



**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**RAT OVERİNDE  
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA  
SELENYUM VE C VİTAMİNİNİN ETKİNLİĞİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
DR. SİMENDER MESCİ**

**DÜZCE - 2011**





**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**RAT OVERİNDE  
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA  
SELENYUM VE C VİTAMİNİNİN ETKİNLİĞİ**

**DR. SİMENDER MESCİ  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**YARD. DOÇ. DR. MUSTAFA ALBAYRAK**

**DÜZCE - 2011**



## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tezimin tasarımı ve hazırlık aşamalarında başta Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalı başkanımız Doç. Dr. İsmail Özdemir ve tez hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa Albayrak olmak üzere, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Karataş, Yrd. Doç. Dr. Seyit Ali Köse'ye; ve üzerimde emeği geçen hocalarıma teşekkür ederim.

Tezimin başından sonuna kadar her aşamasında destek olan, vakit ve emek harcayan hocalarım Yrd. Doç. Dr. Hilmi Demirin, Yrd. Doç. Dr. Seyit Ankaralı, Doç. Dr. Şerif Demir, Doç. Dr. Handan Ankaralı'ya; Yrd. Doç. Dr. Ümran Yıldırım'a, patoloji teknisyenlerine; iyi niyeti, zekâsı ve yeteneğiyle, sayesinde hayvan çalışması yapabildiğim Dr. Fatih Keskin'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca gecesiyle gündüzüyle, acı tatlı her şeyi paylaştığım asistan arkadaşlarım Seren, Orhan, Elif, Ruken, Nuray, Nilüfer'e; sevgili kıdemlim ve kardeşim Müşerref'e; Melih'e;

Birlikte çalıştığım, eğitimimde ve tezimde emeği olan hemşire arkadaşlarım; Arife, Şengül, Birgül, Belkıs, Elif Aysun, Tuğba, Ayşe, Seltap, Merve'ye, Erkan Bey'e, Ayşe Dicle'ye;

Bilgisiyle ve eğitimciliğiyle bana her zaman destek olan, en kötü anlarımda yanımda olan öğretmenim, abim, babam, sevgili Fuat hocama;

Tanıdığım günden beri iyi-kötü her anımda yanımda olan, tezimde de her ayrıntıda emeği olan sevgili hayat arkadaşım, Enginim'e;

Tüm eğitim dönemim boyunca ve tezimin her aşamasında maddi manevi bana her konuda sonsuz destek olan aileme; beni daha okuma yazma bilmiyor iken kitap fuarlarına götürüp, kitap dünyasına sokan; ufkumu genişleten, kişilik sahibi yapan sevgili babama, hem evde hem işte çalışıp beni zorluklarla büyüten sevgili anneme...

Teşekkür ederim.

Nisan - 2011

Dr. Simender Mesci

## ÖZET

**Giriş:** Ovaryan torsiyon, konservatif yaklaşım olarak ilgili segmentlerin detorsiyonunu içeren ciddi bir jinekolojik problemdir. Torsiyon, ovaryan hasar ve infertilite ile kendini gösterir ve detorsiyon, hasarın artmasında en önemli faktörlerden biridir. Torsiyon/Detorsiyon şeklinde görülen ovaryan hasar diğer organlarda gözlenen iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarıyla benzerlik göstermektedir.

**Amaç:** Bu deneysel çalışmada amaç; rat overinde, iskemi/reperfüzyon hasarında C vitamini ve selenyumun etkilerini değerlendirmektir.

**Gereç ve yöntem:** Bu çalışmada 48 adet Wistar cinsi rat kullanıldı. Sham grubunda(Grup I) sadece laparotomi uygulandı. İskemi(Grup II) grubunda, overyan iskemi oluşturuldu ve sağ over 4 saat sonra çıkarıldı. İskemi/Reperfüzyon(Grup III) grubunda 4 saatlik iskemik periyodun ardından, 1 saat reperfüzyon uygulandı ve sağ over çıkarıldı. Grup IV, Grup V ve Grup VI'da 4 saatlik iskemik periyodun ardından sırasıyla C vitamini, selenyum ve selenyum + C vitamini, reperfüzyon öncesi infuzyonla verildi, 1 saatlik reperfüzyonun ardından sağ over çıkarıldı. Overler daha sonra histopatolojik olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Sham grubunda nekroz bulgusu görülmezken, hücre hasarı en çok selenyum ve c vitaminin beraber uygulandığı grupta gözlemlendi. İskemi grubunda iskemi/reperfüzyon grubuna göre daha az hücre hasarı görüldü. C vitamini ve selenyumun tek başına verildiği gruplar iskemi grubuyla benzerlik gösterirken; iskemi/reperfüzyon grubundan daha az hücre hasarı izlendi.

**Sonuç:** C vitamini ve selenyum iskemi/reperfüzyon hasarını azaltmada etkilidir.

**Anahtar kelimeler:** İskemi, reperfüzyon, over, selenyum, C vitamini, iskemi/reperfüzyon hasarı.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Ovarian torsion is a serious gynecologic problem where conservative management includes detorsion of the involved segments. Torsion has been implicated in ovarian damage and infertility, and detorsion is one of the most important factors in further injury. Ovarian injury resulting from torsion/detorsion resembles that caused by ischemia/reperfusion (I/R) injury observed in other organs.

**Purpose:** In this experimental study, the aim is to examine the effects of vitamin C and selenium on ischemia-reperfusion injury in the rat ovary.

**Materials and methods:** In this study 48 female Wistar rats were used. In the Sham (group I), only laparotomy was performed. In group II (ischemia), ovarian ischemia was produced and the right ovary were surgically removed 4 h later. In group III(ischemia/reperfusion), an ischemic period of 4 h was followed by reperfusion for 1 h, the right ovary was removed. In groups IV, V and VI, after 4 h of ischemia, either vitamin C, selenium and selenium + vitamin C respectively were infused before reperfusion; after 1 h of reperfusion the right ovary was removed. The ovaries were examined by histopathologic evaluation.

**Results:** There was no cell injury in the Sham group but we determined significant difference in the group of vitamin C and selenium infused together. In the ischemia group we determined cell injury was less than ischemia/reperfusion group. The groups that have been infused vitamin c and selenium respectively, were similar with ischemia group, but less than ischemia/reperfusion group.

**Conclusion:** We concluded that vitamin C and selenium are effective in decreasing ischemia/reperfusion injury.

**Keywords:** ischemia, reperfusion, ovary, selenium, vit C, ischemia/reperfusion injury.

## İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet(Abstract).....	iii
İçindekiler.....	iv
Simgeler ve kısaltmalar dizini.....	v
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	2
2.1. Over anatomisi ve histolojisi.....	2
2.2. İskemi reperfüzyon hasarı.....	5
2.3. Antioksidanlar ve serbest radikaller.....	8
3. Gereç ve yöntem.....	10
3.1. İstatistiksel analiz.....	12
4. Bulgular.....	13
5. Tartışma.....	18
6. Sonuçlar.....	21
7. Kaynaklar.....	22



## **SİMGE VE KISALTMALAR**

I: İskemi

I/R: İskemi / reperfüzyon

AO: Antioksidan

Se: Selenyum

Sec: Selenosistein

ROS: Reaktif oksijen parçacıkları

NOS: Reaktif nitrojen parçacıkları

SOD: Süperoksit dismutaz

RDA: Günlük önerilen miktar

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adneksiyal torsiyon jinekolojik aciller arasında 5. sıklıkta görülür ve Birleşik Devletler'deki insidansı %2,7 olarak bildirilmiştir (1). Adneksiyal torsiyon, nonspesifik bulgu ve semptomları nedeniyle tanı ve tedavinin her ikisinde de gecikmeler yaşanmaktadır. Geleneksel olarak önerilen tedavi adneksiyal pedikülü serbestleştirmeden adneksin eksizyonu olmakla beraber (2), günümüzde pedikülün serbestleştirilmesi, detorsiyone edilmesi ve dokunun perfüzyonunun değerlendirilmesi güvenilir ve konservatif bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (2-4). Mor-siyah renk alan iskemik adnekslerin intraoperatif değerlendirilmesiyle, hasarın doku viabilitesiyle uyumlu olmadığı ve adnekslerin detorsiyone edilmesinin tromboemboli riskini arttırmadığı bildirilmiş (3-5). Bunun yanında dokuların intraoperatif olarak floresan boya ile doku perfüzyonu açısından değerlendirilmesi ve buna göre intraoperatif yönetim de önerilmektedir (6).

İskemi tedavisinin amacı sadece kan akımını sağlamak değil, aynı zamanda doku perfüzyonunu da iyileştirmektir. İskemiye takiben, sirkulasyon ve reperfüzyonun tekrar sağlanması, kendisi de çeşitli derecelerde doku hasarına yol açan, 'reperfüzyon hasarı' denilen yeni bir fizyopatolojik süreci karşımıza çıkarmaktadır. Dokudaki toplam hasar iskemi ve reperfüzyonun her ikisinin de yol açtığı hasar olarak kabul edilmektedir (7-10). Sonuç olarak, reperfüzyon hasarının önlenmesi iskemi tedavisinin tedavisinin başarısını daha da arttıracaktır (7, 8). İskemi ve reperfüzyon beyin, kas ve kalp gibi dokularda reaktif oksijen parçacıklarının (ROS) oluşumuna yol açar (11-13). Oluşan ROS (ve ürünleri) de hücre membranını hasara uğratar (14-15). Suda eriyen bir vitamin olan C vitamini, sadece hidroksil radikallerini engellemekle kalmaz, aynı zamanda E vitamini rejenerasyonunu da artırır (9,16,17). Selenyum indirekt olarak belirli okside molekülleri indirgeyen glutatyon peroksidaz ve tiyoredoksin reduktaz enzimlerinin aktif merkezini oluşturur.

Bu çalışmamızda; rat modelinde, adneksiyal iskemi/reperfüzyon (IR) hasarında C vitamini ve selenyumun hücre nekrozu üzerine koruyucu etkinliği değerlendirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

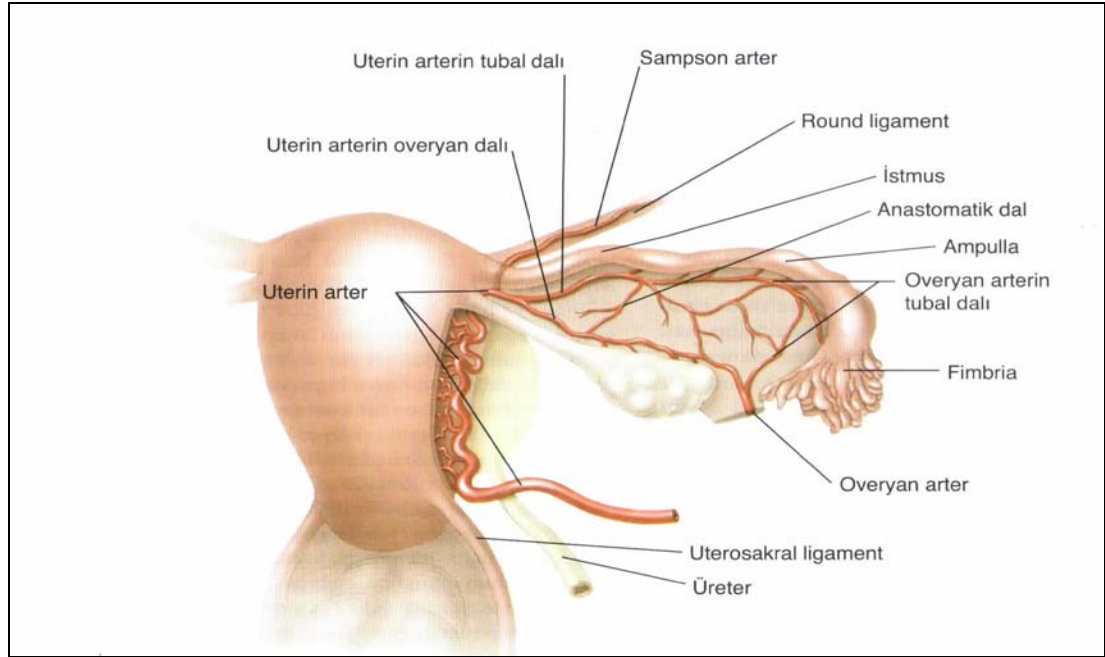
### 2.1. Over Anatomi ve Histolojisi

Overler follikülogenez, ovulasyon ve steroid hormon sentez ve sekresyonundan sorumlu elipsoid şekilli bir çift organdır. Over boyutları değişkenlik gösterebilir. Doğurganlık döneminde 2,5-5 cm uzunluk, 1,5-3 cm genişlik, 0,6–1,5 cm kalınlıkta olabilir. Menopozla beraber over boyutlarında belirgin bir küçülme görülür.

Overler normalde pelvik kavitenin üst kısmında, Waldeyer'in overyan fossası denilen yerde eksternal ve internal iliak damarların ayırım yeriyle, hafifçe basık pelvis yan duvarının arasındadır. Overlerin pozisyonu çeşitli varyasyonlar içerebilir, her iki overin de tamamen aynı seviyede bulunması nadirdir.

Overler broad ligamana mesoovaryum ile bağlanmıştır. Utero-ovaryen ligaman uterusun lateral ve posteriorundan genişleyerek, tubal insersiyonun altından, overin alt veya aşağı pol denilen kısmına uzanır. Peritonla kaplıdır ve uterusla devamlılık gösteren kas ve konnektif doku liflerinden ibarettir.

Overin içinden overyan damarlar ve sinirler geçen infundibulopelvik ligamanı üst veya tubal polden köken alır ve pelvik duvara ulaşır (şekil 1).



Şekil 1. Uterus ve over anatomisi.

Overin dış yüzeyinin görünüşü yaşla bereber değişiklik gösterir. Genç kadınlarda organ düzdür, yüzeyi çeşitli sayıda küçük, berrak foliküller içeren beyaz bir tabaka şeklinde görülür. Kadın yaşı ilerledikçe overler daha kıvrımlı bir hal alır, yaşlı kadınlarda ise tamamen kıvrımlı şekilde görülür.

Overin genel yapısı en iyi, her iki yüzeyin de korteks ve medulla olarak, ayrı ayrı değerlendirilebildiği, ardışık kesitlerde izlenir. Korteks veya dış tabaka kalınlığı yaşla birlikte değişkenlik gösterir ve ilerleyen yıllarda inceler. Bu tabaka ovum ve Graaf foliküllerinin yerleştiği tabakadır. Over korteksi, gelişiminin çeşitli safhalarında olan primordial ve Graaf follikülleri içeren, iğnemsî şekilli bağ doku hücre ve liflerinden oluşmuştur. Kadın yaşı ilerledikçe folikul sayısı azalır. Beyaz ve donuk görünen korteksin en dış kısmına tunica albuginea denir. Bunun da yüzeyinde Waldeyer germinal epitelyumu denilen tek tabakalı küboidal epitel yer alır.

Medulla, yani merkezi kısım, overin mesoovaryum olarak devam eden serbest bağ dokusundan oluşur. Medullada çok sayıda arter ve ven, az sayıda suspansuar ligaman ile devamlılık gösteren düz kas yapısı bulunur. Bu az sayıdaki düz kas lifinin overin hareketiyle ilgili fonksiyon gördüğü düşünülmektedir.

Ovaryan arter, overin kanlanması için temel kaynağıdır. Her ne kadar iki arter de, abdominal aortun dalları olarak köken alsın da, sol overyen arter sıklıkla sol renal arterden köken alır. Ovaryan arterler aşağı doğru birbirlerinden ayrılırlar. Arteria iliaca communis seviyesine ulaştığı zaman, bu damar ve üreter üzerinden mediale dönerler, kıvrılarak overin mezoovaryumuna giden suspensuar ligamentin katları arasında pelvise doğru inerler. Over sınırında seyreden uterin arterin ovaryen dallarının anastomozuyla ek kanlanma desteği sağlanır. Hilusa giren kan damarları, sentrifugal olarak kapiller damar şeklinde perifere doğru yayılım gösterir.

Ovaryan venler arterlere eşlik eder. Ovaryan venler over hilumundan sonra, mezoovaryumun yaprakları arasında, pampiniform plexus denilen iyi gelişmiş pleksusu oluşturur. Pleksus içerisindeki düz kas lifleri tüm yapıya erektil doku görünümünü vermektedir.

Lenfatik kanallar diğer tüp ve damarsal yapılarla beraber, aort boyunca lomber nodlara, böbrek seviyesine kadar retroperitoneal olarak ilerler. Overdeki lenfatik damarların dağılımı o kadar geniştir ki, bu sistem aynı zamanda preovuluar foliküler dönem sırasındaki overe ek sıvı desteği de sağlar.

Over hem sempatik hem parasempatik innervasyona sahiptir. Sempatik sinirlerin büyük kısmı ovaryen damarlara eşlik eden ovaryan pleksustan köken alır. Küçük bir bölümü ise uterin arterin ovaryan dalını çevreleyen pleksustan köken alır. Over, çoğu kan damarlarına eşlik eden non-myelinize sinir lifleriyle zengin olarak innerve edilir. Bunlar sadece vasküler sinirlerdir, diğerleri normal ve atretik follüküllerden gelir ve bu lifler membrana granulosaya kadar izlenebilir.

Gelişimin ilk safhalarından menopoza sonrası döneme kadar over sabit bir değişim hali içindedir. Puberte başlangıcında oosit sayısı yaklaşık 200.000 - 400.000 arasında değişmektedir. Her bir ovaryan siklusta tek bir ovumun atıldığı düşünülürse, üreme dönemi boyunca yüzlerce ovumun boşa gittiği söylenebilir. Yani folikülogenez süreci oldukça verimsiz bir süreç olup, folikülogeneze katılan bir kohorttaki foliküllerden %99.9'u atreziye uğrar, ancak bir tanesi Graaf folikül halini almaktadır.

Mossman ve ark. yetişkin kadındaki overin glandüler hücrelerin terminolojisini netleştirmek üzere yaptıkları bir çalışmada; hücreleri intersisyel, tekal, luteal olarak ayırmışlardır. İntestinal glandüler elementler, dejenere veya atretik foliküllerin teka interna hücrelerinden, tekal glandüler hücreler follükülleri çevreleyen teka interna hücrelerinden, gerçek luteal hücreler ise ovule folikülün granuloza hücrelerinden ve etraflarını çevreleyen undiferansiye stromadan kaynak alır (18). Doğumdaki büyük primordial folikül havuzu seksüel maturasyon süresince kademeli olarak tükenir. Block ve ark. 15 yaşın altında yaklaşık 439000 olan oosit sayısının 36 yaşındaki bir kadında 34000 olarak ifade etmişlerdir (19).

Genç bir kızda, overin büyük kısmını çok sayıda primordial folikül ile dolu korteks oluşturur. Overin merkezine en yakın olan grup, gelişimde en ileride olan folikül grubudur. Genç kadında, korteks göreceli olarak ince olup, hala çok sayıda iğnemsiz şekilli veya oval şekilde bağ dokusu hücrelerinden oluşan bant yapılarıyla ayrılmış primordial folikül içerir. Her bir primordial folikül bir oosit ve onu çevreleyen tek tabaka epitel hücrelerinden oluşur. Bu hücreler küçük ve düzleşmiş, iğnemsiz şekillidir ve stromayı çevreleyen küçük ve iğnemsiz hücrelerden hafifçe diferansiyasyon gösterirler.

Oosit büyük, berrak sitoplazmalı ve ovum merkezine yakın göreceli olarak büyük çekirdekli, dairesel bir hücredir. Nükleus içinde, bir adet büyük ve birkaç adet

daha küçük boyutta nukleolus ve çok sayıda kromatin parçacığı vardır. Yetişkin bir kadının overlerindeki en küçük oosit çapı ortalama 33 µm, nukleus çapı yaklaşık 20 µm'dir (20,21).

## 2.2. İskemi – Reperfüzyon Hasarı

İskemi hasarı herhangi bir doku alanına mevcut kan akımının durmasıyla oluşur. İskemik hasar insidansı çok çeşitlidir. Myokardial infarktüs, inme ve diğer trombotik olaylar Birleşik Devletler'de her yıl 1,3 milyon bireyi etkilemektedir. İskemik hasar aynı zamanda kan damarları cerrahi sırasında kleplendiği zaman ve ya transplant yapılan organlarda da görülebilir. Ovaryan iskemik hasarı araştıran yazarlar tarafından deneysel modellerde ovaryan torsiyon oluşturmak için atravmatik vasküler klemp kullanılmıştır (44).

Bir dokunun oksijen eksikliğinde ne kadar canlı kalacağı değişkenlik göstermekle beraber, sonuç olarak tüm iskemik dokular nekroza gidecektir. Kan akımının yeniden düzenlenmesi hasarın minimize edilmesinde önemli olmakla beraber, aynı zamanda tromboz sonrası reperfüze dokuların kan akımı tekrar sağlandığında hasarın da arttığı yönünde bilgilerimiz mevcuttur. Genel olarak kabul gören, bu ek hasarın, yani 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. Bunlar organizmalar tarafından hücre içinde mitokandriyal solunum zincirinde, ya da hücre dışında, özellikle de fagositler tarafından oluşturulur.

Reperfüzyon neden böyle bir hasar yapar? Oksijen eksikliği aerobik solunum mekanizmasındaki oksijen metabolitlerinin birikimine yol açar. Reperfüzyon ile bu metabolitler ve bunların yol açtığı reaksiyonlar oksijen radikallerinde hızlı ve ani artışa yol açmaktadır. Çeşitli hayvan modelleri ve cerrahi uygulanan hastalardaki gözlemler bu hipotezi desteklemektedir (22 - 24). Oksijen radikallerindeki bu artış hücrenin hayati komponentlerinde kontrolsüz oksidasyona yol açacak şekilde hücrenin savunma mekanizmalarını baskılayarak oksijen radikallerine ek olarak inflamatuvar sitokin salımını da tetikleyerek mevcut hasarı arttıracaktır.

Bu hasarı azaltmanın iki yolu vardır. Birincisi direkt olarak hidrojen peroksidi ve serbest radikal grubunu engellemektir. Allopurinol, ksantin oksidaz ile süperoksit oluşumunu inhibe eder. Sonuçlar henüz genel olarak başarılı kabul edilmese de, pek çok hayvan modelinde ve klinik çalışmada infarktı azalttığı gösterilmiştir (25). Parmley ve ark. uygun çevresel koşulların sağlandığı bir çalışmalarında (25), elektif koroner arter bypass grafting operasyonunda (CABG), lipid peroksidasyonun (oksidatif hücre hasarının bir belirteci) allopurinol ile azaldığı (26), ve başka bir çalışmalarında operasyondan önce ve sonra uygulanan allopurinolün cerrahi sonrası komplikasyonları azaltmada %70 etkili olduğu olduğu göstermişlerdir (27).

İkinci yol ise serbest radikallerin nötralizasyonu için doku kapasitesini arttırmaktır. Sessiz bir antioksidan grubu ve serbest radikal tutucular halen araştırılmaktadır.  $O_2^-$  detoksifiye eden, rekombinant superoksit dismutaz (SOD) enziminin, bazı hayvan modellerinde reperfüzyon hasarında etkili olduğu bildirilmişse de (22), diğer çalışmalarda etkisiz olarak değerlendirilmiştir (28,29). Klinik çalışmalar çok değişkenlik göstermektedir. Pollak ve ark. bir çalışmalarında (30), transplante böbreklerin reperfüzyonundan 1 saat önce infüzyonla rekombinant SOD uygulamış, fakat postoperatif renal fonksiyonlarda herhangi bir olumlu değişiklik izlememişlerdir. Bir başka çalışmada ise, rekombinant SOD renal transplantasyon hastalarına reperfüzyon öncesi tek bir hızlı infüzyonla verilmiş (31), akut rejeksiyon insidansı büyük oranda azalmış ve dokunun uzun dönem yaşayabilirliği arttırılmıştır. Bu da serbest radikal hasarında azalma ve sonuç olarak immun sistemin graft tarafından daha az miktarda uyarımıyla sonuçlanmıştır. Tam tersine, akut myokard infarktüsü nedeniyle anjioplasti geçiren 120 hastaya rekombinant SOD verilerek yapılan bir başka çalışmada ise kardiyak fonksiyonlar üzerine enzimin yararlı etkisi gösterilememiştir (32).

Reperfüzyon hasarında nötrofil aktivitesi üzerinde de durulmaktadır. Nötrofiller bakterisidal etki için serbest radikallerin destrüktif potansiyellerini kullanırlar. Formigli ve ark. cerrahi sırasında geçici aortik oklüzyon geçiren hastaların bacaklarında iskemi/reperfüzyonun etkilerini araştırmışlardır (33). Bu çalışmada kas biyopsileri göstermiştir ki, iskemi reperfüzyon sırasında çoğu nötrofil olmak üzere yoğun granülosit infiltrasyonu ve diğer dolaşan nötrofillerde artış izlenmiştir. Kas fibrillerindeki morfolojik hasar, sadece reperfüzyonun hemen

ardından gözlenmiştir. Fabiani ve ark. CABG sırasında nötrofillerin myokardiuma girdiğini ve reperfüzyon sırasında degranüle olduğunu göstermiştir (34). Nötrofiller aynı zamanda mikrodamar yapılarını bloke edecek şekilde birikerek iskemiye de yol açarlar (33).

Nötrofil aktivitesi endotel hasarı ile beraber bulunmaktadır ve henüz tam anlaşılammış kemokinlerin ve inflamatuvar sitokin ağıyla koordine bir inflamatuvar yanıtın parçasıdır. Seekamp ve ark. kan dolaşımında sitokin üretimi kinetiğini araştırmak için iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulan bir rat çalışması yapmışlardır (35). Dolaşımdaki IL - 1, TNF -  $\alpha$  ve IL - 6 seviyeleri reperfüzyonda hızlı bir şekilde artmıştır. TNF -  $\alpha$  ve IL - 1 artışı kan akımının sağlanmasından 2 saat sonra pik yapmış ve IL - 6 ise diğer 4 saatlik dönemde artmaya devam etmiştir. 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. Bu çalışmada olduğu gibi reperfüze olan doku alanlarının geniş olması durumunda, post iskemik sendrom da gelişebilir. Bu durum; akut respiratuvar distress sendromu ve organ yetmezliğini de içeren sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) ile yaygın ortak noktaları olan, kan dolaşımında fazla miktarda inflamatuvar sitokin dolaştığı bir süreçtir.

Nötrofil aracılı reperfüzyon hasarını azaltmada bir diğer yaklaşım, iskemik dokuya nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmektir. Adezyon molekülleri nötrofillerin ekstrasvazasyonu için için gereklidir, ve birkaç çalışmada iskemi/reperfüzyon sırasında bu moleküllerin arttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak ICAM - 1 ve P - selektin adezyon molekülleri antikorları, hayvanlarda potansiyel tedavi olarak uygulanmıştır (36-38). Bir selektin blokleri E - ve P - selektinin ikisine de bağlanarak infarkt alanını küçültür (39).

Reperfüzyon hasarı çalışmaları ve kontrolü için henüz yeterli bir tedavi mevcut değildir. Muhtemelen deneysel protokollerin çok çeşitli olması nedeniyle potansiyel tedavilerin hiçbirinin reperfüzyonda serbest radikalleri sınırlamada yararı bulunamamıştır. İnflamatuvar 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 tıbbi ve dolayısıyla ekonomik olarak büyük ölçüde azaltacaktır.

### 2.3. Antioksidanlar ve Serbest Radikaller

Antioksidanlar, hücre hasarının - kanser oluşumu, yaşlanma ve çeşitli hastalıklar - önlenmesinde önemli rol oynar. Serbest radikaller tek ve serbest elektron numaralı, belirli moleküllerle oksijen reaksiyonuna giren atomları veya atom gruplarını ifade eder. Bu yüksek reaktif radikallerin biri bir kez zincir reaksiyonu başlattıktan sonra etki, domino etkisi olarak devam eder. Bunların esas tehlikesi, bu yapıların hücre membranı, DNA gibi önemli hücresel komponentlerle reaksiyona girmeleriyle meydana gelir. Hücreler bu durumda ya fonksiyon kaybına uğrar, ya da ölür. Serbest radikal hasarını önlemek için, vücut doğal antioksidan savunma sistemine sahiptir. Antioksidanlar, güvenli bir şekilde serbest radikallerle reaksiyona giren, hayati moleküller hasara uğramadan önce zincir reaksiyonunu sonlandıran moleküllerdir. Her ne kadar vücutta serbest radikallerden koruyucu çeşitli enzimler varsa da; temel antioksidan vitaminler; E vitamini, Beta karoten ve C vitaminidir. Ek olarak, selenyum vücudun antioksidan enzim sistemlerinin uygun fonksiyon görmesi için gerekli bir eser elementtir. Vücut bu vitaminleri üretemez, o yüzden bunların besinle alınması gerekir.

**E vitamini:** D- $\alpha$  tokoferol. Fındık, buğday, sebzeler, balık yağı, tam buğday, tahıllar ve kayısıda yoğun olarak bulunur. Günlük önerilen miktar (RDA), erkekler için 15 IU, kadınlar için 12 IU' dir.

**Beta-karoten:** Bir vitamin A (retinol) prekürsörüdür ve karaciğer, yumurta, süt, ıspanak, havuç, brokoli, domates, şeftali, tam buğday, patates, tereyağı ve kavunda yoğun olarak bulunur. Beta karoten vücutta A vitaminine dönüştüğü için ek olarak almaya gerek yoktur. Onun yerine FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) bu bağlantıyı netleştirmek için retinol ekivalanları (RE) tanımlamasını yapmıştır. Ek olarak, A vitamininin kendisi antioksidan özellik taşımaz ve aşırı dozda alındığı zaman oldukça toksik olabilir. Günlük önerilen miktar (RDA) 4000-5000 IU'dir.

**Selenyum:** Esansiyel bir eser elementtir ve insanlarda az bulunması, kanser ve kalp hastalıkları gibi çeşitli hastalıklarda artmış risk ile ilişkilidir. Son yıllarda antioksidan selenoproteinlerin, reaktif oksijen parçacıkları (ROS) ve reaktif nitrojen

parçacıklarının (NOS) artışıyla oluşturulan oksidatif strese karşı korunmada önemli rol oynaması üzerine, selenyum pek çok araştırmada ilgi odağı olmuştur. Selenoproteinlerin sentezi, proteinlerin direk UGA kodonuna (terminasyon kodonu) entegrasyonu ile selenosistein (Sec) aminoasidinin sentezini gerektirir. Se araştırmalarında en az 30 selenoprotein bulunmuştur. Diğer yandan, bu selenoproteinlerin bazılarının biyokimyasal fonksiyonları halen bilinmemektedir. Selenoprotein formundan başka, selenyumun, selenometiyonin ve dimetilselenit gibi diğer organik selenyum bileşikleri ve selenit ve selanat şeklinde inorganik formları da vardır. Gıdalarda selenyum baskın olarak selenometiyonin şeklinde bulunur. Selenometiyonin insanlardaki diyetle alınan selenyumun önemli bir kaynağıdır. Aynı zamanda bu formu klinik denemelerin çoğunda kullanılan şeklidir. Düşük selenyum alımıyla ilişkili bazı potansiyel hastalıklarla ilgili kaygılar nedeniyle selenyumun pek çok ülkelerde günlük belirli miktarda alınması önerilmektedir. Diğer yandan, aşırı selenyum alımı ve terapötik olarak verilmesi de uygunsuz kullanımı durumunda yan etkiler oluşturabilir (40).

**Vitamin C (Askorbik Asid):** Askorbik asid olarak da bilinen C vitamini, kollojen ve karnitin sentezi enzimlerinin bir komponenti olarak önemli rol oynayan, hayati önemi tartışılmaz olan, insan vücudunda suda eriyen bir antioksidandır. C vitamini deride sağlıklı kollojenin devamlılığının sağlanmasında, hasarlanmış doku onarımında, sağlıklı diş ve kemik devamlılığının korunması ve immun sistemin güçlenmesinde görev alır.

C vitamini en iyi bilinen ve en güçlü antioksidanlardan biridir. Vücut hücreleri oksijene maruz kaldığı zaman, oksidasyon olarak bilinen süreç, yani hücrelerin hasara uğraması gerçekleşir. C vitamini, bir serbest radikal kovucu olarak; katarakt, artrit, kalp hastalıkları ve kanser gibi oksidasyonun olumsuz etkileriyle savaşıyor. Askorbik asit temel olarak; turunçgiller, yeşilbiber, ıspanak, brokoli, kantalu ve çilekte bulunur. Günlük önerilen miktar (RDA) 60 mg'dır. 2000 mg'ın üzerinde alımı bazı bireylerde yan etkiye yol açabilir (41–43).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 18.06.2010 tarih, no: 10 ile onaylanan bu çalışma Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi DETAM (Deneysel Tıp Araştırma Merkezi) laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretme ve Araştırma Laboratuvarı'ndan elde edilen 48 adet Wistar albino cinsi, 16 haftalık, 250 – 300 g ağırlığındaki dişi ratlar dahil edildi. Ratlar randomize olarak her grupta 8'er rat olmak üzere 6 gruba ayrıldı:

Sham grubu (Grup I): Sadece laparotomi uygulanan ratlar.

I grubu (Grup II): Ovaryan iskemi oluşturulan, 4 saat sonra sağ overi çıkarılan grup.

I/R grubu (Grup III): 4 saatlik overyan iskeminin ardından, 1 saat reperfüzyon oluşturulup, daha sonra sağ overi çıkarılan grup.

I/R+C vitamini (Grup IV): 4 saatlik iskeminin ardından, 1 saat reperfüzyon ve C vitamini (50 mg/kg) uygulanan, ardından sağ overi çıkarılan grup.

I/R+Selenyum (Grup V): 4 saatlik iskeminin ardından, 1 saat reperfüzyon ve Selenyum (0.02 mg/kg) uygulanan, ardından sağ overi çıkarılan grup.

I/R+C vitamini+Selenyum (Grup VI): 4 saatlik iskeminin ardından, 1 saat reperfüzyon, C vitamini (50 mg/kg) ve Selenyum (0.02 mg/kg) uygulanan, sonra sağ overi çıkarılan grup.

Ratlar 3 mg/kg ksilazin ve 90 mg/kg ketamin intraperitoneal ile 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.

İskemi grubundaki (Grup II) ratlarda vasküler klemp kullanılarak overyan iskemi oluşturuldu. Ovaryan torsiyon oluşturmak daha zor olduğu ve çevre dokuların hasar görmesi kaçınılmaz olduğu için bu çalışmada, overyan iskemi modeli oluşturmak için atravmatik vasküler klemp kullanıldı. Ovaryan torsiyon ve vasküler klemp kullanımının, histopatolojik ve biyokimyasal olarak benzer bulgular verdiği daha önce yayınlanmıştı (44). İnsizyon 2/0 ipek ile kapatıldı ve 4 saat sonra aynı anestezi yöntemi ve aynı insizyondan laparotomi yapılarak sağ over histopatolojik değerlendirme için cerrahi olarak çıkarıldı, İskemi/Reperfüzyon (I/R) uygulanan grupta ise (Grup III)'de, 4 saatlik iskemik periyodun ardından 1 saat reperfüzyon sağlandı. Sağ over aynı anestezi yöntemi ve aynı insizyondan laparotomi yapılarak

histopatolojik inceleme için çıkarıldı. Grup IV, V ve VI (n=8) tedavi gruplarını oluşturdu. 4 saatlik iskemik periyodun ardından C vitamini (50mg/kg), selenyum (0.02 mg/kg), selenyum (0.02 mg/kg) + C vitamini (50 mg/kg), bahsedilen gruplara sırasıyla intravenöz olarak 1 dakika süreyle verildi. 1 saatlik reperfüzyonun ardından diğer gruplarda olduğu gibi sağ over, histopatolojik inceleme için cerrahi olarak çıkarıldı.

Ovaryan dokular %10'luk formol solusyonuna konularak muhafaza edildi. Histolojik değerlendirme 7µm lik kesitler şeklinde hematoksin eozin boyanarak hafif ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Tüm doku örnekleri aynı patolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Konjesyon, kanama, ödem ve kohezyon kaybı (normal overyan korteks ve foliküller arasındaki parankim hücre kaybı) bulguların şiddetine göre 0 ve 3 arasında skorlandı. 0 skoru patolojik bulgu olmaması ve 1, 2 ve 3 skorları sırasıyla overdeki patolojik bulguların <%30 (hafif), %31-60 (orta), >%61 (ağır) şeklinde derecelendirmesini ifade etti.



**Şekil 2.** Atravmatik vasküler klemp ile iskemiye uğratılmış rat overi.

### **3.1. İstatistiksel analiz**

Gruplar arasındaki ödem, kanama, konjesyon ve kohezyon kaybı durumları Likelihood ratio ki-kare analizi ile karşılaştırıldı. Veriler sıklık ve yüzde şeklinde ifade edildi. İstatistiksel analiz için PASW (predictive analytics software) 18 istatistik paket programı kullanıldı,  $p<0.05$  anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Tüm gruplar ödem, kanama, konjesyon ve kohezyon kaybı açısından bulguların şiddetine göre Tablo 1' de gösterildiği üzere skorlaması yapılarak değerlendirildi.

Tablo 1'de ödem derecesinin gruplara göre dağılımı yer almaktadır. Yapılan inceleme sonucunda ödem derecesi ile gruplar arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir ( $p=0,0001$ ).

Sham ve İskemi (I) gruplarında ödem görülme sıklığı anlamlı düzeyde diğer gruplardan yüksek bulunurken diğer gruplar arasında anlamlı farka rastlanmamıştır. Düşük derecede ödem görülme sıklığı Sham ve I gruplarında diğer gruplardan anlamlı düzeyde düşüktür. I/R + C vit + Se grubunda düşük ödem sıklığı ise hem I/R + C vitamini hem I/R ve hem de I/R + Se gruplarından daha düşük bulunmuştur. Orta düzeyde ödem ise I/R + C vit + Se grubunda diğer gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Bu sonuca göre ödem derecesi I/R + C Vit + Se grubunda daha yüksek I/R, I/R + C vit ve I/R + Se gruplarında daha düşüktür. Sham ve İskemi (I) gruplarında ise hiç ödem görülmemiştir.

Tablo 1'de kanama derecesinin gruplara dağılımı yer almaktadır. Yapılan inceleme sonucunda kanama derecesi ile gruplar arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir ( $p=0,0001$ ). Bu sonuca göre Sham grubunda kanamanın hiç olmadığı; buna karşın I grubunda düşük derecede, I/R, I/R + C vit ve I/R + Se gruplarında orta derecede I/R + C vit + Se grubunda ise yüksek derecede olduğu belirlenmiştir.

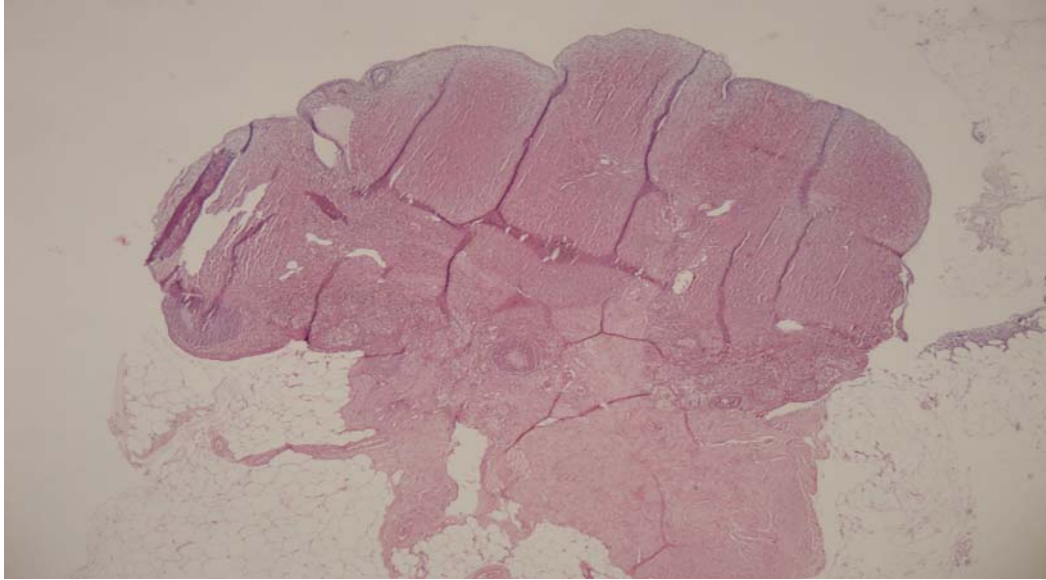
Konjesyon derecesi açısından değerlendirildiğinde konjesyon derecesi ile gruplar arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir ( $p=0.021$ ). Yapılan detaylı incelemede özellikle I/R + C vit + Se grubunda konjesyon derecesindeki yükseklik diğer gruplardan fazla bulunmuştur. Konjesyon diğer gruplarda da görülmekle beraber diğer gruplarda düşük ya da orta düzeyde konjesyon gözlenmiştir. Konjesyon şiddetindeki dağılım kanama ile benzerlik göstermektedir.

Tablo 1'deki son parametre kohezyon kaybı derecesinin gruplara göre dağılımıdır. Yapılan inceleme sonucunda kohezyon kaybı derecesi ile gruplar arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir ( $p=0,0001$ ). Yapılan detaylı incelemede

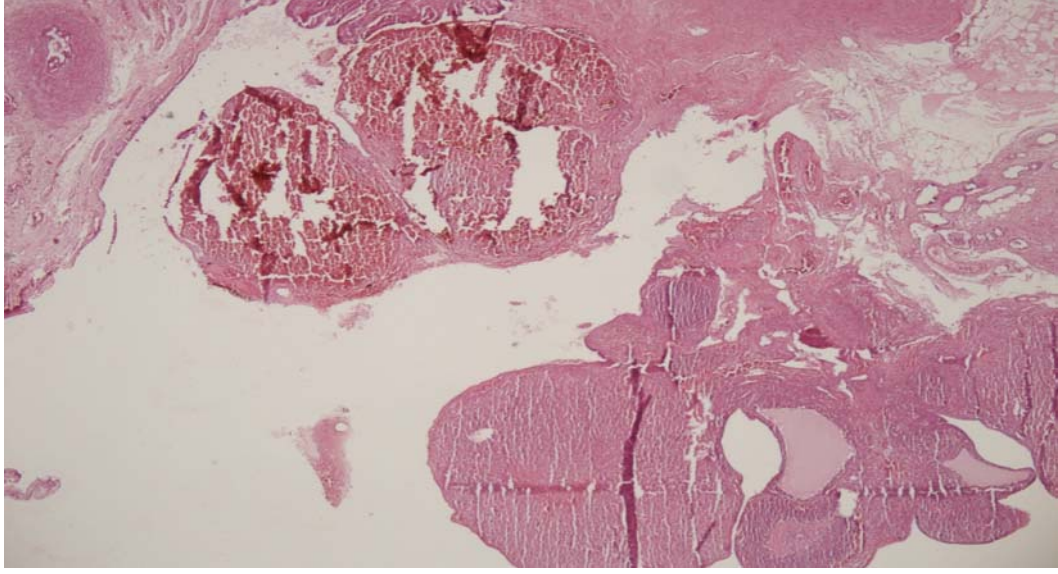
özellikle I/R + C vit + Se grubunda kohezyon kaybı şiddetindeki yükseklik diğer gruplara göre fazla bulunmuştur. Diğer gruplarda düşük ya da orta düzeyde kohezyon kaybı gözlenmiş ve sham grubunda ise hiç kohezyon kaybına rastlanmamıştır.

**Tablo 1.** Gruplar arasındaki ödem, kanama, konjesyon ve kohezyon kaybının şiddetine göre histopatolojik olarak derecelendirilmesi.

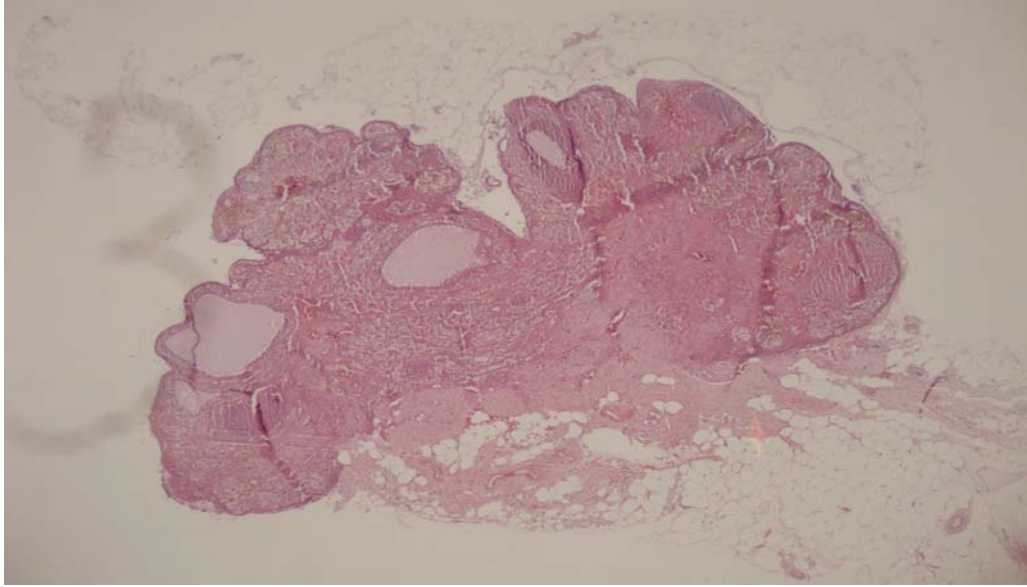
Patoloji	Skor	Sham (n=7)		I (n=5)		IR (n=8)		IR+vit C (n=8)		IR+Se (n=8)		IR+Vit C +Se (n=8)		P
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Ödem	0	7	100	5	100	2	25	1	12.5	1	12.5	1	12.5	0.0001
	1	0	0	0	0	6	75	7	87.5	6	75	2	25	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	12.5	5	62.5	
Kanama	0	7	100	1	20	2	25	2	25	2	25	0	0	0.0001
	1	0	0	4	80	1	12.5	4	50	4	50	1	12.5	
	2	0	0	0	0	4	50	1	12.5	0	0	2	25	
Konjesyon	0	1	14.3	1	20	4	50	1	12.5	0	0	2	25	0.021
	1	6	85.7	3	60	3	37.5	4	50	4	50	0	0	
	2	0	0	1	20	1	12.5	2	25	3	37.5	3	37.5	
Kohezyon kaybı	0	7	100	1	20	4	50	2	25	3	37.5	2	25	0.0001
	1	0	0	4	80	3	37.5	4	50	4	50	0	0	
	2	0	0	0	0	1	12.5	2	25	1	12.5	6	75	



**Şekil 3.** Sham grubu. Normal görünümde over dokusu (H&E,x4).

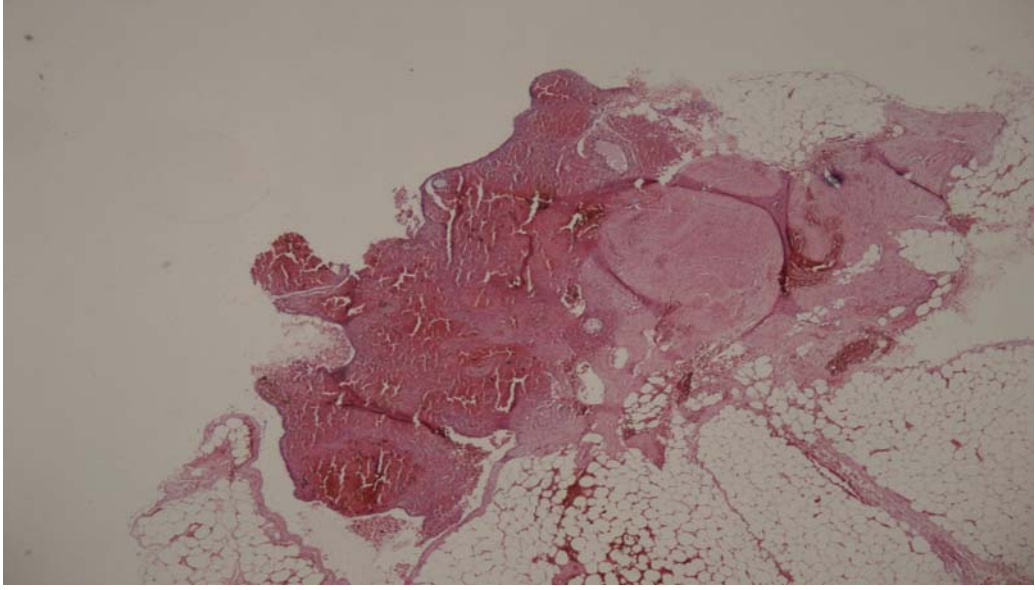


**Şekil 4.** I/R + C vitamini grubunda yer alan ratlara ait over dokusunda sham grubuyla karşılaştırıldığında hafif derecede artmış ödem, kanama ve belirgin derecede artış gösteren kanama, konjesyon ve kohezyon kaybı bulguları izlenmektedir (H&E,x4).

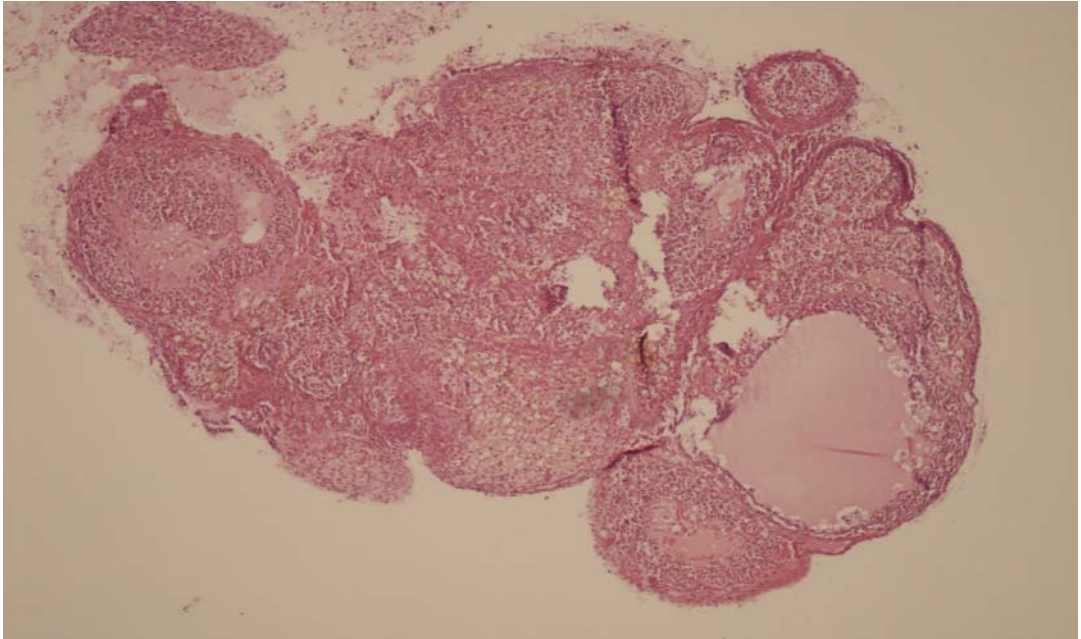


**Şekil 5.** I/R + C vit + Se grubunda hem Sham hem de I/R + C vitamini grubuyla karşılaştırıldığında daha belirgin derecede artmış kanama, konjesyon, kohezyon kaybı ve orta derecede artmış ödem bulguları izlenmektedir (H&E,x4).

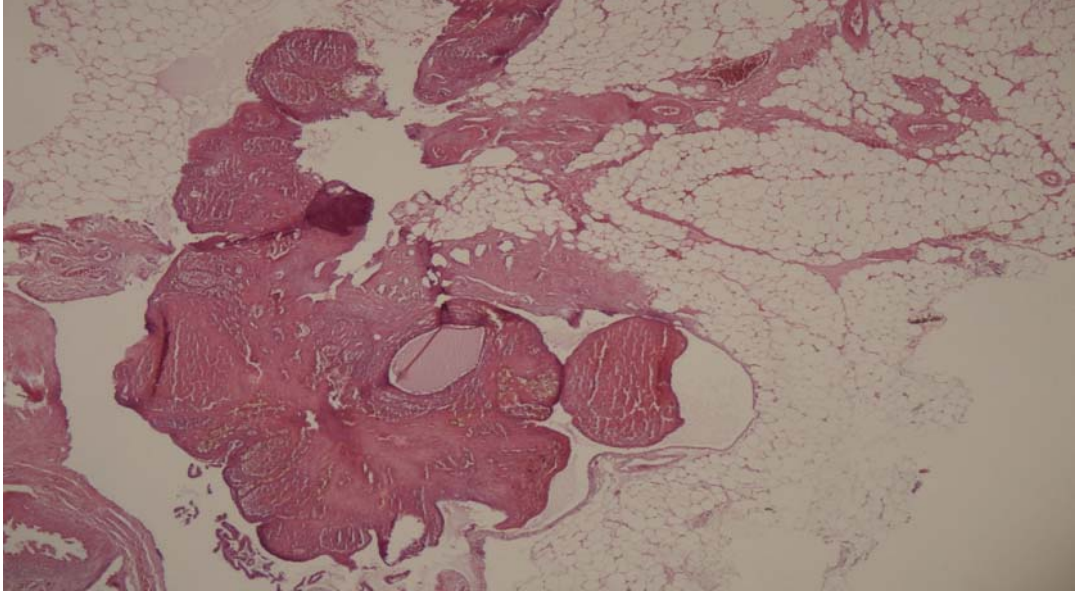




**Şekil 6.** İskemi grubunda hafif derecede ödem ve konjesyon tespit edildi (H&E,x4).



**Şekil 7.** I/R grubunda sham grubuyla karşılaştırıldığında hafif derecede artış gösteren ödem ve konjesyon izlenmektedir (H&E,x10).



**Şekil 8.** I/R + Se grubunda yer alan ratlara ait over dokusunda sham grubuyla karşılaştırıldığında orta derecede artış gösteren kanama, konjesyon, ödem ve kohezyon kaybı bulguları izlenmektedir (H&E,x4).

## 5. TARTIŞMA

Konuyla ilgili yapılan önceki çalışmalarda histopatolojik bulgular ödem, nekroz, konjesyon ve kohezyon kaybı şeklinde değerlendirilmekle beraber, bazı çalışmalarda bu parametrelerin şiddet derecesine göre; bulgu olmaması, hafif olması, orta düzeyde olması ve ağır olması şeklinde puanlama verilerek, total doku hasarı skoru şeklinde düzenlendiği de görülmüştür. Biz, çalışmamızda doku hasarı açısından, söz konusu nekroz parametrelerini de kendi arasında gruplara göre kıyaslayarak, total nekroz seviyesinin yanında; histopatolojik bulguları da kendi içinde bağımsız olarak sınıflandırıp, derecelendirdik ve bunların arasında da istatistikî fark saptadık.

Sağsöz ve ark. yaptıkları bir çalışmada iskemi/reperfüzyon modelinde mannitol, verapamil ve C vitamini uygulanmış, total doku hasar skoru en yüksek I/R grubunda saptanmıştı (45). Bu çalışmaya göre C vitamini mannitole göre dokuyu daha etkin korumakla beraber, sadece iskemi uygulanan gruba kıyaslandığında I/R + C vitamini grubunda total doku hasarı daha yoğun izlenmiştir. Bu durum çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Sağsöz ve ark. çalışmalarında uyguladıkları mannitolün total doku hasarı açısından çalışmamızdaki selenyum ile benzerlik gösterdiği söylenebilir. Çalışmamızda en fazla hasar I/R grubunda görülmekle beraber; I/R + C vitamini grubundaki hasar I/R grubundaki hasardan daha az olmakta ve iskemi grubu, diğer tedavi gruplarından daha iyi gözükmektedir. C vitamini buna benzer pek çok çalışmada hücre nekrozuna karşı koruyuculuğu ile gerek profilaktik; gerekse tedavi anlamında olumlu sonuçlar vermiştir. Örneğin Rodrigo ve ark. atrial fibrilasyonun ardından myokardial iskemik alanın küçültülmesine yönelik yaptıkları çalışmada, hastalara profilaktik C ve E vitamini vermişler; C vitamini verilen gruptaki hastaların myokardial iskemi alanlarında diğer gruplara göre belirgin miktarda küçülme saptamışlardır (46).

Ödem, kanama, konjesyon ve kohezyon kaybının Sham grubunda diğer gruplara göre az görülmesi total doku hasarını azaltmıştır. Bu beklediğimiz bir durumdur. Ancak total doku hasarı diğerlerinden az da olsa, sıfır değildir; konjesyon az miktarda da olsa görülmüştür. Konjesyon derecesi de iskemi grubuyla benzerlik göstermiştir. Bu durum 4 saatlik iskemi periyodunun konjesyon açısından yeterli

olmadığını gösterebilir; başka bir açıklama ise diğer parametreler kadar güven verici olmadığıdır. Zaten p değeri de 0.021 olarak diğerlerinden farklılık göstermişti.

İskemi grubunda reperfüzyon oluşmaması ve buna sekonder serbest radikal hasarı gelişmediğinden I/R grubuna göre daha az doku hasarı beklenmektedir. Fakat beklenenin aksine iskemi grubunda, 4 saatlik klempe uygulamasına rağmen kanama ve kohezyon kaybı hafif şiddette görüldü, ancak konjesyon kaybı hafif ve orta derecelerde olmak üzere farklı bir dağılım gösterdi. Bu, iskemi grubunda rat sayısının az olması (n=5) ile açıklanabilir. Diğer yandan I/R grubundan bu kadar farklı olması 4 saatlik iskeminin doku canlılığını korunması için yeterli bir zaman olduğu söylenebilir. Yani rat modelinde 4 saatlik iskemik periyodun ardından reperfüzyon hasarı oluşturmadan müdahale edebilirsek dokunun fazla zarar görmeyeceğini söyleyebiliriz.

I/R grubunda daha önce yapılmış pek çok çalışmaya atfen serbest radikal hasarıyla iskeminin kendi hasarından daha çok zarar vermesini bekliyorduk. Ödem iskemi grubunda hiç görülmemişti ama I/R grubunda hafif düzeyde görüldü. Kanama iskemi grubunda hafif düzeydeyken, bu grupta orta düzeydeydi. Konjesyon ve kohezyon kaybı ise I/R grubunda iskemi grubuna göre daha az şiddette görüldü ama tedavi gruplarına göre daha yoğun olarak görüldü. Ama genel olarak ödem ve kanamanın daha ön planda olduğu söylenebilir. Tedavi gruplarında beklediğimiz sonuç antioksidan uygulamasını takiben mevcut nekroz bulgularının azalması veya kaybolmasıydı. Zaten benzer çalışmalarda C vitamini de dahil olmak üzere overde I/R hasarında antioksidan uygulamasının nekroz bulgularını azalttığı gösterilmişti. Ancak selenyumun overde I/R hasarı üzerine etkisi ile ilgili benzer bir çalışma yapılmamıştı. Literatüre baktığımızda selenyumun hücre nekrozu üzerine antioksidan etkinliğini araştıran çalışmaların en çok miyokard ve beyin dokusu üzerine yapıldığını, hücre nekrozu ve inflamatuvar yanıt açısından da gastrointestinal sistem üzerine yoğunlaştığını görüyoruz. Selenyumun overde etkinliğini değerlendiren histopatolojik çalışma bulunmamakla beraber, I/R hasarında biyokimyasal parametreler değerlendirilerek özellikle beyin dokusu ve miyokardiyumda hücre koruyucu etkinliği dokuda ve kanda değerlendiren birçok çalışma yapılmıştır. Özbal ve ark. yaptıkları bir çalışmada beyindeki I/R hasarının nöronal hasar ve apoptoz ile sonlanmasından yola çıkarak TNF-alfa, IL-beta'nın serebral iskemide biriktiği, bu

metabolitlerin ölçülmesiyle selenyumun serebral iskemide koruyucu rolü olup olmadığı değerlendirilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada apostain ve caspase-3 ile immun boyama yapılarak apoptozis histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Tedavi grubunda apoptotik hücreler tarafından tutulan immun boyalı paternin (apostain ve caspase-3 tarafından yoğun olarak tutulan hücreler), I/R grubu ile kıyaslandığı zaman büyük ölçüde azalmış olduğu görülmüştür. Diğer yandan araştırılan biyokimyasal parametrelerde (TNF-alfa, IL-Beta) de hücre nekrozu yönünde birikim izlenmiştir (47). Selenyum bu çalışmada günlük 0.625 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal olarak verilmiştir. Biz çalışmamızda 0.02 mg/kg selenyumunu 1 dakika içinde intravenöz yoldan verdik. Selenyum verilmiş yolu ve miktarında farklılık olmakla beraber; farklı dokuların iskemiye yanıtının farklı olmasının da göz önünde bulundurarak selenyumun çalışmamızda beklenenden az etki gösterdiği söylenebilir.

Biz çalışmamızda hem selenyumunu ilk kez iskemi reperfüzyon hasarında uyguladık, hem de selenyum ve daha önce olumlu etkisi hakkında kanıtlar bulunan C vitamini selenyum ile beraber uyguladık. Tedavi gruplarında göze çarpan en önemli bulgu C vitamini ve selenyumun birlikte verilmesinin hücreye en büyük zararı verdiği, ödem, kanama, konjesyon ve kohezyon kaybının diğer grupların hiçbirinde görülmediği kadar şiddetli olmasıdır. C vitamini ve selenyum uygulanan gruplarda doku hasarı ile ilgili bulgular hafif ve orta şiddetli olarak izlenmiş; selenyum grubunda kanama, C vitamini grubundan daha yüksek olmakla beraber, gruplar benzerlik göstermiştir. Ek olarak C vitamini ve selenyumun ayrı ayrı uygulandığı gruplarda total hasar olarak iskemi grubuna benzemektedir. Bu durum C vitaminiyle yapılan önceki çalışmalara benzerlik göstermektedir. Ancak bu çalışmada temel hedefimiz iskemi ve I/R hasarında antioksidanların tedavi edici rolünü ortaya koymak olduğu için çalışmamızda iki antioksidan kullanımı sonrası bu gruplarda total nekroz değerlendirilmesi yapılmıştır. Ve sonuç olarak tedavi gruplarındaki total doku hasarının I/R grubundan biraz iyi, iskemi grubunda da neredeyse benzer özellikler göstermesi beklediğimiz bir bulgu değildir. Bu denek sayısının kısıtlı olması, iskeminin 4 saat uygulanması ve reperfüzyonun 1 saat uygulanıp örneklendirilmesi nedeniyle meydana gelmiş olabilir. Çalışmanın gücünü arttırmak için iskemi süreleri açısından da ratlar gruplandırılabilirdi; hatta aynı tedavi grupları farklı iskemi ve reperfüzyon gruplarıyla karşılaştırılabilirdi. Ancak

Çalışmamız belirli sürede belirli tedavi gruplarıyla antioksidan etkinliği değerlendirmek olduğundan çalışmamızdaki iskemi süresini 4 saat, reperfüzyon süresini ise 1 saatle sınırlı tuttuk.

## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızda, I/R grubunda, iskemi grubundan daha fazla hasar tespit ettik. Bu durum günümüzde over torsiyonun konservatif yöntemi olarak kabul edilen detorsiyone edip, overi yerinde bırakma ve ek hasar önleyici yöntem kullanmayan yönetimi tartışmaya açabilir. Intraoperatif olarak overlerin değerlendirilip, torsiyon derecesine ve overin görünümüne göre belki de aşamalı olarak detorsiyon veya kısmi detorsiyon gündeme gelebilir. Veya detorsiyona ek olarak önce başka cerrahi teknik veya reperfüzyon hasarını sınırlayıcı medikasyonlar denenebilir.

Antioksidan ilaçların detorsiyon öncesi etkinliğini değerlendiren çalışmamızda, C vitamini ve selenyum gruplarının I/R grubuna göre daha iyi durumda olduğunu, ama iskemi grubuyla benzer bulgular gösterdiğini tespit ettik. Bu durum C vitamini ve selenyumla ilgili önceki çalışmalarla uyumlu değildir. Beklediğimiz; antioksidan alan gruplarda nekrozun I/R grubuna ilaveten, iskemi grubundan da az görülmesiydi. Bu durum denek sayısının az olmasıyla da ilişkili olabilir. Ancak yine de selenyum ve C vitaminin iskemi reperfüzyon hasarında nekrozu azalttığı gösterdik. İlginç olan bu iki güçlü antioksidanın beraber verildiğinde dokuya tek başlarına verilmesine kıyasla daha etkili olmadığıdır. Hatta antioksidanların beraber verilmesi, tek tek verilmelerinin tam tersine hücreye yarardan çok zarar getirmiştir. Antioksidanlar bu şekilde beraber kullanılması uygun olmayabilir.

Over torsiyonu, henüz fertilitatesini tamamlamamış reproduktif dönemdeki bayanlarda görülen önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir. Günümüzün konservatif yaklaşımı olan detorsiyondan önce, C vitamini ve selenyumun insanlarda yapılacak çalışmalarla hücre nekrozu üzerine olan etkinliklerinin değerlendirilmesi over torsiyonu yönetiminde yeni ufuklar açılabilir.

## **7. KAYNAKLAR**

- 1-** Hibbard L. (1985) Adneksiyal torsion. Am. J. Obstet. Gynecol.1985; 152, 456-461.
- 2-** Bayer A.I. and Wiskind, A.K. Adnexal torsion: can the adnexa be saved? Am J Obstet Gynecol 1994;171:1506-10.
- 3-** Mashiach S, Bider D, Moran O, Goldenberg M, Ben-Rafael, Z. Adnexal torsion of hyperstimulated ovaries in pregnancies after gonadotropin therapy. Fertil Steril.1990;53:76-80.
- 4-** Oelsner G, Bider D, Goldenberg M, Admon D and Mashiach, S. Long term follow-up of the twisted ischemic adnexa managed by detorsion. Fertil Steril. 1993; 60:976-979.
- 5-** Wagaman R and Williams R. S. Conservative therapy for adnexal torsion. A case report. J Reprod Med. 1990;35:833-4.
- 6-** McHutchinson L L, Koonings P P, Ballard C A. and d 'Ablaing G. Preservation of ovarian tissue in adnexal tissue with florescein. Am J. Obstet. Gynecol. 1993;168: 1386-8.
- 7-** Sussman M S. and Bulkley G B. Oxygen-derived free radicals in reperfusion injury. Methods Enzymol. 1990;186:711-42.
- 8-** Rangan U. And Bulkley G.B. Prospects for treatment for free radical-mediated tissue injury. Br. Med. Bull. 1993;49:700-18.
- 9-** Das D.K. and Maulik N. Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury. Methods Enzymol. 1994; 233: 601-10.
- 10-** Zimmerman B J and Granger D N. Mechanisms of reperfusion injury. Am. J. Med. Sci.1994;307:284-292.
- 11-** Yoshida S, Inoh S, Asano T, Sano K, Kubota M, Shimazaki H. And Ueta N. Effect of transient ischemia on free fatty acids and phospholipids in the gerbil brain. J. Neurosurg. 1980;53:323-31.
- 12-** Jolly S.R, Kane W.J, Bailie M.B, Abrams G.D. and Lucchesi B.R. Canine myokardial reperfusion injury its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase.Circ.Res.1984;54:227-285.



- 13-** McCord, J.M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Eng. J. Med.* 1985;312: 159-63.
- 14-** Fridovich I. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1983;23:239-57.
- 15-** Slater T F. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* 1984;222:1-15.
- 16-** Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 1995;41:1819-1828.
- 17-** Yoshida S, Abe K, Busto R, Watson B D, Kogure K, Ginsberg M D. Influence of transient ischemia on lipid-soluble antioxidants, free fatty acids and energy metabolites in rat brain. *Brain Res.* 1982;245:307-316.
- 18-** Mossman HW, Koering MJ, Ferry D Jr. Cyclic changes in interstitial gland tissue of the human ovary. *Am J Anat.* 1964;115:235.
- 19-** Block E. Quantitative morphological investigation of the follicular system in women. *Acta Anat.* 1952;14:108.
- 20-** Williams Obstetrics 20th edition, Prentice-Hall international, Inc.
- 21-** Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment edited by Alan H. DeCherney & Martin L. Pernoll 8th edition.
- 22-** Flaherty, J.T. Myocardial injury mediated by oxygen free radicals. *Am. J. Med.* 1991; 91:79.
- 23-** Grech E D, Bellamy C M, Jackson M J, Muirhead R A, Faragher E B, Ramsdale D R. Free-radical activity after primary coronary angioplasty in acute myocardial infarction. *Am. Heart. J.* 1994;127:1443.
- 24-** 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.
- 25-** Parmley L F. *Can. J. Cardiol.* 1992; 8:280.
- 26-** 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.

- 27-** Rashid M A and W-O. Goran. Influence of allopurinol on cardiac complications in open heart operations. *Ann. Thorac. Surg.*1991; 52:127.
- 28-** 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.
- 29-** Euler D E. Role of oxygen-derived free radicals in canine reperfusion arrhythmias. *Am J. Physiol.*1995;268:295.
- 30-** 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.
- 31-** 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.
- 32-** 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.
- 33-** 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.
- 34-** 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.
- 35-** 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.
- 36-** 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.

- 37-** 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;170:64-6.
- 38-**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.
- 39-**M J Silver, J M Sutton, S Hook, P Lee, J L Malycky, M L Phillips, S G Ellis, E J Topol and F A Nicolini. Adjunctive selectin blockade successfully reduces infarct size beyond thrombolysis in the electrolytic canine coronary artery model. *Circulation.*1995; 92:492-9.
- 40-** Selenium: its role as antioxidant in human health-Ujang tinggi – *Environ health prev Med* 2008; 13: 102 – 108- review.
- 41-** Sies, Helmut and Stahl, Wilhelm. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition.*1995;62:1315-1321.
- 42-** Levine and Mark. New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *New England Journal of Medicine*, 1986;314: 892-902.
- 43-** Levine and Mark. Determination of optimal vitamin C requirements in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1995;1347-56.
- 44-** Taşkın Ö, Birincioğlu M, Aydın A, Buhur A, Burak F, Yılmaz and Wheeler, J.M. The effects of twisted ischaemic adnexa managed by detorsion on ovarian viability and histology: an ischaemi-reperfusion rodent model. *Human Reprod.* 1998; 13, 2823-27.
- 45-** Nevin S, Üçler K and Alpaslan A. Ischaemia-reperfusion injury of rat ovary and the effects of vitamin C, mannitol and verapamil. *Human Reproduction.* 2002; 17(11): 2972-76
- 46-** Rodrigo R, Vinay J, Castillo R, Cereceda M, Asenio R, Zamorano J, Araya J, Castillo-Koch R, Espinosa J, Larrain E. *Int J Cardiol.* 2010; 138(3): 221-8
- 47-** Özbâl S, Erbil G, Koçdor H, Tuğyan K, Pekçetin C, Ozoğul C. The effects of selenium against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Neurosci Lett.* 2008; 438(3): 265-9.

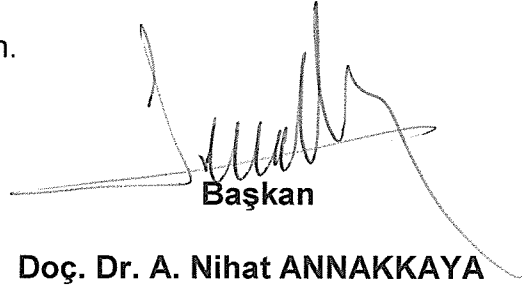
T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ETİK KURUL  
DENEY HAYVANLARI ALT KURULU

Tarih: 18.06.2010  
No: 10

**Sayın Dr. Mustafa ALBAYRAK**

Aşağıda belirtilen araştırmanız Etik Kurulumuz tarafından ilgili yönetmelik ve yönergeler uyarınca evrensel etik kurallar çerçevesinde değerlendirilmiş ve oybirliği ile “uygun” bulunarak Etik Komite onayı verilmiştir.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.



**Başkan**  
**Doç. Dr. A. Nihat ANNAKKAYA**

**Protokol No:** 2010-10

**Araştırmanın Adı:** “Rat overinde iskemi-reperfüzyon hasarı, selenyum ve C vitamin etkileri”