye birlikte muskarinik kolin reseptörleri ve alfa 2-adrenoreseptörlerin yaşa bağlı azalmasının inhibisyonuna neden

olur (185). Hafıza, dil, oryantasyon ve öğrenme kapasitesinin gelişmesine neden olur (186).

2.8.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kullanımı

Ginkgo biloba iskemi-reperfüzyon hasarında çeşitli çalışmalarda kullanılmış ve güçlü antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir. Literatürde Ginkgo biloba'nın beyin, ön beyin, spinal kord, hipokampüs, akciğer, ince barsak, böbrek, karaciğer ve myokardiyum iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliğini araştıran çalışmalar mevcut olup Ginkgo biloba'nın bu dokularda antioksidan enzim seviyelerini yükseltip oksidan ürünlerin oluşumunu azalttığı ve dolayısıyla iskemi-reperfüzyon hasarını belirgin olarak azalttığına yönelik anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Bir çalışmada rat beyinde iskemi-reperfüzyon hasarında Ginkgo biloba'nın etkinliği araştırılmıştır. 10 dakika boyunca bilateral karotid arter oklüzyonu ve ardından 2 gün boyunca reperfüzyon oluşturularak beyin iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulmuş ve Ginkgo biloba verilen ratlarda bilişsel ve davranışsal fonksiyonların reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düzeldiği ve nöronal hasarın azaldığı gösterilmiştir.

Bir başka çalışmada, 24 saat iskemiye maruz bırakılan rat kalp hücrelerinde reoksijenizasyon sonrası Ginkgo biloba'nın mitokondri bağımlı kaspaz yolunu engelleyerek kalp kası hücrelerinde apoptozu engellediği apoptotik hücrelerin ölümünü kolaylaştırdığı tespit edilmiştir (187).

Bir diğer çalışmada renal arter 45 dk. iskemi ve 6 saat reperfüzyona maruz bırakılarak böbrek iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulmuştur. Ginkgo biloba verilen ratlarda reperfüzyon grubuna göre, serum BUN ve kreatinin seviyelerindeki artışın engellendiği, antioksidan GSH seviyelerinin arttığı oksidatif ürünlerden MDA seviyelerinin düştüğü ve histopatolojik olarak böbrek hasarının düzeldiği gösterilmiştir (188).

Başka bir çalışmada 7 gün boyunca Ginkgo biloba ile beslenen ve geçici middle cerebral arter oklüzyonu oluşturulan ratlarda reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak daha az nörolojik disfonksiyon ve daha az serebral infarkt volümü saptandığı kaydedilmiştir (189).

Bir diğer çalışmada % 100 CO2' ye maruz bırakılarak intestinal iskemi oluşturulan ve 3 gün boyunca Ginkgo biloba ile beslenen ratlarda, reperfüzyon grubuna göre intestinal dokularda histopatolojik hasar skorunun anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (190).

Başka bir çalışmada 90 dk. boyunca hepatik iskemi oluşturulan ardından reperfüzyona maruz bırakılan ve Ginkgo biloba verilen ratlarda serum ALT, AST, LDH seviyelerinin düştüğü, doku TBARS seviyelerinin azaldığı dolayısıyla post iskemik-reperfüzyon hasarının önlenmesinde etkin olduğu gösterilmiştir (191).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma için Kırıkkale Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak 16.02.2012 tarih, 12/2 sayılı toplantı ve karar numarası ile onay alınmış ve çalışma etik kurallara uygun olarak yapılmıştır.

3.1. Ratların Temini ve Bakımı

Çalışmaya Kobay Deneysel Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. (Ankara)'den elde edilen 36 adet Wistar albino cinsi, 16 haftalık, 250–300 gr. ağırlığındaki dişi ratlar dahil edildi. Hayvanlar, her grupta 6 rat olmak üzere toplam 6 gruba ayrıldılar ve paslanmaz çelik kafeslerde, sessiz, sıcaklığın 17 ± 2 °C ve nemin % 60-65 arasında kontrol altında tutulduğu, ayrıca 12 saat ışık, 12 saat karanlık ışık döngüsünün sağlandığı bir odada barındırıldılar. Standart pellet yem ve içme suyu ile beslendiler. Erdosteine verilen gruptaki ratlara deneye başlamadan 3 gün önce standart pellet yeme ek olarak her gün oral gavaj ile 150 mg/kg dozlarında Erdosteine verildi.

3.2. Deneyde Kullanılan Curcumin, Erdosteine, Ginkgo biloba Dozlarının Belirlenmesi ve Hazırlanışı

3.2.1. Dozların Belirlenmesi

Birçok araştırmacı çalışmalarında Curcumin'i intraperitoneal yolla uygulamıştır (192-195). Dolayısıyla çalışmamızda Curcumin'i ip yolla kullanarak en fazla etkinliği sağlayabileceğimizi düşündük. Bir çalışmada Curcumin bilinen yan etkisi ve toksisitesi olmaması nedeniyle antioksidan etkinliğini araştırmak için 75-500 mg/kg doz aralığında kullanılmıştır (196). Başka bir çalışmada ratlarda bilateral karotis arter oklüzyonu ve reperfüzyonu ile oluşturulan serebral iskem-reperfüzyon modelinde Curcumin 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozları ip yol ile

uygulanarak antioksidan etkinliği araştırılmış, 50 ve 100 mg/kg dozunda uygulanan Curcumin'in oksidatif stresin biyokimyasal parametrelerinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığını, ancak 200 mg/kg dozunda oksidatif hasarı azalttığını bildirmişlerdir (197). Biz de mevcut bilgilerinin ışığında Curcumin'i intraperitoneal yolla ve 200 mg/kg dozunda uygulamaya karar verdik.

Erdostein ile ilgili yapılan çalışmaların çok büyük bir kısmında Erdostein oral yolla uygulanmıştır. Dolayısıyla alışmamızda Erdostein'i oral yolla kullanarak en fazla etkinliği sağlayabileceğimizi düşündük. Ratlarda renal iskemi-reperfüzyonda Erdostein'in etkinliğini araştıran bir çalışmada Erdostein 10 mg/kg dozunda (197), renal iskemi-reperfüzyonda kullanımında yine başka bir çalışmada 50 mg/kg dozunda (198), beyin iskemi-reperfzyonunda kullanımında 50 mg/kg dozunda (199), intestinal iskemi-reperfüzyonda kullanımında 100 mg/kg dozunda (200), hipokampal nöronal hücre hasarını engellemede 500 mg/kg dozunda (201), renal toksisitenin engellenmesinde 150-300 mg/kg dozunda (202), hepatik toksisitenin engellenmesinde 150-300 mg/kg dozunda (203), akciğer iskemi-reperfüzyon hasarında 150 mg/kg dozunda oral yolla 3 gün süreyle kullanılmış ve etkili bulunmuştur (204). Biz de mevcut bilgilerinin ışığında Erdostein'i oral yolla ve 150 mg/kg dozunda uygulamaya karar verdik.

Ginkgo biloba ile ilgili yapılan çalışmaların çok büyük bir kısmında Ginkgo biloba intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Dolayısıyla alışmamızda Ginkgo biloba'yı intraperitoneal yolla kullanarak en fazla etkinliği sağlayabileceğimizi düşündük. Bir çalışmada ileus oluşturulan ratlarda reperfüzyondan sonra 100 mg/kg tek dozda verdikleri Ginkgo biloba'nın barsak üzerine etkinliğini araştırmışlardır (205). Bir başka çalışmada ise iskemi-reperfüzyon modeli ile mesane hasarı oluşturulan ratlarda iskemiden 60 dakika önce ip uygulanan Ginkgo biloba'nın iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliği araştırılmış ve 50 mg/kg dozunda uygulanan Ginkgo biloba'nın değil, 100 mg/kg dozda verilen Ginkgo biloba'nın etkili olduğu gösterilmiştir (206). Bir diğer çalışmada, iskemi-reperfüzyon yöntemi ile oluşturdukları böbrek hasarında, iskemiden 15 dakika önce ve reperfüzyondan hemen sonra 50 mg/kg iki dozda ip yolla (207), başka bir çalışmada intestinal iskemi-reperfüzyon modeli ile akciğer hasarı oluşturulan ratlarda 100 mg/kg oral yolla (208), iskemi-reperfüzyon modeli ile

oluşturdukları beyin hasarında, iskemiden önce 15 gün süre ile oral olarak 75 mg/kg ve 150 mg/kg dozlarında kullanılmıştır (209). Bu literatür bilgileri ışığında çalışmamızda Ginkgo biloba dozunu 100 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulamaya karar verdik.

3.2.2. Deneyde Kullanılan Curcumin, Erdostein ve Ginkgo biloba'nın Hazırlanışı

Öncelikle, deneyde kullanılacak olan hayvanların vücut ağırlıklarına göre her bir etken maddenin kullanılacak olan dozları hesaplandı ve toplam kaç mg veya ml verileceği bulundu. Sonrasında her bir maddenin hesaplanan dozlarının elde edilmesi için gereken karışım hazırlandı ve her bir hayvana hesaplanan dozlarda maddeler verildi. Deneyde kullanılan Curcumin (Turmeric), Sigma Aldrich (Sigma / katalog no:C1386) firmasından temin edildi. Her bir hayvanın vücut ağırlığına göre 200 mg/kg olacak şekilde 60 mg'lık dozlarını içeren karışımlarının elde edilmesi planlandı. Curcumin'den 480 mg numune alınarak 8 ml dimetilsülfoksit içerisinde çözülmesi sağlandı ve 8 ml serum fizyolojik daha eklenerek 16 ml'lik karışım elde edildi. Her bir hayvana bu karışımdan 2 ml intraperitoneal olarak verildi. Deneyde kullanılan Erdostein (Erdostin 300 mg/20 kapsül), Sandoz firmasından temin edildi. Günlük olarak hazırlandı. Erdostein'in her bir hayvanın vücut ağırlığına göre 150 mg/kg olacak şekilde 50 mg'lık dozlarını içeren karışımlarının elde edilmesi planlandı. Erdostein'den 300 mg numune alınarak 12 ml distile suda çözülmesi sağlandı ve her bir hayvana 3 gün boyunca bu karışımdan oral gavaj ile 2 ml verildi. Deneyde kullanılan Ginkgo biloba A.İbrahim firmasından (Tebokan fort damla, Ginkgo glikozidleri, 40 mg/ml) temin edildi. Ginkgo biloba'nın her bir hayvanın vücut ağırlığına göre 100 mg/kg olacak şekilde 30 mg'lık dozlarını içeren karışımlarının elde edilmesi planlandı. Ginkgo biloba ekstresinden 6 ml numune alınarak 10 ml serum fizyolojik daha eklendi. 16 ml'lik karışım elde edildi ve her bir hayvana bu karışımdan 2 ml intraperitoneal olarak verildi.

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ratlar randomize olarak her grupta 6'şar rat olmak üzere 6 gruba ayrıldı:

Grup I (Sham grubu): Sadece laparotomi uygulanan ardından overleri çıkarılan grup (Resim 3.1.).

Grup II (İskemi grubu): Ovaryan iskemi oluşturulan, 3 saat sonra overleri çıkarılan grup (Resim 3.3.).

Grup III (İskemi-Reperfüzyon grubu): 3 saatlik iskeminin ardından, 3 saat reperfüzyon oluşturulup, daha sonra overleri çıkarılan grup (Resim 3.4.)

Grup IV (İskemi-Reperfüzyon + Curcumin): 3 saatlik iskemi oluşturulup reperfüzyondan 30 dk. önce 200 mg/kg intraperitoneal Curcumin verilen ve 3 saat reperfüzyonun ardından overleri çıkarılan grup.

Grup V (İskemi-Reperfüzyon + Ginkgo biloba): 3 saatlik iskemi oluşturulup reperfüzyondan 30 dk. önce 100 mg/kg intraperitoneal Ginkgo biloba verilen ve 3 saat reperfüzyonun ardından overleri çıkarılan grup.

Grup VI (İskemi-Reperfüzyon + Erdosteine): 3 gün boyunca oral gavaj ile 150 mg/kg Erdosteine verilen ardından 3 saatlik iskemi ve 3 saat reperfüzyondan sonra overleri çıkarılan grup.

3.4. Torsiyon-Detorsiyon Modelinin Yapılması

Ratlar 10 mg/kg xylazin hidroklorür (Rompun®, Bayer-İstanbul) ve 70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar®, 500 mg 10 ml flakon Pfizer, İstanbul) kas içine uygulanarak anestezi sağlandıktan sonra dorsal yatay pozisyona getirildi. Opere edilecek alan povidon iyot ile temizlendi ve boyandı. 2,5–3 cm'lik median laparotomi insizyonu uygulandı. Sham grubundaki ratlara herhangi bir ilaç verilmeden sadece laparotomi uygulandı ve overler çıkartıldı (Resim 3.1). Ovaryan iskemi modeli oluşturmak için atravmatik mikrovasküler klemp kullanıldı. Overler, tubal ve over damarlarını da içine alacak şekilde saat yönünde 360 derece

döndürülerek 3 saat boyunca atravmatik mikrovasküler klemp ile tutuldu ve torsiyon oluşturuldu. Detorsiyon ise klempler açılarak kan dolaşımının 3 saat boyunca sağlanmasıyla sağlandı. İnsizyon 2/0 ipek ile kapatıldı ve 3 saat sonra aynı anestezi yöntemi ve aynı insizyondan laparotomi yapılarak overler histopatolojik değerlendirme ve biyokimyasal analiz için cerrahi olarak çıkartıldı.



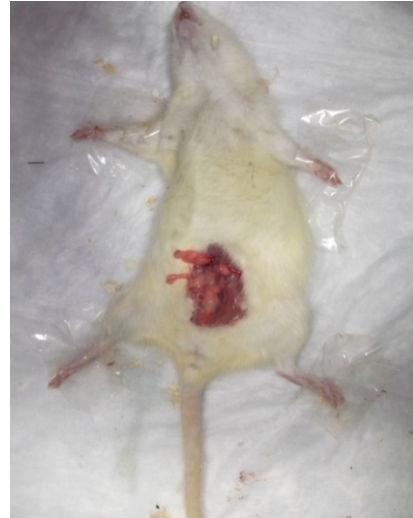
Resim 3.1. ShamGrubu



Resim 3.2. Overler mikrovasküler klemp ile tutularak torsiyon oluşturuldu.



Resim 3.3. İskemik over



Resim 3.4. İskemi sonrası reperfüzyona uğrayan over

3.5. Deneyin Sonlandırılması

Tüm gruplarda overler alındıktan hemen sonra serumda çalışılacak olan biyokimyasal analizler için de intrakardiyak kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri

+4°C’de 10 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenerek (Eppendorf, 5804 R) serumlar elde edildi. Deney sonunda, alınan dokuların bir kısmı ve serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılncaya kadar -80°C’de saklandı. Dokuların diğerk kısmı ise histopatolojik analizler için %10’luk fosfat tamponlu formalin içinde saklandı.

3.6. Doku Biyokimyasal Analizleri

Rat ovaryum numunesi, % 0.09’lik NaCl çözeltisi içinde, % 10’luk homojenat oluşturacak şekilde buz üzerinde homojenize edildi. Doku homojenatı 1500 g’de 10 dk. +4°C’de santrifüj edildi. Süpernatantlar Malondialdehit (MDA), Nitrik Oksit (NO), Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve protein ölçümleri için kullanıldı.

MDA Analizi: Armstrong D. Al-Awadi F’nin yöntemi ile çalışıldı (210). Doku örneklerinin sonuçları nmol/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise nmol/mL olarak verildi.

NO Analizi: Miranda ve arkadaşlarının yöntemine göre çalışıldı (211). Standart olarak sodyum nitratın 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 µmol/ml konsantrasyonları kullanıldı. Doku örneklerinin sonuçları µmol/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, µmol/L olarak verildi.

Katalaz Analizi: Cayman firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (Catalase Assay Kit Item No:707002 U.S.A). Doku örneklerinin sonuçları nmol/min/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise nmol/min/ml olarak verildi.

SOD Analizi: Cayman firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı. (Superoxide Dismutase Assay Kit Item No:706002 U.S.A) Doku örneklerinin sonuçları U/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, U/dl olarak verildi.

Protein Tayini: Dokudaki protein tayini, Lowry yöntemi ile yapıldı (212).

3.7. Histopatolojik İncelemeler

Uygulama sonrası alınan ovaryum doku örnekleri % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit edilen dokular, sırasıyla dereceli alkol, ksilol ve parafinizasyon işlemlerinden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2025 Model-Almanya) ile 5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Carl Zeiss marka-Almanya) x40, x100 ve x400 büyütme ile incelendi. Ovaryum kesitlerinin histopatolojik değerlendirilmesinde vasküler konjesyon, hemoraji, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, infarkt-vital parankim kaybı olmak üzere dört kategoride semi-kantitatif skorlanarak değerlendirildi (Tablo 3.1.). Ayrıca gerekli görülen olgulardan mikroskopik görüntüler dijital ortama aktarıldı.

Tablo 3.1. Ovaryum kesitlerinin histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan skorlama skalası.

Bulguların şiddetine göre;

-	=	yok
+	=	hafif
++	=	orta
+++	=	şiddetli olarak değerlendirildi.

3.8. İstatistiksel Analiz Gruplarının Oluşturulması

Çalışma grupları oluşturulduktan sonra elde edilen veriler doğrultusunda her bir grup sham (S), iskemi (İ), iskemi-reperfüzyon (İR) ve kullanılan etken maddeyi (Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba) içerecek şekilde dörderli olarak ayrıldı ve istatistiksel analiz bu dört değişkenle önce serumdan alınan MDA, NO, SOD ve CAT arasında, sonra dokudan alınan MDA, NO, SOD ve CAT arasında ve en son olarak histopatolojik inceleme için vasküler konjesyon (VK), hemoraji (H), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (PMNLİ) ve infarkt-vital parankim kaybı (İVPK) değişkenlerine göre ayrı ayrı yapıldı.

3.8.1. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, United States) for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm standart sapma veya ortanca (en küçük–en büyük) olarak gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle araştırıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi ya da Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunması halinde post hoc Tukey HSD ya da Conover'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farka neden olan durumlar tespit edildi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Sham (S), İskemi (İ), İskemi-Reperfüzyon (İR) ve Curcumin (C) gruplarındaki serum Malondialdehit (MDA), Nitrik oksit (NO), Katalaz (CAT) ve Süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Gruplar arasında MDA, CAT ve SOD düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu. (Sırasıyla; p=0,003, p=0,004, p=0,002). MDA için yapılan post hoc analizde İ grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, C grubunda İR grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. CAT için yapılan post hoc analizde, İ grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, C grubunda S, İ ve İR grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. SOD için yapılan post hoc analizde İ, İR ve C gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Gruplar arasında NO bakımından anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.1. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Curcumin Gruplarına Göre Serum MDA, NO, CAT ve SOD Ölçümleri

Gruplar	MDA	NO	Katalaz	SOD
Grup S	6,4±1,12 ^{a,b}	38,1 (13,06)	2,2 (1,14) ^{a,b,d}	16,4±2,37 ^{a,b,c}
Grup İ	8,3±1,29 ^a	36,3 (12,84)	3,6 (3,62) ^{a,e}	8,7±4,88 ^a
Grup İR	8,8±1,04 ^{b,c}	36,3 (12,84)	3,6 (3,62) ^{b,c}	8,7±4,88 ^b
Grup C	6,9±0,92 ^c	42,5 (12,95)	7,1 (10,64) ^{c,d,e}	6,9±2,67 ^c
p-değeri	0,003 [†]	0,674 [‡]	0,004 [‡]	0,002 [†]

†: Tek Yönlü Varyans Analizi, ‡: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), c: Grup İR ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), d: Grup S ile Grup C

arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), e: Grup İ ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

S, İ, İR ve C gruplarındaki doku MDA, NO, CAT ve SOD düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Gruplar arasında CAT düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu ($p<0,001$). CAT için yapılan post hoc analizde İ grubunda S, İR, C gruplarına göre anlamlı olarak yüksek, S grubunda İR ve C gruplarına göre anlamlı olarak düşük ve İR grubunda C grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Gruplar arasında MDA, NO ve SOD bakımından anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.2. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Curcumin Gruplarına Göre Doku MDA, NO, CAT ve SOD Ölçümleri

Gruplar	MDA	NO	Katalaz	SOD
Grup S	2,6 (3,20)	7,2 (3,27)	0,8 (0,30) ^{a,b,c}	1,1 (1,72)
Grup İ	2,6 (3,20)	7,5 (3,56)	3,7 (1,62) ^{a,d,e}	1,0 (1,59)
Grup İR	2,5 (2,98)	5,8 (1,73)	2,5 (1,90) ^{b,d,f}	0,4 (1,12)
Grup C	2,0 (1,88)	7,1 (3,59)	1,1 (0,66) ^{c,e,f}	1,2 (0,95)
p-değeri†	0,519	0,213	<0,001	0,294

†: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), c: Grup S ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: Grup İ ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), e: Grup İ ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), f: Grup İR ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

S, İ, İR ve C gruplarındaki vasküler konjesyon (VK), hemoraji (H), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (PMNLİ) ve infarkt-vital prankim kaybının (İ-VPK) karşılaştırılması Tablo 4.3’te gösterilmiştir. Gruplar arasında H, PMNLİ ve İVPK bakımından anlamlı fark bulundu (Sırasıyla; $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,045$). H için yapılan post hoc analizde İ, İR ve C gruplarında, S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, C grubunda İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. PMNLİ için yapılan post hoc analizde İ, İR ve C gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek, C grubunda İR grubuna

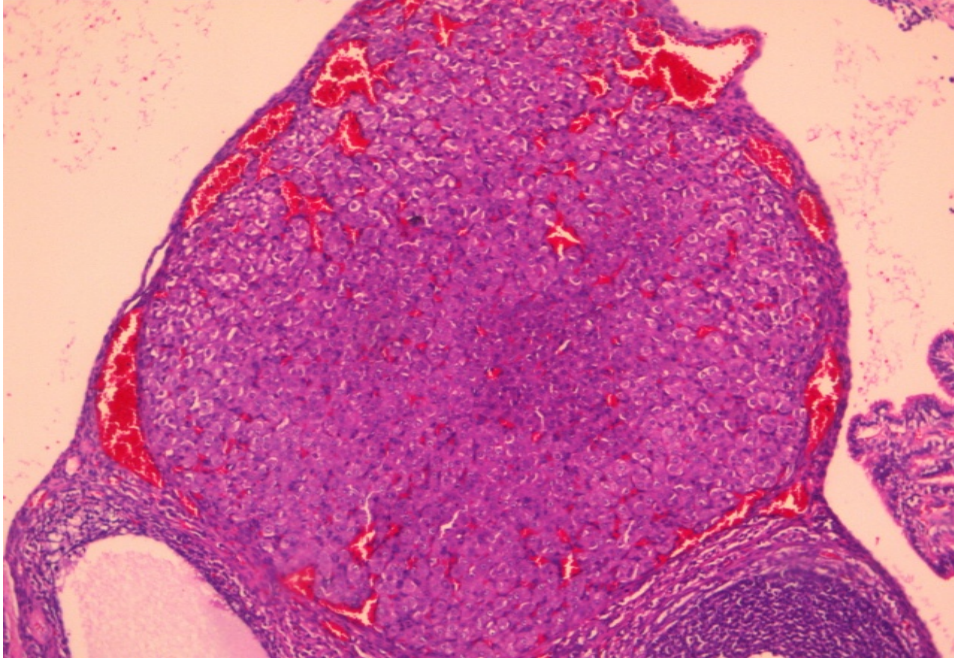
göre anlamlı olarak düşük bulundu. İVPK için yapılan post hoc analizde İ, İR ve C gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek, C grubunda İR grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Gruplar arasında vasküler konjesyon bakımından anlamlı fark bulunmadı. Curcumin grubundaki orta derecede hemorajik infarkt ve minimal vital parankim kaybı (Resim 4.1), orta derecede vasküler konjesyon (Resim 4.2.) ve submezotelyal alanda hafif-orta derecede olarak değerlendirilen PMNL infiltrasyonu izlendi (Resim 4.3.).

Tablo 4.3. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon, Curcumin Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları

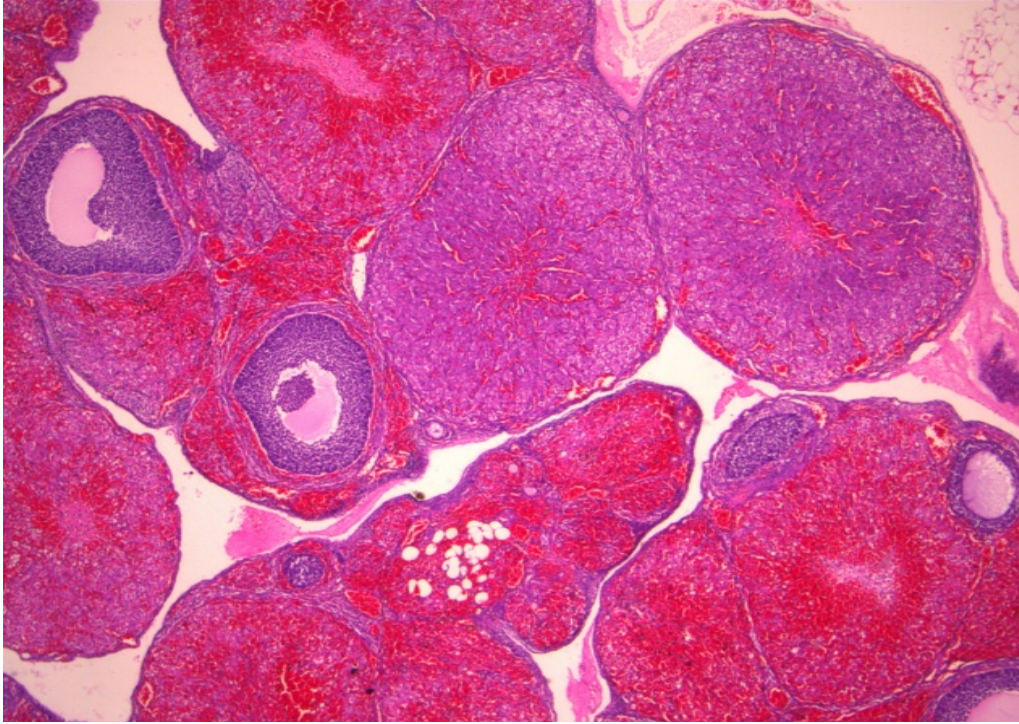
Gruplar	VK	H	PLİ	İ/V PK
Grup S	1 (1-2)	0 (0-0) ^{a,b,c}	0 (0-0) ^{a,b,c}	0 (0) ^{a,b,c}
Grup İ	1,5 (1-3)	1,5 (1-3) ^{a,d}	2 (1-2) ^{a,f}	25 (50) ^{a,f}
Grup İR	2,5 (1-3)	2 (2-3) ^{b,e}	3 (2-3) ^{b,e,f}	45 (55) ^{b,e,f}
Grup C	2 (2-3)	3 (1-3) ^{c,d,e}	2 (1-2) ^{c,e}	40 (40) ^{c,e}
p-değeri †	0,093	<0,001	<0,001	0,045

VK: Vasküler Konjesyon, H: Hemoraji, PLİ: Polimorfonükleer Lökosit İnfiltrasyonu, İ/V PK: İnfarkt /vital Parankim Kaybı, †: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), c: Grup S ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), d: Grup İ ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), e: Grup İR ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), f: Grup İ ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,01).

Resim 4.1. Curcumin grubunda orta derecede hemorajik infarkt ile birlikte minimal vital parankim kaybı(HEX40)

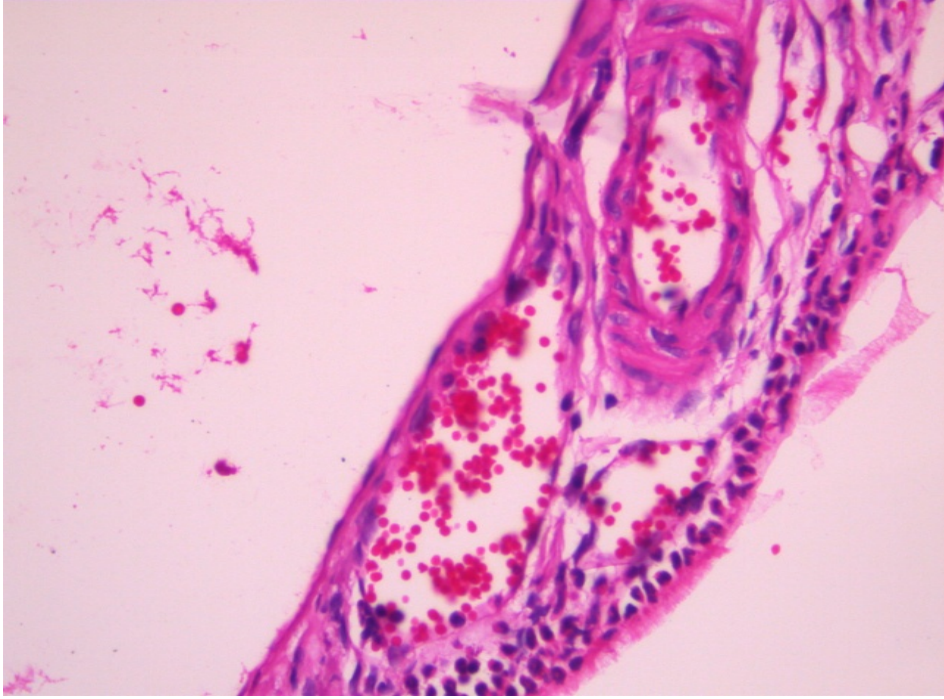


Resim 4.2. Curcumin grubunda orta derecede vasküler konjesyon izlenirken, parankim kaybı izlenmedi (HEX100) .



Resim 4.3. Curcumin grubunda submezotelyal alanda hafif-orta derecede olarak değerlendirilen

PMNL infiltrasyonu (HE X 400).



S, İ, İR ve E gruplarındaki serum MDA, NO, CAT ve SOD düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.4.'te gösterilmiştir. Gruplar arasında MDA, NO, CAT ve SOD düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu (Sırasıyla; $p=0,027$, $p=0,007$, $p=0,004$, $p=0,007$). MDA için yapılan post hoc analizde İR grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. NO için yapılan post hoc analizde E grubunda S, İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CAT için yapılan post hoc analizde S grubunda İ, İR ve E gruplarına göre anlamlı olarak düşük, E grubunda İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu. SOD için yapılan post hoc analizde S grubunda İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Tablo 4.4. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Erdostein Gruplarına Göre Serum MDA, NO, CAT ve SOD Ölçümleri

Gruplar	MDA	NO	Katalaz	SOD
Grup S	6,4±1,12 ^a	38,1 (13,06) ^b	2,2 (1,14) ^{a,b,e}	16,4±2,37 ^{a,e}
Grup İ	8,3±1,29	36,3 (12,84) ^c	3,6 (3,62) ^{c,e}	8,7±4,88 ^e
Grup İR	8,8±1,04 ^a	36,3 (12,84) ^d	3,6 (3,62) ^{a,d}	8,7±4,88 ^a
Grup E	7,4±1,81	58,0 (24,91) ^{b,c,d}	3,5 (0,35) ^{b,c,d}	13,2±3,20
p-değeri	0,027 [†]	0,007 [†]	0,004 [‡]	0,007 [†]

†: Tek Yönlü Varyans Analizi, ‡: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), b: Grup S ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), c: Grup İ ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), d: Grup İR ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), e: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$).

S, İ, İR ve E gruplarındaki doku MDA, NO, CAT ve SOD düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.5.'te gösterilmiştir. Gruplar arasında NO ve CAT düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu (Sırasıyla; $p=0,047$, $p=0,002$). NO için yapılan post hoc analizde, E ve İR gruplarında S ve İ gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu. İ grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CAT için yapılan post hoc analizde İ, İR ve E gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. İR grubunda İ grubuna göre anlamlı olarak düşük, E grubunda İR ve İ gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu. Gruplar arasında MDA ve SOD düzeyleri bakımından anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.5. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Erdosteine Gruplarına Göre Dokudan Alınan MDA, NO, CAT ve SOD Ölçümleri

Gruplar	MDA	NO	Katalaz	SOD
Grup S	2,6 (3,20)	7,2 (3,27) ^{a,b,c}	0,8 (0,30) ^{a,b,c}	1,1 (1,72)
Grup İ	2,6 (3,20)	7,5 (3,56) ^{a,d,e}	3,7 (1,62) ^{a,d,e}	1,0 (1,59)
Grup İR	2,5 (2,98)	5,8 (1,73) ^{b,d}	2,5 (1,90) ^{b,d,f}	0,4 (1,12)
Grup E	2,8 (2,42)	5,7 (1,27) ^{c,e}	0,9 (1,32) ^{c,e,f}	0,6 (0,27)
p-değeri †	0,932	0,047	0,002	0,323

†: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), c: Grup S ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), d: Grup İ ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), e: Grup İ ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), f: Grup İR ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

S, İ, İR ve E gruplarındaki vasküler konjesyon (VK), hemoraji (H), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (PMNLİ) ve infarkt-vital prankim kaybının

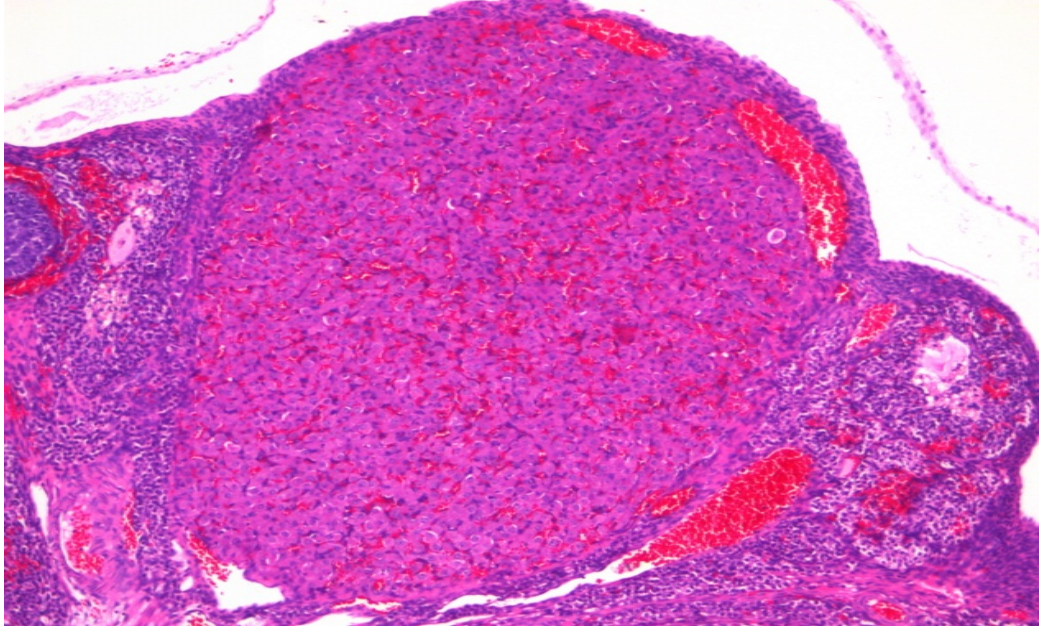
(İVPK) karşılaştırılması Tablo 4.6.'da gösterilmiştir. Gruplar arasında H, PMNLİ, İVPK bakımından anlamlı fark bulundu (Sırasıyla; $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,030$). H için yapılan post hoc analizde İ, İR ve E gruplarında, S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. E grubunda İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. PMNLİ için yapılan post hoc analizde İ, İR ve E gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek, E grubunda İR grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. İVPK için yapılan post hoc analizde İ, İR ve E gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek, E grubunda İR grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Gruplar arasında vasküler konjesyon bakımından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,115$). Erdosteın grubunda orta derecede hemoraji ve vasküler konjesyon izlenirken (Resim 4.4.), hemorajik infarkt (Resim4.5.) ve PMNL infiltrasyonu izlenmedi (Resim 4.6.).

Tablo 4.6. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Erdosteın Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları

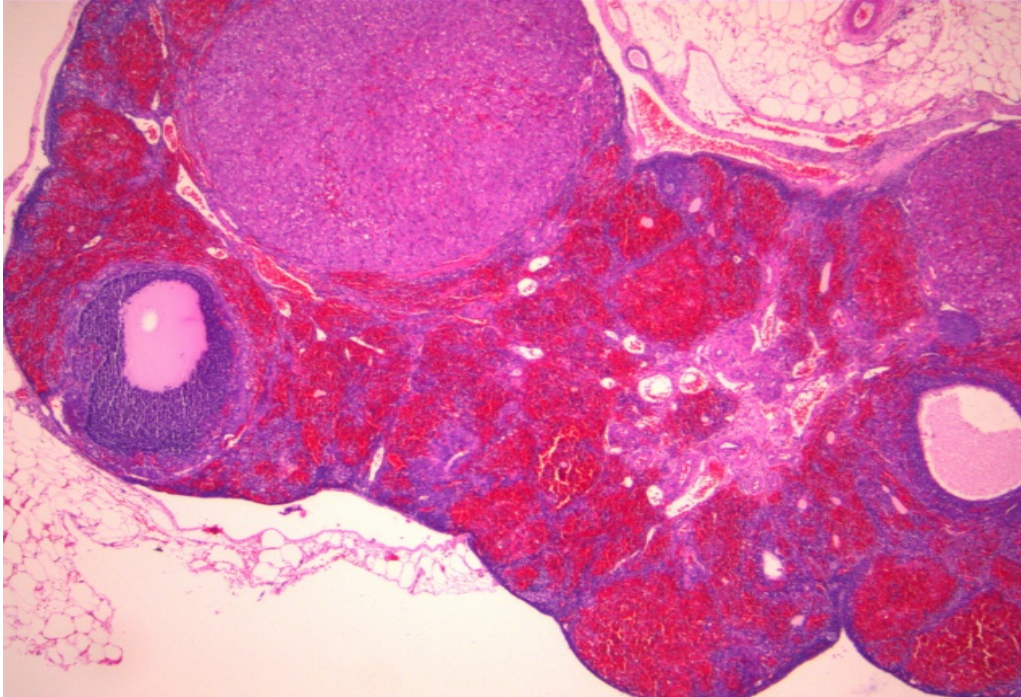
Gruplar	VK	H	PLİ	İ/V PK
Grup S	1 (1-2)	0 (0-0) ^{a,b,c}	0 (0-0) ^{a,b,c}	0 (0) ^{a,b,c}
Grup İ	1,5 (1-3)	1,5 (1-3) ^{a,d}	2 (1-2) ^{a,f}	25 (50) ^{a,f}
Grup İR	2,5 (1-3)	2 (2-3) ^{b,e}	3 (2-3) ^{b,e,f}	45 (55) ^{b,e,f}
Grup E	2 (2-3)	3 (2-3) ^{c,d,e}	1,5 (0-3) ^{c,e}	25 (40) ^{c,e}
p-değeri †	0,115	<0,001	<0,001	0,030

VK: Vasküler Konjesyon, H: Hemoraji, PLİ: Polimorfonükleer Lökosit İnfiltrasyonu, İ/V PK: İnfarkt /vital Parankim Kaybı, †: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), c: Grup S ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: Grup İ ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), e: Grup İR ile Grup E arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), f: Grup İ ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

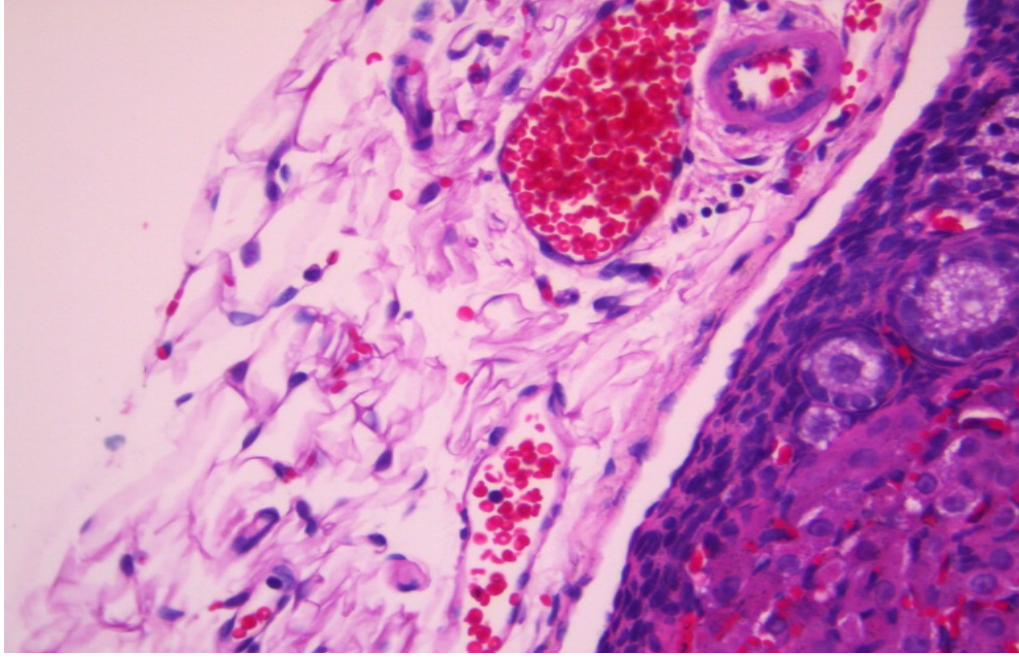
Resim 4.4. Erdosteın grubunda orta derecede hemoraji ve vasküler konjesyon (HE X 40)



Resim 4.5. Erdostein grubunda orta derecede vasküler konjesyon izlenirken, parankimde hemorajik infarkt görülmedi (HE X 100).



Resim 4.6 Erdostein grubunda serozal yağ dokuda PMNL infiltrasyonu görülmedi (HE X 400)



S, İ, İR ve G gruplarındaki serum MDA, NO, CAT ve SOD düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Gruplar arasında MDA, CAT ve SOD düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu (Sırasıyla; $p=0,01$, $p=0,007$, $p=0,007$). MDA için yapılan post hoc analizde, İR grubunda S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. CAT için yapılan post hoc analizde S grubunda İ, İR ve G gruplarına göre anlamlı olarak düşük, G grubunda İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu. SOD için yapılan post hoc analizde S grubunda İ ve İR gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Gruplar arasında NO düzeyleri bakımından anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.7. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Ginkgo biloba Gruplarına Göre Serum MDA, NO, CAT ve SOD Ölçümleri

Gruplar	MDA	NO	Katalaz	SOD
Grup S	6,4±1,12 ^a	38,1 (13,06)	2,2 (1,14) ^{a,b,c}	16,4±2,37 ^{a,b}
Grup İ	8,3±1,29	36,3 (12,84)	3,6 (3,62) ^{b,d}	8,7±4,88 ^b
Grup İR	8,8±1,04 ^a	36,3 (12,84)	3,6 (3,62) ^{a,e}	8,7±4,88 ^a

Grup G	7,0±1,46	34,5 (10,96)	3,3 (3,25) ^{c,d,e}	13,2±3,28
p-değeri	0,010 [†]	0,885 [†]	0,007 [‡]	0,007 [†]

†: Tek Yönlü Varyans Analizi, ‡: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), b: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), c: Grup S ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), d: Grup İ ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,009), e: Grup İR ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,009).

S, İ, İR ve G gruplarındaki doku MDA, NO, CAT ve SOD düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Gruplar arasında CAT düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu (p=0,002). CAT için yapılan post hoc analizde İ, İR ve G gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. İ grubunda, İR ve G grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Gruplar arasında MDA, NO ve SOD düzeyleri bakımından anlamlı farklılık izlenmedi.

Tablo 4.8. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Ginkgo biloba Gruplarına Göre Doku MDA, NO, CAT ve SOD Ölçümleri

Gruplar	MDA	NO	Katalaz	SOD
Grup S	2,6 (3,20)	7,2 (3,27)	0,8 (0,30) ^{a,b,c}	1,1 (1,72)
Grup İ	2,6 (3,20)	7,5 (3,56)	3,7 (1,62) ^{a,d,e}	1,0 (1,59)
Grup İR	2,5 (2,98)	5,8 (1,73)	2,5 (1,90) ^{b,d}	0,4 (1,12)
Grup G	2,0 (1,46)	5,9 (2,53)	1,7 (1,09) ^{c,e}	0,7 (1,28)
p-değeri [†]	0,475	0,139	0,002	0,469

†: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), c: Grup S ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), d: Grup İ ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), e: Grup İ ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001).

S, İ, İR ve G gruplarındaki vasküler konjesyon (VK), hemoraji (H), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (PMNLİ) ve infarkt-vital prankim kaybının (İVPK) karşılaştırılması Tablo 4.9’da gösterilmiştir. Gruplar arasında H, PMNLİ, İVPK bakımından anlamlı fark bulundu (Sırasıyla; p=0,002, p<0,001, p=0,015). H

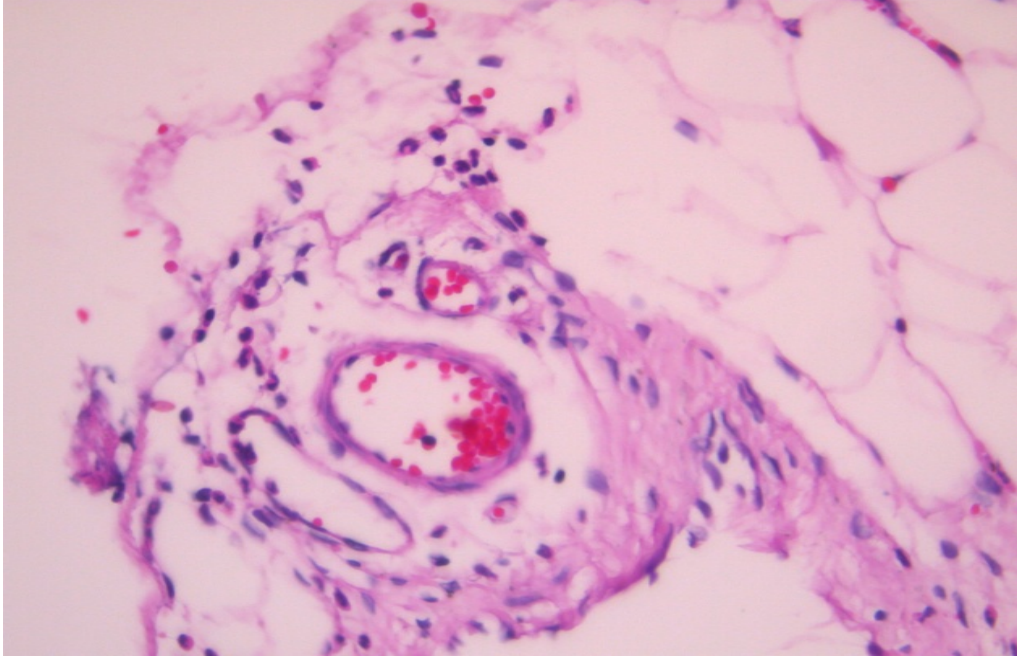
için yapılan post hoc analizde İ, İR ve G gruplarında, S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. G ve İR gruplarında İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. PMNL için yapılan post hoc analizde İ, İR ve G gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR grubunda İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek, G grubunda İR grubuna göre anlamlı olarak düşük, İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. İVPK için yapılan post hoc analizde İ, İR ve G gruplarında S grubuna göre anlamlı olarak yüksek, İR ve G gruplarında İ grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Gruplar arasında vasküler konjesyon bakımından anlamlı fark bulunmadı. Ginkgo biloba grubunda serozal yağ dokuda hafif derecede PMNL birikimi izlendi (Resim 4.7.).

Tablo 4.9. Sham, İskemi, İskemi-Reperfüzyon ve Ginkgo biloba Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları

Gruplar	VK	H	PLİ	İ/V PK
Grup S	1 (1-2)	0 (0-0) ^{a,b,c}	0 (0-0) ^{a,b,c}	0 (0) ^{a,b,c}
Grup İ	1,5 (1-3)	1,5 (1-3) ^{a,d,e}	2 (1-2) ^{a,d,e}	25 (50) ^{a,d,e}
Grup İR	2,5 (1-3)	2 (2-3) ^{b,d}	3 (2-3) ^{b,d,f}	45 (55) ^{b,d}
Grup G	2,5 (1-3)	3 (1-3) ^{c,e}	2 (2-3) ^{c,e,f}	40 (60) ^{c,e}
p-değeri[†]	0,133	0,002	<0,001	0,015

VK: Vasküler Konjesyon, H: Hemoraji, PLİ: Polimorfonükleer Lökosit İnfiltrasyonu, İ/V PK: İnfarkt /vital Parankim Kaybı, †: Kruskal Wallis testi, a: Grup S ile Grup İ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), b: Grup S ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), c: Grup S ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), d: Grup İ ile Grup İR arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), e: Grup İ ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,01), f: Grup İR ile Grup G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,002).

Resim 4.7. Ginkgo biloba grubunda serozal yağ dokuda hafif derecede PMNL birikimi(HE X 400)



5. TARTIŞMA

Over torsiyonu sık görülmemekle beraber jinekolojik acil cerrahinin ciddi bir sebebidir (220). Kadınlarda herhangi bir yaşta görülebilir. Ancak genelde premenarşal ve reproduktif yıllarda görülmektedir.

Over torsiyonunda klinik bulguların nonspesifik olması geç tanı ve sonuçta müdahalenin gecikmesine yol açar (221). Klinik tanı, genellikle abdominal ağrı ve ultrasonografide ovaryan kitle görünümüyle konulmaktadır. Renkli doppler ultrasonografi (USG) torsiyone bir overde kan akımının olmadığını belirlemede erken tanı ve tedavi için yardımcı olabilmektedir. Kesin tanı laparoskopi veya laparotomi yapılarak torsiyonun gözle görülmesi ile konulur (222). Geleneksel olarak over torsiyonu, torsiyone pedikülden emboli migrasyonu korkusu nedeniyle de torsiyon yapılmadan radikal yolla adneksktomi yapılarak tedavi edilmekte idi.

Over torsiyonu genel olarak reproduktif dönemdeki kadınlarda görülmektedir. Ancak, %15 oranında çocukluk çağında ve %15 oranında postmenopozal dönemde

görülebilmektedir (223). Bu yüzden, cerrahi tedavi uygulanan hastalarda adnekslerin korunması özel önem taşır. Ovaryan torsiyona spesifik herhangi bir laboratuvar bulgusu, radyolojik, ultrasonografik ve doppler akım bulgusu bulunmamaktadır (224). Sonuçta, genellikle tanı ve cerrahi müdahalede geç kalınabilmektedir.

Adnekslerin çıkartılması geleneksel bir yaklaşım olmakla beraber, detorsiyonu takiben konservatif yaklaşımı önerenler de mevcuttur. Bu yazarların belirttiğine göre siyah görünüm ile dokunun canlılığı paralel bulgular değildir ve detorsiyon ile tromboemboli riski artmamaktadır (225). Taşkın ve ark. yaptıkları çalışmada torsiyonun 24. saatine kadar dokunun canlılığını koruduğunu ancak 36. saatte ise nekrozun başladığını tespit ettiler (7). Öte yandan, Kruger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, etkilenmiş dokunun intraoperatif makroskopik görünümü ile histopatolojik bulguların korele olduğu belirtilmiştir (226). Halen cerrahi tedavide konservatif yaklaşım ile adneksin çıkartılması gibi radikal davranılması konusunda fikir birliği yoktur. Descargues ve ark. reproduktif dönemde olan kadınlarda laparoskopik olarak detorsiyon uygulanmasını önermektedirler (227). Bayer ve ark. ise detorsiyon sonrası 10 dakika içerisinde reperfüzyon olduğu takdirde konservatif davranılmasını aksi takdirde adneksiyal eksizyon kararının uygun olacağını belirtmişlerdir (228). Vancaillie ve ark. ise konservatif yaklaşımda buldukları bir olguda overin üçte iki volümünü koruduğunu fakat fonksiyon kaybının olmadığını belirtmişlerdir (229).

Nekroz gelişmesi için overin hangi torsiyon derecesinde ve ne kadar bir süre kalması ile ilgili rakamsal veriler kesin değildir (230-231). Bu nedenle ooferektomi, cerrahi sırasında genellikle makroskopik görünüme bakılarak karar verilen bir durum olmaktadır. Ancak, over torsiyonu veya inkarserasyonu sonucu canlılığını yitirdiği düşünülen ve makroskopik görünüm olarak nekrotik olduğu değerlendirilen overlerde tedavi halen tartışmalıdır (232,233). Ooferektomi yapılması hâlâ uygulanan ve önerilen cerrahi yöntem olmakla beraber, detorsiyon ile konservatif yaklaşım da son yıllarda giderek daha fazla önerilmektedir (234-235).

Bulgularının nonspesifik olması ve kesin bir tanı metodu olmaması nedeniyle sıklıkla tanı gecikmesi yaşanır. Geç tanı konulan ve görünümü itibarı ile nekroz geliştiği kabul edilen olgularda klasik tedavi ooferektomidir (231-234). Overin korunmasına yönelik yaklaşımlardan neredeyse elli yıldan beri söz edilmesine

rağmen, hâlâ yaygın kabul görmemektedir. Erişkinde hele fertil ve çocuk sahibi kadınlarda kısmen sorun olmayan ooforektomi, çocuk yaş grubunda ve her iki overin kaybı düşünüldüğünde oldukça ciddi bir soruna dönüşmektedir.

Son yıllarda jinekolojik cerrahide bazı geriye dönük çalışmalarda koyu-mavi-siyah görünümlü, dolaşımı ileri derece bozulduğu düşünülen overlerin bile detorsiyonu ve takip edilmesi üzerinde durulmaktadır (235-238). İnsan üzerinde torsiyon-detorsiyon olgularında, uzun dönem sonuçlarla etkilenen overlerin histopatolojik durumları hakkında kesin veriler elde edilememektedir. Klinik çalışmalarda detorsiyon sonrası histolojik kontrol çalışmaları yapmak olanaklı olmamakta, ancak güvenilirliği yüksek olmayan doppler USG ile değerlendirme yapılabilmektedir (7).

Over detorsiyonunun ipsilateral over üzerine geç dönemdeki etkileri ile ilgili yapılan bir çalışmada 36 saatlik torsiyonun tamamen nekroz ile sonuçlandığı bildirilmektedir (239). Bu süre klinik olgu sunumları ile karşılaştırıldığında nekroz gelişmesi-torsiyon süresi arasında bir uyumsuzluk dikkati çekmektedir. Kokoska ve arkadaşlarının çalışmasında, semptomlar başladıktan ortalama 44 +/- 4 saat sonra getirilen 51 olgunun tamamına salpingooforektomi uygulanmıştır (233). Buna karşılık, özellikle asenkron over torsiyonlarında tek taraflı ooforektomi sonrası, karşı tarafta da torsiyon olan olgularla başlayan, sonrasında da tüm olgularda konservatif tedavinin önerildiği çalışmalarda overler detorsiyon sonrası sadece doppler USG ile kanlanma açısından izlenebilmiş ve histolojik çalışmalar yapılamamıştır (230,234,240). Bu çalışmalarda overin korunabildiği bildirilen torsiyon süreleri 5 saat (231), 7 saat (233), 18 saat (234), 48 saat (230) gibi değişen sürelerdir. Zhang Z. ve arkadaşlarının deneysel çalışmalarında 96. saatte (241), bir diğer çalışmada ise 72. saatte overde canlı doku tespiti mümkün olmuştur (242).

Deneysel çalışmalarda detorsiyon sonrası geç dönemde karşı overlerde doku hasarının olduğu elektron mikroskopik çalışmalarda gösterilmiştir (241). Klinik olarak da ileri derecede dolaşım bozukluğu veya nekroz geliştiği düşünülen olgularda da detorsiyonla doku kanlanmasının yeniden başladığı ve hormonal aktivite gösterdiğine dair olgu sunumları vardır (240). Aynı çalışmada torsiyone over dokusunda detorsiyon sonrası en son hasar gören ünitenin primer folikül alanları olduğu immünohistokimya incelemesinde belirlenmiştir. Bu nedenle az miktarda potansiyel canlı over dokusunun bile korunabilme ihtimali önemli olmaktadır. Karşı

overin etkilenmesi noktasında da karşı overde yalnızca stromada hasar olduğu, follikül alanlarının normal olduğu detorsiyon sonrası geç dönemde dikkati çekmiştir. Bu nokta şimdiye kadar bilinen bir durum değildir.

Sonuç olarak over torsiyonlarında, detorsiyon yapılarak konservatif yaklaşımın önerilebilir bir uygulama olduğu düşünülmektedir. Torsiyon süresinin 48 saate kadar uzadığı olgularda bile kesin olarak nekroz gelişmediği ve dolayısı ile detorsiyon ile bu overlere bir şans verilmesinin gerektiği söylenebilir. Karşı taraf overlerde follikül alanlarının iskemi-reperfüzyondan etkilenmedikleri de immuhistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir.

Konservatif yaklaşım planlanan olgularda iskemiye durduracak veya geri döndürecek bir ajanın varlığı bu hastalarda tedavi planlanmasına katkıda bulunabilir. Bu amaçla çalışmamızda rat overinde, torsiyon ve detorsiyon oluşturulan deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba'nın etkisi araştırılmıştır.

İskemi-reperfüzyon sonucu dokuda meydana gelen hasar, bu hasarda serbest oksijen radikallerinin rolü ve antioksidanların bu hasarı gidermede etkileri konusunda son yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır. İskemi süresi arttıkça doku hasarının büyüklüğü de artmaktadır. Dokulara göre farklılık göstermekle beraber iskeminin belirli bir süresine kadar doku, geri dönüşebilen doku hasarı fazına, iskemi süresi arttıkça doku geri dönüşümsüz doku hasarı fazına girmektedir. Bu aşamada yeniden perfüzyon sağlansa bile doku hasarı geri dönmemektedir (213). Dokuya tekrar oksijen desteğinin sağlanmasıyla sisteme aniden aşırı miktarda giren oksijen, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Böylece doku hasarı daha da artmaktadır (214). Reperfüzyonla birlikte dokuya gelen lökositlerin serbest radikal oluşumuna neden olarak oksidatif hasarı arttırdığı bilinmektedir. Lökosit toplanmasının inhibe edildiği bir çalışmada hasarın azaltıldığı gösterilmiştir (214).

İskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak ve önlemek için birçok farmakolojik ajanla değişik çalışmalar yapılmıştır. Fakat bildiğimiz kadarıyla literatürde rat overinde, torsiyon detorsiyon modelinde Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Farklı doku ve organ sistemlerinde ise bu maddelerle ilgili gerek reperfüzyon hasarı gerek antioksidan ve antiinflamatuvar etkinlikleri bakımından çeşitli deneysel araştırmalar yapılmıştır.

Daha önceki çalışmalara bakıldığında histopatolojik bulguların daha sıklıkla ödem, nekroz, konjesyon ve kohezyon kaybı şeklinde değerlendirildiğini ve bu parametrelerin şiddet derecesine göre; bulgu olmaması, hafif, orta düzeyde ve ağır olması şeklinde puanlama verilerek, total doku hasarı skoru şeklinde düzenlendiğini görüyoruz. Biz, çalışmamızda doku hasarı açısından, söz konusu parametreleri vasküler konjesyon, hemoraji, PMNL infiltrasyonu ve infarkt-vital parankim kaybı oranını da ekleyerek revize ettik ve total doku hasarını değerlendirmede özellikle infarkt-vital parankim kaybı oranının eklenmesinin daha anlamlı bir değerlendirme sağlayacağını düşündük. Özellikle infarkt-vital parankim kaybı oranına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptadık.

Çalışmamızda her üç ajan için yapılan analizlerde en fazla hasarın İR grubunda görüldüğü öne sürülebilir. İskemi grubuna göre reperfüzyon grubunda daha fazla hasar oluşması serbest radikal hasarı olduğu yönünde yorumlanmış, torsiyon-detorsiyon modelinin hem doğru bir şekilde oluşturulduğunu hem de reperfüzyon hasarının dokuya ek olarak daha fazla zarar verdiğini destekler nitelikte olmuştur. Bu durum, günümüzde over torsiyonun konservatif yöntemi olarak kabul edilen detorsiyone edip, overi yerinde bırakma, (over koruyucu cerrahi) gibi reproduktiviteyi koruyucu yaklaşımları tartışmaya açabilir. İntraoperatif olarak overlerin değerlendirilip, torsiyon derecesine ve overin görünümüne göre belki de aşamalı olarak detorsiyon veya kısmi detorsiyon gündeme gelebilir. Ve ya detorsiyona ek olarak önce başka cerrahi teknik veya reperfüzyon hasarını sınırlayıcı medikal tedaviler denenebilir.

Çalışmamızda yapılmış benzer çalışmalar referans gösterilerek iskemi süresi 3 saatle sınırlı tutulmuş, reperfüzyon süresi de 3 saat olarak belirlenmiştir. Biz çalışmamızı iskemi-reperfüzyon hasarında geri dönüştürülebilir süreç kapsamında tasarladık ve reperfüzyonun erken dönem sonuçları, detorsiyonun overi kurtarıcı yöndeki başarısı ve yine benzer olarak kullanılan antioksidan özelliği güçlü bu maddelerin ovaryan hasarı geri dönüştürülebilir evre kapsamında etkinliklerini incelemeyi hedefledik.

Çalışmamızda gruplardan elde edilen verilerin sonucuna göre; Curcumin grubunda antioksidan enzim olan serum katalaz düzeyleri, iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken doku katalaz düzeyleri

iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Oksidasyon ürünü olan serum MDA seviyesinin ise iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Patoloji sonuçlarına bakıldığında Curcumin grubunda, iskemi reperfüzyon grubuna göre infarkt-vital parankim kaybı oranının anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. Yine iskemi sonrası dokuda görülen polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterildi. Hemorajinin ise iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı.

Doku sonuçlarında Curcumin'in reperfüzyon grubuna göre belirgin olarak over parankimini koruyucu etkisi olduğu, infarktı anlamlı olarak engellediği izlendi. Lökosit infiltrasyonunun yine reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak azalmış olması Curcumin'in bu özelliğini destekler nitelikteydi. Olgularda vital parankimin korunduğu ve lökosit infiltrasyonun belirgin şekilde azaldığı izlense de hemoraji açısından Curcumin grubunda olumlu yönde bir etki izlenmedi. Vasküler konjesyon reperfüzyon grubuna göre azalmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tüm bu bulgular beraber değerlendirilerek, özellikle infarkt-vital parankim kaybının anlamlı olarak azalması göz önüne alındığında Curcumin'in iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkinliğinin olduğu söylenebilir. Literatürde Curcumin ile ilgili yapılan araştırmalara kısaca değinmek gerekirse;

Curcumin ile ilgili daha önceden yapılmış bazı çalışmalar ratlarda testis, karaciğer, böbrek, ince barsak, beyin, spinal kord, retina gibi dokularda Curcumin'in güçlü antiiskemik, antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerini göz önüne sermiştir. Si-Ming Wei ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ratlarda oluşturulan deneysel testis torsiyonunda iskemi-reperfüzyon hasarında Curcumin'in koruyucu etkinlikleri araştırılmış ve Curcumin verilen ratlarda oksidasyon enzimi olan XO ve oksidasyon ürünü olan MDA seviyelerinin azaldığı ve spermatogenezisin arttığı rapor edilmiştir (153). Başka bir çalışmada Curcumin'in antiiskemik etkisi gösterilmeye çalışılmış ve deneysel olarak rat beyninde median serebral arter oklüzyonu oluşturularak iskemi sağlanmıştır. Curcumin ile tedavi edilen grupta beyin iskemi oranının % 33'ten % 24'e gerilediği ve corpus striatum ve serebral korteksteki antioksidan enzim olan SOD seviyelerinde anlamlı artış olduğu gösterilmiştir (214). Jing Zhao ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Curcumin'in fokal serebral iskemide, iskemi-

reperfüzyon hasarında etkinlikleri araştırılmış ve Curcumin'in nörolojik skorda artış sağladığı, serebral infarkt volümünü azalttığı, MDA seviyesini azalttığı tespit edilmiştir (215). Bir diğer çalışmada bilateral renal iskemi oluşturulmuş ve Curcumin'in deneysel olarak oluşturulan akut böbrek yetmezliği tablosunda ve sonrasında gelişen reperfüzyon hasarında koruyucu etkinlikleri araştırılmıştır. Reperfüzyon grubuna göre kıyaslandığında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerindeki azalmanın gerilediği gösterilmiş ve histopatolojik olarak da normal morfolojide renal dokular izlendiği tespit edilmiştir (155). Heena D. Panchal ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, Curcumin'in nörogloma hücrelerinde antioksidatif ve antiproliferatif etkinliğinin olduğu, nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkilerinden faydalanılabileceği belirtilmiştir (216). Başka bir çalışmada, Curcumin'in erken ve geç dönemde rat hipokampusünde iskemiyle indüklenmiş nöronal hasara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (217).

Erdosteine grubuna bakıldığında; dokudan alınan örneklerde NO seviyelerinin iskemi grubuna göre anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Serum NO seviyeleri ise iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Serum ve doku katalaz düzeyleri ise, iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Patoloji sonuçlarına göre bakıldığında Erdosteine grubunda, infarkt-vital parankim kaybı ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Erdosteine grubunda polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun iskemi grubuna göre azaldığı görülürken bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Reperfüzyon grubuna göre lökosit infiltrasyonunun belirgin olarak azalmış olması parankimin korunduğunu destekler nitelikteydi. Olguların büyük çoğunluğunda vital parankimin korunduğu ve lökosit infiltrasyonunun belirgin şekilde azaldığı izlense de hemoraji açısından Erdosteine grubunda olumlu bir etki izlenmedi. Vasküler konjesyon reperfüzyon grubuna göre azalmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tüm bu bulgular beraber değerlendirildiğinde, serum belirteçlerinde olumsuz bulgular olmakla birlikte özellikle histopatolojik bulgulara dayanarak Erdosteine'in iskemi-reperfüzyon hasarında ovarian doku üzerinde koruyucu etkinliğinin olduğu söylenebilir.

Erdosteine ile ilgili çeşitli çalışmalarda, böbrek ve akciğer gibi dokularda Erdosteine'in antioksidan, anti-iskemik ve mukolitik etkiler ortaya konulmaya

çalışılmıştır. Yurdakul ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Erdosteine'in böbrek iskemisi-reperfüzyon hasarında antiiskemik etkisi gösterilmiştir (197). Erdosteine lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu engellerken, MDA ve XO aktivitesini azaltmış ve SOD aktivitesini arttırmıştır. Tunç ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Erdosteine'in intestinal iskemisi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinliği araştırılmış ve çalışma sonucunda Erdosteine'in intestinal hasarı belirgin olarak azalttığı ve yükselen MDA, NO seviyelerini düşürdüğü SOD ve GPx seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir (168). Benzer olarak Şenel ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Erdosteine'in ratlarda deneysel olarak oluşturulan kolonik inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (218). Karapolat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ratlarda oluşturulan CO₂ pnömoperitoneumunda gelişen oksidatif strese karşı Erdosteine'in koruyucu olduğu, alveolar hemoraji, ödem ve lökosit infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (219). Sırmalı ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Erdosteine'in iskemisi-reperfüzyonla indüklenmiş akciğer hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (171).

Ginkgo biloba grubunda, serum katalaz seviyesinin iskemisi ve iskemisi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu, doku katalaz düzeylerinin de iskemisi grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Doku örneklerinde, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu iskemisi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunsa da, infarkt-vital parankim kaybı yönünden iskemisi veya iskemisi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı fark saptanmadı. Benzer olarak iskemisi grubuna göre hemorajinin anlamlı olarak arttığı saptandı. Sonuç olarak tüm bu bulgular beraber değerlendirildiğinde, serum ve doku belirteçleri göz önüne alındığında Ginkgo biloba'nın iskemisi-reperfüzyon hasarında ovarian doku üzerinde koruyucu etkinliği ortaya konulamamıştır.

Ginkgo biloba ile ilgili yapılmış çalışmalarda ratlarda kalp, beyin, karaciğer, barsak, böbrek vb. organlarda iskemisi-reperfüzyona bağlı hasarda antiiskemik ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiştir. Geng ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 24 saat iskemisiye maruz bırakılan rat kalp hücrelerinde reoksijenizasyon sonrası Ginkgo biloba'nın mitokondri bağımlı kaspaz yolunu engelleyerek kalp kası hücrelerinde apoptozu engellediği, apoptotik hücrelerin ölümünü kolaylaştırdığı

tespit edilmiştir (187). Şener ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 45 dk. iskemi ve 6 saat reperfüzyona maruz bırakılan rat böbreklerinde Ginkgo biloba verilen ratlarda serum BUN ve kreatinin seviyelerindeki artışın engellendiğini, GSH seviyelerinin arttığını ve MDA seviyelerinin düştüğünü ve histopatolojik olarak da böbrek hasarının düzeldiğini göstermişlerdir (188). Saleem ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 7 gün boyunca Ginkgo biloba ile beslenen ve geçici middle cerebral arter oklüzyonu oluşturulan ratlarda anlamlı olarak daha az nörolojik disfonksiyon ve daha az infarkt volümü saptandığı kaydedilmiştir (189). Özmert ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada % 100 CO₂'ye maruz bırakılarak intestinal iskemi oluşturulan ve 3 gün boyunca Ginkgo biloba ile beslenen ratlarda, intestinal dokularda histopatolojik hasar skorunun anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (190). Keleş ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 90 dk. boyunca hepatik iskemi oluşturulan ardından reperfüzyona maruz bırakılan ve Ginkgo biloba verilen ratlarda serum ALT, AST, LDH seviyelerinin düştüğü, dokuda oksidasyon ürünlerinin göstergesi olan thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) seviyelerinin azaldığı, dolayısıyla post iskemik-reperfüzyon hasarının önlenmesinde etkin olduğu gösterilmiştir (191).

Over torsiyonu, henüz fertilitasını tamamlamamış reproduktif dönemdeki kadınlarda görülen önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir. Son zamanlarda popülaritesi giderek artan ve daha çok gündeme gelen over koruyucu yaklaşımlar, özellikle Curcumin ve Erdosteine'in oksidatif hasar üzerine olan etkinliklerinin prospektif çalışmalarla desteklenmesi ve daha detaylı olarak incelenmesi, ovaryan torsiyonun yönetiminde yeni tedavi modalitelerini gündeme getirebilir.

6. SONUÇLAR

1- Çalışmamızda rat overinde torsiyon-detorsiyon sonucunda deneysel olarak oluşturulan iskemi-reperfüzyon modelinde Curcumin, Erdosteine ve Ginkgo biloba'nın etkileri araştırılmıştır.

2- Çalışmamızda, tüm gruplarda, İR grubunda iskemi grubundan daha fazla hasarın görülmüş olması, günümüzde ovaryan torsiyonun konservatif yöntemi olarak kabul edilen detorsiyone edip, overi yerinde bırakma, (over koruyucu cerrahi) gibi reproduktiviteyi koruyucu yaklaşımları tartışmaya açabilir. İntraoperatif olarak overlerin değerlendirilip, torsiyon derecesine ve overin görünümüne göre belki de aşamalı olarak detorsiyon veya kısmi detorsiyon gündeme gelebilir. Aynı zamanda iskemi-reperfüzyon hasarını önleyebilecek ya da azaltabilecek bir takım ajanların kullanımı da over dokusunun korunmasına katkıda bulunabilir.

3- Curcumin grubunda antioksidan enzim olan serum katalaz düzeyleri, iskemi ve

iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, doku katalaz düzeyleri iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Oksidasyon ürünü olan serum malondialdehit seviyesinin ise iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Patoloji sonuçlarına bakıldığında Curcumin grubunda, iskemi reperfüzyon grubuna göre infarkt-vital parankim kaybı oranının anlamlı olarak azaldığı, yine iskemi sonrası dokuda görülen polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterildi. Hemorajinin ise iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı. Elde edilen histopatolojik ve biyokimyasal veriler doğrultusunda, Curcumin'in rat overinde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu söylenebilir.

4- Erdosteine grubunda dokudan alınan örneklerde NO seviyelerinin iskemi grubuna göre anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Serum NO seviyeleri ise iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Serum ve doku katalaz düzeyleri ise, iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Patoloji sonuçlarına bakıldığında Erdosteine grubunda, infarkt-vital parankim kaybı ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Özellikle, elde edilen histopatolojik veriler doğrultusunda, Erdosteine'in rat overinde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu söylenebilir.

5- Ginkgo biloba grubunda, serum katalaz seviyesinin iskemi ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu, doku katalaz düzeylerinin de iskemi grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Doku örneklerinde, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunsada, infarkt-vital parankim kaybı yönünden iskemi veya iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı fark saptanmadı. Benzer olarak iskemi grubuna göre hemorajinin anlamlı olarak arttığı saptandı. Sonuç olarak tüm bu bulgular beraber değerlendirildiğinde, serum ve doku belirteçleri göz önüne alınarak, Ginkgo biloba'nın iskemi-reperfüzyon hasarında ovarian doku üzerinde koruyucu etkinliği ortaya konulamamıştır.

6- Curcumin ve Erdosteine'in oksidatif hasar üzerine olan etkinliklerinin prospektif çalışmalarla desteklenmesi ve daha detaylı olarak incelenmesi, ovaryan torsiyonun yönetiminde yeni tedavi modalitelerini gündeme getirebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim 2009; 2: 3 – 8.
2. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-83.
3. Kukan M. Emerging roles of proteasomes in ischemia-reperfusion injury of organs. J Physiol Pharmacol 2004; 55: 3-15.
4. Stokes KY, Granger DN. Hypercholesterolemia, its impact on ischemia reperfusion injury. Expert Rev Cardiovasc Ther 2005; 3: 1061-70.
5. 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: 600-612.
6. Cass DL. Ovarian Torsion. Semin Pediatr Surg 2005; 14: 86-92.
7. 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: 2823-2827.
8. Graif M, Shalev J, Engelberg S, Mashiach S, Itzhak Y. Torsion of the ovary: sonographic features. *Am J Roentgenol* 1984; 143: 1331-1334.
 9. Berek JS, *Novak's Gynecology*, Lippincott Williams & Wilkins, 13th edition 2002; 144-146.
 10. Gökmen G. *Sistemik Anatomi*, İzmir Güven Yayınevi. 2003; 45-51.
 11. Hasiakos D, Papakonstantinou K, Kontoravdis A, Gogas L, Aravantinos L, Vitoratos N: Adnexal torsion during pregnancy, Report of four cases and review of the literature. *J Obstet Gynaecol Res* 2008; 34: 683-687.
 12. Halici Z, Karaca M, Keles ON, Borekci B, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y, Unal B.: Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary, biochemical and histopathologic evaluation. *Fertil Steril* 2008; 90: 2408-2415.

 13. 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: 794-800.
 14. Karaca M, Odabasoglu F, Kumtepe Y, Albayrak A, Cadirci E, Keles ON. Protective effects of erythropoietin on ischemia/reperfusion injury of rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 144: 157-162.
 15. Somuncu S, Çakmak M, Dikmen G, Akman H, Kaya M. Ischemia-reperfusion injury of rabbit ovary and protective effect of trapidil: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2008; 24: 315-318.
 16. Aggarwal B.B, Kumar A. and Bharti A.C. Anticancer potential of curcumin, Preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2003; 23: 363.
 17. Abe Y, Hashimoto S, Horie T. Curcumin inhibition of inflammatory cytokine production by human peripheral blood monocytes and alveolar macrophages. *Pharmacol. Res*, 1999; 39: 41-47.
 18. Aggarwal B.B., Sundaram C., Malani N., Ichikawa H. Curcumin, *The Indian Solid Gold. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in*

- Health and Disease. Ed. By Aggarwal B.B., Surh Y. C. Shishodia S. *Advances Exp. Med. And Bio* 2006; 595: 1-75.
19. Iglesi M, Nicola M, Fregnan GB, Bradamante S, Pagani G. Synthesis and free radical scavenging properties of the enantiomers of erdosteine. *Farmaco* 1994; 40: 703-708
 20. Hosoe H, Kaise T, Ohmori K, Isohama Y, Kai, Takahama K, MIYATA t. Mucolytic and antitussive effects of erdostein. *J Pharm Phamacol* 1999; 51: 959-966
 21. Scuri R, Giannetti P, Paesano A. Effect of erdosteine and its metabolites on tracheobronchial mucus production and transport. *Drug Ext Clin Res* 1988; 14: 693-69
 22. Smith JV, Luo Y. Studies on molecular mechanisms of Ginkgo biloba extract. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004; 64: 465-472
 23. Waugh A, Grant A., Ross and Wilson *Anatomy and Physiology in Health and Illness*, 9th edition, Churchill Livingstone 2001; 9: 121-126.
 24. Standring S. *Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice*, 39th edition, Elsevier Churchill Livingstone 2005; 39: 134-137.
 25. Saksouk FA, Johnson SC. Recognition of the ovaries and ovarian origin of pelvic masses with CT. *Radiographics*.2004; 1: 133-146.
 26. Auersperg N, Wong AS, Choi KC, Kang SK, Leung PC. Ovarian surface epithelium, biology, endocrinology, and pathology. *Endocrine Reviews*. 2001; 22: 255-288.
 27. Liu JP, Li H. Telomerase in the ovary. *Reproduction* 2010; 140: 215-222.
 28. Nishida T, Nishida N.: Reinstatement of "germinal epithelium" of the ovary. *Reprod Biol Endocrinol* 2006; 4: 42.
 29. Bukovsky A, Caudle MR, Svetlikova M, Upadhyaya NB. Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2004; 2: 20.
 30. Espey LL. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biology of Reproduction* 1994; 50: 233- 238.

31. Hassa H, İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları, Osmangazi Üniversitesi Yayınları 2003; 9: 84-91.
32. Hardy K, Wright CS, Franks S, Winston RM.: In vitro maturation of oocytes. Br Med Bull 2000; 56: 588-602.
33. Ganong WF, Review of Medical Physiology, 20th edition, McGraw-Hill 2001; 20: 131-136.
34. Hawkins SM, Matzuk MM. The menstrual cycle: basic biology. Ann N Y Acad Sci 2008; 1135: 10-8.
35. Uzumcu M, Zachow R. Developmental exposure to environmental endocrine disruptors: consequences within the ovary and on female reproductive function. Reprod Toxicol 2007; 23: 337-352.
36. Shier D, Butler J, Lewis R, Human Anatomy and Physiology, 9th edition, The McGraw-Hill 2001; 9: 34-39.
37. Vicdan K, Işık AZ, İn Vitro Fertilizasyon ve Mikromanipulasyon Uygulamalarında Laboratuvar, 1. Baskı, Çağdaş Medikal Yayın Dağıtım 1999; 5: 34-40.
38. Moore KL, Persaud TVN. Before We Are Born, 7th edition, Saunders Elsevier 2008; 7: 101-103.
39. Laven JS, Fauser BC. What role of estrogens in ovarian stimulation. Maturitas 2006; 54: 356-362.
40. Despopoulos A, Silbernagl S. Color Atlas of Physiology, 3th edition, Thieme 2003; 3: 69-73.
41. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology, 11th edition, Elsevier Saunders 2006; 11: 32-38.
42. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH, Larsen's Human Embryology, Churchill Livingstone, 4th edition 2009; 4: 46-51.
43. Oktem O, Oktay K. The ovary. New York Academy of Sciences, 2008; 1127: 1-9.
44. Delilbaşı L. İn vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri, Güneş Tıp Kitabevleri 2008; 3: 121-126.
45. Hawkins SM, Matzuk MM. The menstrual cycle: basic biology. Ann N Y Acad Sci 2008; 1135: 10-8.

46. Hillier SG. Paracrine support of ovarian stimulation. *Molecular Human Reproduction* 2009; 15: 843- 850.
47. Palermo R. Differential actions of fsh and lh during folliculogenesis. *Reproductive BioMedicine* 2007; 15: 326 - 337.
48. Hoyer PB. Damage to ovarian development and function. *Cell Tissue Research*, 2004; 322: 99- 106.
49. Gardner DK *İn Vitro Fertilizasyon Pratik Yaklaşım*, (Çev: Serdaroğlu H.), Hayat Tıp Kitapçılık 2008; 4: 15-18.
50. Yıldırım , *Klinik İnfertilite*, 2. Baskı, Eryılmaz Ofset 2000; 2: 76-79.
51. Kahraman S, Karlıkaya G, *Ovülasyon İndüksiyonu*, Serono Yayınları 2009; 1: 32-35.
52. Messinis IE, Messini CI, Dafopoulos K.: The role of gonadotropins in the follicular phase. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1205: 5-11.
53. Hassa H. *İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları*, Osmangazi Üniversitesi Yayınları 2003; 8: 87-89.
54. Shier D, Butler J, Lewis R., *Human Anatomy and Physiology*, 9th edition, The McGraw-Hill 2001; 9: 65-69.
55. Widmaier EP, Raff H, Strang KT, Vander et al's *Human Physiology, The Mechanisms of Body Function*, 9th edition, McGraw-Hill 2004; 9: 131-139.
56. Scanlon VC, Sanders T. *Essentials of Anatomy and Physiology*, 5th edition, F. A. Davis 2007; 5: 45-57.
57. Oktem O, Oktay K. The ovary. *New York Academy of Sciences* 2008; 1127:1-9.
58. Yıldırım M, *Klinik İnfertilite*, 2. Baskı, Eryılmaz Ofset 2000; 2: 54-61.
59. Devoto L, Kohen P, Muñoz A, Strauss JF 3rd. Human corpus luteum physiology and the luteal-phase dysfunction associated with ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online* 2009; 18: 19-24.
60. Dudek RW. *High-Yield Histology*, 2nd edition, Lippincott Williams and Wilkins 2000; 2: 43-51.
61. Moore KL, Persaud TVN, *Before We Are Born*, 7th edition, Saunders Elsevier 2007; 7: 130-134.

62. Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO, Basic Histology, 8th edition, Appleton & Lange 1995; 8: 54-58.
63. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI, Histology A Text And Atlas, 3rd edition, Williams and Wilkins 1995; 3: 45-50.
64. Katori M, Berne RM. Release of adenosine from anoxic hearts: Relationship to coronary flow. *Circ Res* 1966; 19: 420-425.
65. Mubagwa K, Flameng W. Adenosine, adenosine receptors and myocardial protection, an updated overview. *Cardiovasc Res* 2001; 52: 25-39, 2001.
66. Guido M, Isabella J, Ovid. *Cells, Tissues and Disease, Principles of General Pathology*, 2nd edition, Oxford University Press 2004; 2: 91-99.
67. 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. *FEBS J* 2009; 276: 46-57.
68. Krnjevic K. Early effects of hypoxia on brain cell function. *Croat Med J* 1999; 40: 375-380.
69. Asano G, Takashi E, Ishiwata T, Onda M, Yokoyama M, Naito Z, Ashraf M, Sugisaki Y. Pathogenesis and protection of ischemia and reperfusion injury in myocardium. *J Nippon Med Sch* 2003; 70: 384-392, 2003.
70. Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain. *Brain Res Bull* 1999; 48: 233-238.
71. 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: 519-27.
72. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras* 2005; 20: 336-343.
73. Çağlı K, Özeke Ö, Aras D, Çağlı K. Miyokardiyal Reperfüzyon Hasarı. *Türk J Cardiol* 2007; 10: 131-140.
74. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 2003; 75: 644-648.

75. Akkoç H. İskemik Önkoşullama Mekanizmaları. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 2007; 27: 165-176.
76. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 448-460.
77. Das M, Das D. Molecular mechanism of preconditioning. *IUBMB Life* 2008; 60: 199-203.
78. Rixsen NP, Smiths P, Rongen GA. Ischaemic preconditioning: from molecular characterisation to clinical application-part I. *Neth J Med* 2004; 62: 353-363.
79. Davies KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage, removal, repair and replacement systems. *IUBMB Life* 2000; 50: 279-289.
80. Flaherty, J.T. Myocardial injury mediated by oxygen free radicals. *Am. J. Med.*1991; 91: 79.
81. Kazui M, Andreoni K A, Williams G M, Perler B A, Bulkley G B, Beattie C, Donham R T, Sehnert S S, Burdick J F, Risby T H. Visceral lipid peroxidation occurs at reperfusion after supraceliac aortic cross-clamping. *J. Vasc. Surg.* 1994;19: 473.
82. Parmley L F. *Can. J. Cardiol.*1992; 8: 280.
83. Coghlan J.G, Flitter WD, Clutton S M, Panda R, Daly R, Wright G, Ilsey C D, Slater T F. Allopurinol pretreatment improves postoperative recovery and reduces lipid peroxidation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J. Thorac. Cardiovas. Surg* 1994; 107: 248 56.
84. Rashid M A and W-O. Goran. Influence of allopurinol on cardiac complications in open heart operations. *Ann. Thorac. Surg* 1991; 52: 127.
85. J Vanhaecke, F Van de Werf, A Ronaszeki, W Flameng, E Lesaffre, and H De Geest. Effect of superoxide dismutase on infarct size and postischemic recovery of myocardial contractility and metabolism in dogs. *J. Am. Coll. Cardiol* 1991; 18: 224-30.
86. Euler D E. Role of oxygen-derived free radicals in canine reperfusion arrhythmias. *Am J. Physiol* 1995; 268: 295.

87. Pollak R, Andrisevic J H, Maddux M S, Gruber S A, Paller M S. A randomized double-blind trial of the use of human recombinant superoxide dismutase in renal transplantation. *Transplantation* 1993; 55: 57-60.
88. Land, W, Schneeberger H, schleibner S, Illner W D, Abendroth D, Rutili G, Arfors K E, Messmer K. The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994; 57: 211.
89. Flaherty, J. T, Pitt B, Gruber J W, Heuser R R, Rothbaum D A, Burwell L R, George B S, Kereiakes D J, Deitchman D, Gustafson N. Recombinant human superoxide dismutase fails to improve recovery of ventricular function in patients undergoing coronary for acute myocardial infarction. *Circulation* 1994; 89: 1982.
90. Formigli, J.T. Lombardo L D, Adembri C, Brunelleschi S, Ferrari E, Novelli G P. Neutrophils as mediators of human skeletal muscle ischemia-reperfusion syndrome. *Human Path* 1992; 23: 627-34.
91. Fabiani, J.N. Farah B, Vuilleminot A, Lecompte T, Emerit I, Chardigny C, Carpentier A. Chromosomal aberrations and neutrophil activation induced by reperfusion in the ischaemic human heart. *Eur. Heart. J* 1993; 14: 12-17.
92. Seekamp, A. J S Warren J S, Remick D G, Till G O, Ward P A. Requirements for tumor necrosis factor alfa and interleukin-1 in limb ischemia reperfusion injury and associated lung injury. *Am J. Pathol* 1993; 143: 453.
93. Hartman J C, Anderson D C, Wiltse A L, Lane C L, Rosenbloom C L, Manning A M, Humphrey W R, Wall T M, Shebuski R J. Protection of ischemic/reperfused canine myocardium by CL18/6, a monoclonal antibody to adhesion molecule ICAM-1. *Cardiovasc. Res* 1995; 30: 47-54.
94. Nakano H, Kuzume M, Namatame K, Yamaguchi M K. Efficacy of intraportal injection of anti-ICAM-1 monoclonal antibody against liver cell injury following warm ischemia in the rat. *Am J Surg* 1995; 170: 64-69.
95. J W Horton, N M Garcia, D J White and J Keffer . Postburn cardiac contractile function and biochemical markers of postburn cardiac injury. *J Am. Coll. Surg.*

- 1995; 181: 289-98. 96. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Konya 1995; 1: 73.
97. Smith C. Oksijen toksitesisi ve serbest radikal örsentisi. Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası. İnal Erden M, Atik U, Aksoy N, Haşimi A (ed). Güneş tıp kitabevleri. 2. Baskı, Ankara 2007; 2: 439 - 457.
98. Halliwell B. Reactive oxygen species and central nervous system. J Neurochem 1992; 59: 1609 - 1623.
99. Smith C. Oksijen toksitesisi ve serbest radikal örsentisi. Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası. İnal Erden M, Atik U, Aksoy N, Haşimi A (ed). Güneş tıp kitabevleri. 2. Baskı, Ankara 2007; 2: 439 - 457.
100. Erden M. Serbest radikaller. T Klin Tıp Bilimleri 1992; 12: 201 - 207.
101. Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye klinikleri 1989; 9: 1 - 8.
102. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Konya 1995; 1: 73.
103. Dugan LL, Choi WD. Excitotoxicity, free radicals, and cell membrane changes. Ann Neurol 1994; 35: 17 - 21.
104. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. T Özal Tıp Merkezi Dergisi 1997; 4: 453 - 461.
105. Çekmen BM. Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS)'ın fizyolojik ve patolojik özellikleri. T Klin Pediatri 2001; 10: 226 - 236.
106. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik oksit: fizyolojisi ve klinik önemi. T Klin Tıp Bilimleri 1997; 17: 115 - 119.
107. Jurcau A. Acute cerebral ischemia and oxidative stres. Ro j Neurol 2008; 2: 45 56.
108. Valko M, Rhodes Cj, Moncol J, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres- induced canser. Chem Biol Interact 2006; 160: 1 - 40.
109. Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as biomarkers of Tissue Damage. Clin Chem 1995; 4112: 1819 - 1828.

110. Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. *Toxicol Lett* 2003; 137: 169 - 174.
111. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman. Oxygene radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526 - 545.
112. Barber D, Harris S. Oxygen free radicals and antioxidants A review. *Am Pharm* 1994; 34: 26 - 35.
113. Ceballos I, Picot J, Trivier M, Nicole A. Age-correlated modifications of copperzinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1992; 38: 66 - 70.
114. Petkau A. Scientific basis fort the clinical use of superoxide dismutase. *Cancer Treat Rev* 1986; 13: 17 - 44.
115. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121 - 126.
116. Cadirci E. Atorvastatin reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion, biochemical and histopathologic evaluation, *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* 2010; 381: 455–466
117. Turkoz Y. Melatonin reduces torsion–detorsion injury in rat ovary, biochemical and histopathologic evaluation *J. Pineal Res.* 2004; 37: 137–141
118. Bakan V. Protective effect of erythropoietin on torsion/detorsion injury in rat model *Journal of Pediatric Surgery* 2009; 44: 1988–1994
119. Arıkan DC. Protective effect of tadalafil on ischemia/reperfusion injury of rat ovary, *Journal of Pediatric Surgery* 2010; 45: 2203–2209
120. Oral A. 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.
121. Celik O. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in rat ovary *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2004; 117: 183–188
122. Ergun Y. The protective effect of erythropoietin and dimethylsulfoxide on ischemia-reperfusion injury in rat ovary, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2010; 152: 186–190

123. Cosar E. The protective effect of α -lipoic acid in experimental ovarian ischaemia-reperfusion injury, Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology 2007; 47: 499–503
124. Usta U. Tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion, effects of L-carnitine and N-acetyl cysteine, Pediatr Surg Int 2008; 24:567–573.
125. Aggarwal B.B., Sundaram C., Malani N., Ichikawa H. 2006. Curcumin, The Indian Solid Gold. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. Ed. By Aggarwal B.B., Surh Y. C., Shishodia S. Advances Exp. Med. And Bio 2006; 595: 1-75.
126. Hamper D, IN (ed). Magic and Medicine of Plants. Pleasantville, NY, Reader's Digest Association 1986; 5: 131-133.
127. Srimal R.C., Dhawan B.N. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. J. Pharm. Pharmacol. 1973; 25: 447-452.
128. Leung A. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics. New York, Wiley 1980; 4: 313-314
129. Lampe V. and Milobedzka J. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1913; 46: 2235.
130. Lampe V., Milobedeska J. and Kostanecki V. Ber. Dtsch. Chem. Ges 1910; 43: 2163.
131. Vogel and Pelletier. J. Pharm 1815; 2: 50.
132. Vogel C., Donat S., Döhr O., Kremer J., Esser C., Roller M. and Abel J. Effect of subchronic 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure on immune system and target gene responses in mice: calculation of benchmark doses for CYP1A1 and CYP1A2 related enzyme activities. Archives of Toxicology 1997; 71: 372-382.
133. Sharma R.A., Steward W.P. and Gescher A.J Pharmacokinetics And Pharmacodynamics Of Curcumin. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. Ed. By Aggarwal B.B., Surh Y. C., Shishodia S. Advances Exp. Med. And Bio 2006; 595: 453-470.
134. Wahlstrom B. and Blennow G. A study on the fate of curcumin in the rat. Acta Pharmacol. Toxicol 1978; 43: 86-92.

135. Milobedzka J., Kostanecki V., and Lampe V. Structure. Chem. Ber 1996; 43: 2163.
136. Holder G.M., Plummer J.L., and Ryan A.J. The metabolism and excretion of curcumin [1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6- heptadiene-3,5-dione] in the rat. Xenobiotica 1978; 8: 761-768.
137. Ireson C., Orr S., Jones D.J., Verschoyle R., Lim C.K., Luo J.L., Howells L., Plummer S., Jukes R., Williams M., Steward W.P. and Gescher A. Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production. Cancer Res 2001; 61: 1058-1064.
138. Wang F., Wu X., Wang F., Liu S., Jia Z., Yang J. The sensitive method for the determination of curcumin using the enhancement of mixed micelle. J. Fluoresc 2006; 16: 53-59.
139. Wang Y.J., Pan M.H., Cheng A.L., Lin L.I., Ho Y.S., Hsieh C.Y., Lin J.K. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. J. Pharm. Biomed. Anal 1997; 15: 1867-1876
140. Wright J.S Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. J. Mol. Struct. (Theochem) 2002; 591: 207-217.
141. Gukovsky I., Reyes C.N., Vaquero E.C., Gukovskaya A.S. and Pandol S.J. Curcumin ameliorates ethanol and nonethanol experimental pancreatitis. Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol 2003;284: 85-90.
142. Joe B., Rao U.J., and Lokesh B.R. Presence of an acidic glycoprotein in the serum of arthritic rats: modulation by capsaicin and curcumin. Mol. Cell Biochem 1997; 169: 125-134.
143. Holt P.R., Katz S., and Kirshoff R. Curcumin therapy in inflammatory bowel disease, A pilot study. Dig. Dis. Sci 2005; 50: 2191-2193.
144. Sugimoto H.H, Tozawa K., Aoshi T., Uchijima M., Nagata T., and Koide Y. 2002. Curcumin prevents K. and ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice. Gastroenterology 2002; 123: 1912-1922.

145. Kim D.C., Kim S.H., Choi B.H, Baek N.I., Kim D., Kim M.J. and Kim K.T. Curcuma longa extract protects against gastric ulcers by blocking H2 histamine receptors. *Biol. Pharm. Bull* 2005; 28: 2220–2224.
146. Lee J.J., Huang W.T., Shao D.Z., Liao J.F., and Lin M.T. Blocking NF-kappaB activation may be an effective strategy in the fever therapy. *Jpn. J. Physiol* 2003; 53: 367-375.
147. Ram A., Das, M. and Ghosh, B. Curcumin attenuates allergen-induced airway hyperresponsiveness in sensitized guinea pigs. *Biol. Pharm. Bull* 2003; 26: 1021-1024.
148. Tourkina E., Gooz P., Oates J.C. Ludwicka-Bradley A., Silver R.M. and Hoffman S. Curcumin-induced apoptosis in scleroderma lung fibroblasts, role of protein kinase cepsilon. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol* 2004; 31: 28-35.
149. Bosman B. Testing of lipoxxygenase inhibitors, cyclooxygenase inhibitors, drugs with immunomodulating properties and some reference antipsoriatic drugs in the modified mouse tail test, an animal model of psoriasis. *Skin Pharmacol* 1994; 7: 324-334.
150. Verbeek R., Van Tol E.A. and van Noort J.M. Oral flavonoids delay recovery from experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL mice. *Biochem. Pharmacol* 2005; 70: 220-228.

151. Kuroda M., Mimaki Y., Nishiyama T., Mae T., Kishida H., Tsukagawa M., Takahashi K., Kawada T., Nakagawa K., and Kitahara M. Hypoglycemic effects of turmeric (*Curcuma longa* L. rhizomes) on genetically diabetic KK-Ay mice. *Biol. Pharm. Bull* 2005; 28: 937-939.
152. Surh Y. and Chun K. Cancer Chemopreventive Effects of Curcumin. *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*. Ed. By Aggarwal B.B., Surh Y. C., Shishodia S. *Advances Exp. Med. And Bio* 2006; 595: 149-172.
153. Si-Ming Wei, Curcumin attenuates ischemia–reperfusion injury in rat testis, *Fertility and Sterility* 2009; 91: 1.

154. Zhao J, Zhao Y, Zheng W, Lu Y, Feng G, Yu S. Neuroprotective effect of curcumin on transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 2008; 1229: 224-32.
155. Bayrak O. Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys, *World J Urol* 2008; 26:285–291.
156. Shi-Qiang Shen, Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes, *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1953-1961.
157. Yong Sook Kim, The Protective Effect of Curcumin on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, *Korean Circ J* 2008; 38: 353-359.
158. Ghoneim AI, Abdel-Naim AB, Khalifa AE et al Protective effects of curcumin against ischaemia/reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol Res* 2002; 46: 273–279.
159. De Bernardi VM, Pharmacokinetics of erdosteine in fasting and unfasting healthy volunteers after single and oral treatments. *Medical Praxis* 1992; 13: 77-98.
160. Dechant K, Noble S. Erdosteine. *Drugs* 1996; 52: 875-881.
161. Inglesi M, Nicola M, Fregnan G, Bradamante S, Pagani G, Synthesis and free radical scavenging properties of the enantiomers of erdosteine. *Farmaco* 1994; 40: 703-708.
162. Gazzani G, Fregnan GB, Vandoni G. In vitro protection by erdosteine against oxidative inactivation of alpha-1- anti-trypsin by cigarette smoke. *Respiration* 1989; 55: 113-118
163. Biagi G, Fregnan G, Gazzani G, Vandoni G. Erdosteine protection from cigarette smoke- induced loss of alpha 1-antitrypsin activity in rat lungs. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1989; 27: 235-237.
164. Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O, Nacar A, et al. Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* 2007; 38: 380-5.
165. G. Titti, A. Lizzio, C. Temrini, P. Negri, S. Fazio et al. A controlled multicenter pediatric study in the treatment of acute respiratory tract diseases

- with the aid of a new specific compound, erdosteine. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2000; 38: 402-407.
166. Braga P, Dal Sasso M, Zuccotti T. Assessment of the Antioxidant activity of the SH Metabolite I of Erdosteine on Human Neutrophil Oxidative Bursts. *Arzneimittelforschung* 2000; 50: 739-746.
 167. Erdogan H. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine, *Urol Res* 2006; 34: 41–46.
 168. Tunç T. Erdosteine and Ebselen As Useful Agents in Intestinal Ischemia/ Reperfusion Injury, *Journal of Surgical Research* 2009; 155: 210–216.
 169. Jae-Yeon LEE, Erdosteine in Renal Ischemia-Reperfusion Injury, An Experimental Study in Pigs, *J. Vet. Med. Sci* 2010; 72: 127–130.
 170. Tunç T, Protective effect of sulfhydryl-containing antioxidants against ischemia/reperfusion injury of prepubertal rat intestine, *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2009; 24: 681–687.
 171. Falı M, The Effects of Erdosteine on Lung Injury Induced by the Ischemia-Reperfusion of the Hind-Limbs in Rats, *Journal of Surgical Research* 2007; 145: 303–307.
 172. Ozerol E, The protective effect of erdosteine on short-term global brain ischemia/reperfusion injury in rats, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2009; 33: 20–24.
 173. MacLennan KM, Darlington CL, Smith PF. The CNS effects of ginkgo biloba extracts and ginkgolide B. *Prog Neurobiol.* 2001; 67: 235-257.
 174. Smith JV, Luo Y. Studies on molecular mechanisms of Ginkgo biloba extract. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2004; 64: 465-472
 175. Ahlemeyer B, Kriegelstein J. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2003; 60: 1779-1792
 176. Ponto B. L. L, Schultz S, K. Ginkgo biloba Extract: Review of CNS Effects. *Annals of Clinical Psychiatry.* 2003; 15: 109-119.
 177. Ikeda K, Negishi H, Yamori Y. Antioxidant nutrients and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. *Toxicology.* 2003; 189: 55-61.

178. Ahlemeyer B, Junker V, Huhne R, Krieglstein J. Neuroprotective effects of NV 31, a bilobalide-derived compound: evidence for an antioxidative mechanism. *Brain Research* 2001; 890: 338–342.
179. Bridi R, Crossetti FP, Steffen VM, Henriques AT. The Antioxidant Activity of Standardized Extract of Ginkgo biloba (EGb 761) in Rats. *Phytother. Res.* 2001; 15: 449–451.
180. Calapai G ve ark. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitric oxide synthesis. *Life Sciences* 2000; 67: 2673–2683.
181. DeFeudis F, Drieu K. Ginkgo biloba extract (Egb 761) and CNS functions, basic studies and clinical applications. *Current Drug Targets.* 2000; 1: 25-58.
182. Smith P, Maclennan K, Darlington C. The neuroprotective properties of the Ginkgo biloba leaf: a review of the possible relationship to platelet-activating factor (PAF) *J Ethnopharmacol.* 1996; 50: 131-139.
183. Dasa A, Shankera G, Natha C, et al. A comparative study in rodents of standardized extracts of Bacopa monniera and Ginkgo biloba Anticholinesterase and cognitive enhancing activities. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 2002; 73:893–900
184. Clark WM, Rinker LG, Lessov NS, et al. Efficacy of Antioxidant Therapies in Transient Focal Ischemia in Mice. *Stroke.* 2001; 32: 1000-1004.
185. Lee EJ, Chen HY, Wu TS, et al. Acute Administration of Ginkgo biloba Extract (EGb 761) Affords Neuroprotection Against Permanent and Transient Focal Cerebral Ischemia in Sprague-Dawley Rats. *Journal of Neuroscience Research.* 2002; 68: 636-645.
186. Dasa A, Shankera G, Natha C, et al. A comparative study in rodents of standardized extracts of Bacopa monniera and Ginkgo biloba Anticholinesterase and cognitive enhancing activities. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 2002; 73: 893–900.
187. Jiangang Shen, Ginkgo biloba extract (EGb761) inhibits mitochondria dependent caspase pathway and prevents apoptosis in hypoxia-reoxygenated cardiomyocytes, Shen et al. *Chinese Medicine* 2011; 6: 8

188. Şener G. Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats, *Pharmacological Research* 2005; 52: 216–222.
189. Sofiyan Saleem, Ginkgo Biloba Extract Neuroprotective Action Is Dependent on Heme Oxygenase 1 in Ischemic Reperfusion Brain Injury. *Stroke*. 2008; 39: 3389-3396.
190. Özmert M.A. Protective effects of Ginkgo biloba extract in rats with hypoxia/reoxygenation–induced intestinal injury, *Journal of Pediatric Surgery* 2011; 46: 685–690
191. Mevlut Sait Keles, Protective effects of N-acetylcysteine and Ginkgo biloba extract on ischaemia-reperfusion-induced hepatic DNA damage in rats *Clin Exp Med* 2008; 8: 193–198.
192. Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 486-94.
193. Ahsan H, Parveen N, Khan NU, Hadi SM. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chem Biol Interact* 1999; 121: 161-75.
194. Ghoneim AI, Abdel-Naim AB, Khalifa AE, El-Denshary ES. Protective effects of curcumin against ischaemia/reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol Res* 2002; 46: 273-9.
195. Chan M.M.Y, Huang H.I, Fenton M.R, Fong D. InVivo Inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with antiinflammatory properties. *Biochemical Pharmacology* 1998; 55: 1955-62.
196. Ahsan H, Parveen N, Khan NU, Hadi SM. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chem Biol Interact* 1999; 121: 161-75.
197. Yurdakul T. Combination antioxidant effect of a-tocoferol and erdosteine in ischemia–reperfusion injury in rat model, *Int Urol Nephrol* 2010; 42: 647–655.

198. Erdoğan H. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia reperfusion injury, protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine, *Urol Res* 2006; 34: 41–46.
199. Ozerol E. The protective effect of erdosteine on short-term global brain ischemia/reperfusion injury in rats, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2009; 33: 20–24.
200. Tunc T, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2009; 33: 20–24.
201. Demiralay R, The Effects of Erdosteine, N-Acetylcysteine, and Vitamin E on Nicotine-Induced Apoptosis of Hippocampal Neural Cells, *Journal of Cellular Biochemistry* 2008; 104: 1740–1746.
202. Isik B, Erdosteine against acetaminophen induced Renal toxicity 2004; 4: 24-29.
203. Kuvandik G, Effects of Erdosteine on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats, *Toxicologic Pathology* 2008; 36: 714-719, 2008
204. Sırnalı M, The Effects of Erdosteine on Lung Injury Induced by the Ischemia-Reperfusion of the Hind-Limbs in Rats, *Journal of Surgical Research* 2008; 145: 303–307.
205. Colak O, Sahin A, Alataş O, Inal M, Yaşar B, Kiper H. The effect of Ginkgo biloba on the activity of catalase and lipid peroxidation in experimental strangulation ileus. *Int J Clin Lab Res* 1998; 28: 69-71.
206. Yenilmez A, Kilic FS, Sirmagul B, Isikli B, Aral E, Oner S. Preventive effects of Ginkgo biloba extract on ischemia-reperfusion injury in rat bladder. *Urol Int* 2007; 78: 167-172.
207. Sener G, Sener E, Sehirli O, Oğünç AV, Cetinel S, Gedik N, et al. Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats. *Pharmacol Res* 2005; 52: 216-222.
208. Liu KX, Wu WK, He W, Liu CL. Ginkgo biloba extract (EGb 761) attenuates lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats: roles of oxidative stress and nitric oxide. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 299-305

209. Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Marciano MC, Squadrito F, Inferrera G, et al. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitric oxide synthesis. *Life Sci* 2000; 67: 2673-2783.
210. Armstrong D. Al-Awadi F; lipid peroxidation and retinopathy in streptozotocin induced diabetes, *Free radical Bol. Med* 1991; 11: 433.
211. Miranda K.M, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate. *Nitric Oxide*. 2001; 5: 62-71.
212. Lowry Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol Chem* 1951; 193: 265.
213. Cotran R.S, Kumar V, and Robins S.L. Cellular injury and adaptation In *Robins pathologic basis of disease*. WB Saunders Company 1989; 4: 76-79.
214. Pradeep K. Shukla, Anti-ischemic Effect of Curcumin in Rat Brain, *Neurochem Res* 2008; 33:1036–1043.
215. Jing Zhao, Curcumin Improves Outcomes and Attenuates Focal Cerebral Ischemic Injury via Antiapoptotic Mechanisms in Rats, *Neurochem Res* 2010; 35: 374–379.
216. Heena D. Panchal, Early Anti-Oxidative and Anti-Proliferative Curcumin Effects on Neuroglioma Cells Suggest Therapeutic Targets, *Neurochem Res* 2008; 33: 1701–1710.
217. Fadhel A. Al-Omar Immediate and Delayed Treatments with Curcumin Prevents Forebrain Ischemia-Induced Neuronal Damage and Oxidative Insult in the Rat Hippocampus, *Neurochem Res* 2006; 31: 611–618.
218. Şener G, Erdosteine Prevents Colonic Inflammation Through Its Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities, *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2122–2132.
219. Karapola S, Prevention of Pulmonary Complications of Pneumoperitoneum in Rats, Karapolat et al. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2011; 6: 14.
220. Rock JA, Thomson JD. Surgery for benign disease of the ovary. *Operative Gynecology*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Raven 2003; 9: 648.
221. Baker TE, Copas PR. Adnexal torsion, a clinical dilemma. *J Reprod Med* 1995; 40: 447- 9.
222. Moravec WD, Angerman NS, Reale FR, Hajj SN. Torsion of the uterine adnexa: a clinicopathologic correlation. *Int J Gynaecol Obstet* 1980; 18: 7-14.

223. Busine A, Murillo D. Conservative laparoscopic treatment of adnexal torsion during pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1994; 23: 918-21.
224. Rosado WM Jr, Trambert MA, Gosink BB, Pretorius DH.. Adnexal torsion, diagnosis by using Doppler sonography. *Am J Roentgenol* 1992; 159: 1251-3.
225. Oelsner G, Bider D, Goldenberg M, Admon D, Mashiach S. Long-term follow up of th twisted ischemic adnexa managed by detorsion. *Fertil Steril* 1993; 60: 976-9.
226. Kruger E, Heller DS. Adnexal torsion: a clinicopathologic review of 31 cases. *J Reprod Med* 1999; 44: 71-5.
227. 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; 9: 91-6.
228. Bayer AI, Wiskind AK. Adnexial torsion, Can the adnexa be saved? *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 1506-10.
229. Vancaillie T, Schmidt EH. Recovery of ovarian function after laparoscopic tratment of acute adnexal torsion. A case report. *J Reprod Med* 1987; 32: 561-2.
230. Celik A, Ergun O, Aldemir H, et al: Long term results of conservative management of adnexal torsion in children. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 704.
231. Davis AM, Feins NR: Subsequent asynchronous torsion of normal adnexa in children. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 687.
232. Descargues G, Tinloy-Mauger F, Gravier A, et al, Adnexal torsion, a report on forty-five cases. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol* 2001; 98: 91.
233. Dikensoy E, Gocmen A, Sari A. A conservative approach to unilateral ovarian torsion in a rat model. *Saudi Med J* 2007; 28: 1204.
234. Dolgin SE, Lublin M, Shlasko E. Maximizing ovarian salvage when treating idiopathic adnexal torsion. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 624.
235. 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.
236. Pena JE, Ufberg D, Cooney N, et al. Usefullness of doppler sonography in the diagnosis of ovarian torsion. *Fertil Steril* 2000; 73: 1047.

237. Rody A, Jackisch C, Klockenbusch W, et al. The conservative management of adnexal torsion-a case-report and review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 101: 83.
238. Rousseau V, Massicot R, Darwish AA, et al. Emergency management and conservative surgery of ovarian torsion in children: a report of 40 cases. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2008; 21: 201.
239. Templeman C, Hertweck SP, Fallat ME. The clinical course of unresected ovarian torsion. *J Pediatr Surg* 2001; 35: 1385.
240. Hibbard L: Adnexal torsion. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152: 456.
241. Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, et al. Semi-quantitative immunohistochemical analysis of aromatase expression in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 74: 47.
242. Kazez A, Ozel SK, Akpolat N, et al. The efficacy of conservative treatment in late term ovarian torsion. *Eur J Pediatr Surg* 1996; 17: 110.