

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI



DENEYSEL OVER TORSİYONU SONUCUNDA OLUŞAN
HİSTOPATOLOJİK HASAR ÜZERİNE L CİTRULLİN'İN
ANTİOKSİDAN ETKİLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İHSAN ŞAFAK

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. M.Ayhan EKİCİ

BOLU, ARALIK - 2022

KABUL VE ONAY SAYFASI

İhsan Şafak tarafından hazırlanan “Deneyssel over torsiyonu sonucunda oluşan histopatolojik hasar üzerine L- citrullin’in antioksidan etkileri” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Kadın hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı’nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği kabul edilmiştir.01.12.2022

Jüri Üyeleri

Danışman
Doç.Dr.M.Ayhan Ekici
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Prof.Dr. M.Ata Topçuoğlu
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Doc.Dr. Alper Başbuğ
Düzce Üniversitesi

İmza

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

Aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 01/12/2022 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 13 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için BAİBÜ Araştırmalar Etik Kurulundan 2022/11 sayısı ile etik izin alınmıştır.

01/12/2022

İHSAN ŞAFAK

ÖZET

**DENEYSEL OVER TORSİYONU SONUCUNDA OLUŞAN
HISTOPATOLOJİK HASAR ÜZERİNE L- CITRULLIN'IN
ANTIOKSIDAN ETKİLERİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ
İHSAN ŞAFAK
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUMANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ.DR. M. AYHAN EKİCİ)

**BOLU, ARALIK - 2022
XIV + 53**

AMAÇ: Over torsiyonu overin kendi etrafında dönmesi ve bazen de tuba uterina etrafında dönmesi olarak tanımlanmaktadır. Torsiyonla beraber over dokusuna giden kan akımı azalmakta ve bu sürecin uzaması devam etmesi durumunda overde iskemi ve nekroz oluşabilmektedir. Over torsiyonun cerrahi tedavisi torsiyone olmuş alanın detorsiyone edilmesidir. Reperfüzyona bağlı olarak over dokusunda oksijen radikallerinin oluşmasına bağlı olarak over dokusunda zarar meydana gelmektedir. Bu çalışmada radlarda over torsiyonunda erken dönemde kullanılabilecek L-citrullin'nin over dokusunda iskemik hasar üzerine etkilerini araştırdık.

YÖNTEM: Çalışmada toplam 21 Sprague-Dawley türü (200-250gr) dişi radlar kullanılmıştır. Her biri 7 rad içeren kontrol, iskemi reperfüzyon (İR) (OI grubu) ve İR+ L-Sitrüllin (OL grubu) olmak üzere toplam 3 grup oluşturuldu. Çalışma grubuna 3saatlik iskemi sonrası reperfüzyondan 30 dk önce 200 mg/kg L-citrüllin intraperitoneal olarak verilmiştir. Daha sonra ise çıkarılan over dokusundan histopatolojik değerlendirmeler yapılmış, alınan kan örneklerinde Total Thiol (TT), Native Thiol (NT), Disulfide (SS), SS/SH; %, Estradiol (E2) seviyeleri biyokimyasal olarak ölçülmüştür. 3 Grup arasında değerlendirme Kruskal Wallis testi ile, iki grup arası karşılaştırmalar ise Mann Whitney U testi ile yapılmış ve $P<0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR: Over dokusundan yapılan histopatolojik incelemelerde İR grubunda belirgin foliküler dejenerasyon, hemoraji, vakuolizasyon, hücreler arası ödem inflamasyon ve vasküler staz izlendi. İR hasarı sırasında uygulanan citrüllin

grubunda ise belirgin derecede folikül dejenerasyonunda hemoraji, vakuolizasyon, hücreler arası ödem ve vasküler stazda anlamlı düzeyde düzelme izlendi($P<0,05$). Biyokimyasal açıdan değerlendirildiğinde Total tiyol düzeyleri açısından üç grup arasında anlamlı fark izlenmemiştir($P:0,130$). Native Thiol (NT) düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak diğer gruplardan fazla bulunmuş($P:0,026$), OI ve OL grupları arasında NT açısından anlamlı fark saptanmamıştır($P:0,110$). Disulfide (SS) düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak diğer gruplardan daha düşük($P:0,002$) olduğu halde, OI ve OL grupları arasında SS düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($P:0,142$). Disülfide /Nativ Tiyol (SS/SH) oranı kontrol grubunda diğer iki gruptan anlamlı oranda daha düşük bulunmuş ($P:0,002$), OI ve OL grupları arasında ise anlamlı farklılık saptanmamıştır($P:0,749$). Estradiol(E2) düzeyleri kontrol grubunda diğer iki gruptan anlamlı oranda yüksek bulunmuş($P:0,001$), OI ve OL grupları arasında E2 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır($P:0,179$).

SONUÇ: L-citrüllin' in overyan iskemi sonrası oksidatif stres radikallerini azaltmadığı ancak histopatolojik olarak over dokusunda iyileştirici etkilerinin olduğu bulundu. İskemi ve reperfüzyon hasarını önlemede ve tedavi etmede koruyucu olarak kullanılabilir ancak üzerimde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELEER: İskemi reperfüzyon hasarı, L citrüllin, Over, Antioksidan

ABSTRACT

**ANTIOXIDANT EFFECTS OF L-CITRULLIN ON
HISTOPATHOLOGICAL DAMAGE CAUSED BY EXPERIMENTAL
OVARIAN TORSION
THESIS IN MEDICINE
İHSAN ŞAFAK
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY
DEPARTMENT OF GYNECOLOGY AND OBSTETRICS
(SUPERVISOR: DOÇ. DR. M. AYHAN EKİCİ)**

**BOLU, DECEMBER 2022
XIV + 53**

AIM: Ovarian torsion is defined as the rotation of the ovary around itself and sometimes around the tuba uterina. With torsion, the blood flow to the ovarian tissue decreases and if this process continues, ischemia and necrosis may occur in the ovary. Surgical treatment of ovarian torsion is detorsioning of the torsioned area. Ovarian tissue damage occurs due to the formation of oxygen radicals in the ovarian tissue due to reperfusion. In this study, we investigated the effects of L-Citrullin, which can be used in the early period in ovarian torsion in rats, on ischemic damage in ovarian tissue.

METHOD: A total of 21 Sprague-Dawley species (200-250gr) female rats were used in the study. A total of 3 groups were formed, each containing 7 rats, control, ischemia reperfusion (IR) (OI group) and IR + L-Citrulline (OL group). The study group was given 200 mg/kg L citrulline intraperitoneally 30 minutes before reperfusion after 3 hours of ischemia. Then, histopathological evaluations were made from the removed ovarian tissue. In the blood samples taken, Total Thiol (TT), Native Thiol (NT), Disulfide (SS), SS/SH; %, Estradiol (E2) levels were measured biochemically. Evaluation between 3 groups was made with Kruskal Wallis test, comparisons between two groups were made with Mann Whitney U test and $P < 0.05$ was accepted as significant.

FINDINGS: In the histopathological examinations of the ovarian tissue, significant follicular degeneration, hemorrhage, vacuolization, intercellular edema, inflammation and vascular stasis were observed in the IR group. In the L

citrulline group administered during IR injury, significant improvement was observed in hemorrhage in follicle degeneration, vacuolization, intercellular edema and vascular stasis ($P<0.05$). When evaluated biochemically, there was no significant difference between the three groups in terms of total thiol levels ($P:0.130$). Native Thiol (NT) levels were found to be significantly higher in the control group than the other groups ($P:0.026$), and no significant difference was found between the OI and OL groups in terms of NT ($P:0.110$). Although disulfide (SS) levels were significantly lower in the control group than the other groups ($P:0.002$), no significant difference was found between the OI and OL groups in terms of SS levels ($P:0.142$). Disulfide/Native Thiol (SS/SH) ratio was found to be significantly lower in the control group than the other two groups ($P:0.002$), but no significant difference was found between the OI and OL groups ($P:0.749$). Estradiol(E2) levels were found to be significantly higher in the control group than the other two groups ($P:0.001$), and no significant difference was found between the OI and OL groups in terms of E2 levels ($P:0.179$).

RESULT: It was found that L Citrulline did not reduce oxidative stress radicals after ovarian ischemia, but it had healing effects on ovarian tissue histopathologically. It can be used as a preventative in preventing and treating ischemia and reperfusion injury, but more studies upon it are needed.

KEYWORDS: Ischemia reperfusion injury, L citrulline, Ovary, Antioxidant

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO LİSTESİ	xi
RESİM LİSTESİ	xii
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	xiii
TEŞEKKÜR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Over anatomisi.....	3
2.2 Over anjiogenezi ve inervasyonu	4
2.3 Overin embriyolojisi	4
2.4 Over histolojisi.....	6
2.5 Over fizyolojisi	9
2.6 Over torsiyonu ve detorsiyonu.....	10
2.7 İskemi ve Reperfüzyon	13
2.8 Serbest Oksijen Radikalleri	17
2.9 Anti oksidan Sistemler.....	20
2.10 L- Citrullin.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1 Etik Kurul Onayı.....	25
3.2 Deney Modelinin Oluşması, Gruplandırılması Ve Cerrahi İşlemler	25
3.3 Biyokimyasal İşlemler	26
3.4 Histopatolojik İşlemler	26
4. BULGULAR	28
4.1 Biyokimyasal bulgular.....	28
4.2 Histopatolojik bulgular	32
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
7. KAYNAKLAR.....	46

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Uterus ve her iki overin anatomik görünümü	3
Şekil 2. Over embriyolojisi	5
Şekil 3. Overin 5 hafta ve 7. aydaki kesitsel görünümü	6
Şekil 4. Overin histolojik yapısı	7
Şekil 5. Oosit bölünme döngüsü	8
Şekil 6. Folikül gelişim aşamaları ve oosit bölünme döngüsü	10
Şekil 7. Over torsiyonunun laparoskopik görünümü	11
Şekil 8. Nekroze yapıda torsiyone over yapısı	12
Şekil 9. Sitoplazmik kalsiyum artışının kaynak ve sonuçları	14
Şekil 10. Hücresel düzeyde iskemi ve reperfüzyonu	14
Şekil 11. İskemi ve reperfüzyon hasarı	15
Şekil 12. İskemi reperfüzyon hasarında dokunun kısa ve uzun dönem yanıtı	16
Şekil 13. İskemi reperfüzyon oluşum mekanizması	17
Şekil 14. Serbest oksijen radikalleri	18
Şekil 15. Serbest oksijen radikalleri yaptığı hasar ve oluşan ürünler	19
Şekil 16. Hücresel oksidan ve antioksidan sistemi	20
Şekil 17. Başlıca bilinen antioksidan moleküller	21
Şekil 18. L Citrüllin moleküler düzeyde yapısı	22
Şekil 19. Citrüllin metabolizmasının vücuttaki diğer organlarla olan etkileşimi	23
Şekil 20. Üre döğüsünde arginin aminoasitinden citrüllin oluşum mekanizması	23

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Gruplar arasında Thiol-Disülfid homeostaz parametrelerinin ve östrodiolün karşılaştırılması.	29
Tablo 2. Overyen iskemi ve reperfüzyon hasarı (OI) ve L citrullin ile tedavi grubu (OL) arasında oksidan antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması	29
Tablo 3. Thiol-Disülfid homeostaz parametrelerinin Scotter-nokta grafikleri	30
Tablo 4. Östadiol (E2) noktalı çizelgesi	30
Tablo5. Folikül dejenerasyonu açısından üç grubun karşılaştırılması	35
Tablo 6. Vakuolizasyon açısından üç grubun karşılaştırılması	35
Tablo 7. Hücreler arası ödem açısından üç grubun karşılaştırılması	36
Tablo8. İnflamasyon açısından üç grubun karşılaştırılması	36
Tablo9. Vasküler staz açısından üç grubun karşılaştırılması	37
Tablo 10. Hemoraji açısından üç grubun karşılaştırılması	37
Tablo 11. Kontrol grubu ile iskemi reperfüzyon grubu karşılaştırılması	38
Tablo 12. Kontrol grubu ile tedavi grubu karşılaştırılması	39
Tablo 13. İskemi reperfüzyon grubu ile tedavi grubu karşılaştırılması	40

RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Resim1(A): Grup 1(kontrol grubu) 40x büyütme ile over dokusunun görünümü	32
Resim2(B): Grup1(kontrol Grubu)100x büyütme ile over dokusunun görünümü	32
Resim3(C): Grup1(kontrol Grubu)200x büyütme ile over dokusunun görünümü	32
Resim4(D): Grup1(kontrol Grubu)100x büyütme ile over dokusunun görünümü	32
Resim 5(A): Grup 2 (iskemi reperfüzyon) 40x ile over dokusunun görünümü	33
Resim 6(B): Grup 2(iskemi reperfüzyon)100x ile over dokusunun görünümü	33
Resim 7(C): Grup 2(iskemi reperfüzyon)200x ile over dokusunun görünümü	33
Resim 8 (D): Grup 2 (iskemi reperfüzyon)400x ile over dokusunun görünümü	33
Resim 9 (A) : Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 40 x büyütme ile over dokusunun görünümü	34
Resim 10(B): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 100 x büyütme ile over dokusunun görünümü	34
Resim 11 (C): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 200 x büyütme ile over dokusunun görünümü	34
Resim 12 (D): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 400 x büyütme ile over dokusunun görünümü	34

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

GPx	: Glutasyon Peroksidaz
SOD	: süperoksit Dismutaz
CAT	: katalaz
FSH	: Folikül Stimüle edici Hormon
LH	: Lüteinleştirici Hormon
PID	: Pelvik Enflamatuvar hastalık
OH⁻	: Hidroksil Radikali
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
NO⁻	: Nitrik Oksit
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
iNOS	: İnflamatuvar Nitrik Oksit Sentaz
L-Cit	: L Citrullin
L-Arg	: L Arginin
TT	: Total Thiol
SS	: Disulfide
NT	:Nativ Thiol
-SH	: Fonksiyonel (reaktif) tiyol gruplarına (-SH)
E2	: Estradiol
İR	: İskemi reperfüzyon hasarı

TEŞEKKÜR

Araştırma süresince engin bilgi ve birikimleriyle bana yol gösteren, her daim desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. M. Ayhan EKİCİ'ye canı gönülden minnettarlığımı sunarım.

Asistanlık sürecimde benden yardımlarını esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. M. Ata TOPÇUOĞLU hocama, Prof. Dr. Ülkü METE URAL olmak üzere tüm hocalarıma, tez süresince bana her türlü desteği sunan Doç. Dr. Özgür Mehmet YİS, Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA, Dr. Öğretim Üyesi Selma ERDOĞAN DÜZCÜ ve Bolu İl Sağlık Müdürü Doç. Dr. Muhammed Emin DEMİRKOL'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca lisans eğitimim süresince derslerime katkı sağlayan tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Araştırma esnasında benden yardımını esirgemeyen meslektaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca beni hep destekleyen ve bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan başta abim Cihan ŞAFAK olmak üzere aileme sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

1. GİRİŞ

1.1 GİRİŞ VE AMAÇ

Over torsiyonu overin kendi etrafında dönmesi ve bazen de tuba uterina etrafında dönmesi olarak tanımlanmaktadır. Torsiyonla beraber over dokusuna giden kan akımı azalmakta ve bu sürecin uzaması devam etmesi durumunda overde iskemi ve nekroz oluşabilmektedir. Over torsiyonu daha çok 20-40 aralığında izlenmektedir. Çocuk hastalarda ise nadir görülmekle birlikte bu oran yaklaşık 5/100000 olarak izlenmektedir. Acile başvuran şiddetli karın ağrısı ve akut batın yapan nedenler arasında over torsiyonu pediatrik yaş grubunda daha nadir olarak izlenmektedir [1,2].

Over torsiyonu herhangi bir patoloji saptanmayan normal izlenen overde nadirde olsa izlenebilmektedir. Daha çok overde izlenen kitleler torsiyona neden olmaktadır. Over torsiyonuna sebep olan kitleler arasında torsiyona yapan en sık lezyon benign kistik teratom olarak saptanmıştır. Overde izlenen maligniteler ise nadir over torsiyona sebep olmaktadır. Over torsiyonuna neden olan kitlenin büyüklüğü hakkında yeterli veri olmamakla birlikte genellikle 5 cm üzeri kitleler daha çok torsiyona neden olmaktadır [3].

Over torsiyonu daha çok acile non spesifik karın ağrısı bulantı kusma ile gelmekte tanı zorlaşmaktadır. Over torsiyonunu erken dönemde fertilizasyonun korunması açısından çok önem arz etmektedir. Kısa sürede fark edildiğinde over koruyucu cerrahi uygulanarak fertilizasyonu korumak ve ileri ki dönemde menopoza açısından olumsuz durumlar önlenmiş olmaktadır [4].

Over dokusunda overe giden kan akımı azaldığında hipoksi izlenmektedir. Hipoksiye bağlı olarak over dokusunda laktik asit lipit peroksidaz gibi miktarlarında artış saptanmaktadır. Lipit peroksidaz sonrası kan akımının artması Glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), gibi antioksidan savunma mekanizmalarının ortadan kaldıramayacağı kadar fazla serbest radikallerin ortaya çıkmasına neden olmakta bu nedenle over torsiyonunda reperfüzyon hasarı overe hipoksiden çok daha fazla zarar vermektedir. Bu süreç iskemi reperfüzyon hasarı olarak tanımlanmaktadır [5].

Over torsiyonun cerrahi tedavisi torsiyone olmuş alanın detorsiyonu edilmesidir. Detorsiyon enfarkt olmadan önce yapılırsa reperfüzyon sağlanmış olmaktadır. Burada ise asıl süreç başlamaktadır. Reperfüzyon sonrası yüksek miktarda serbest oksijen radikalleri ortaya çıkmaktadır. Reperfüzyona bağlı oluşan serbest oksijen radikalleri over dokusuna hipoksiden daha fazla zarar vermektedir [6,7,8].

Yumurtalık (over) iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesi için pek çok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalarda da çok sayıda ilaç kullanılmıştır. Bu çalışmada ilk defa yumurtalık iskemi-reperfüzyonu sonrası ortaya çıkan histopatolojik hasar üzerine L-Citrullin'in koruyucu etkisinin olup olmadığı antioksidan etkiler üzerinden araştırılacaktır.

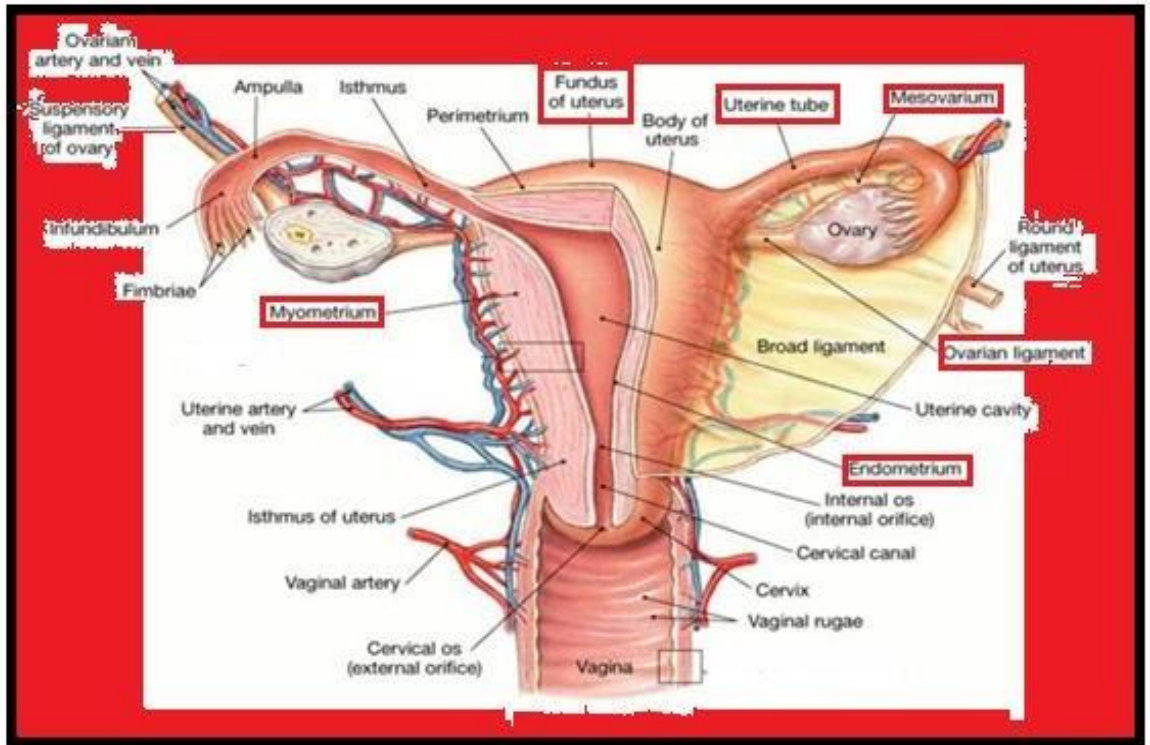
Bu çalışma ile klinik olarak oldukça sık karşılaşılan ve infertiliteye dahi sebep olabilen over torsiyonunda erken dönemlerde kullanılabilecek L-Citrullin'nin over dokusu üzerindeki hasarlanmayı azaltıcı etkileri ile olası olumlu etkilerinin gösterilmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Over anatomisi

Overler ortalama 1,5 cm genişliğinde 3 cm uzunluğunda yaklaşık olarak 4-8 gr ağırlığında bir organdır. Overler pelviste uterusun yanında intraabdominal olarak yerleşmektedir ve broad ligamentin arkasında rektumun önünde uterusun sağında ve solunda izlenen bir çift organdır [9,10,11].

İnfundubulopelvik ligament overi pelvise bağlarken uteroovaryan ligaman ise overi uterusu bağlamaktadır. İnfundubulopelvik ligament içerisinde overi besleyen ve overe ait damar ve sinir ağı geçmektedir. Tuba uterinanın anteriorunda ise round ligament yer almakta round ligament ise uterusu pelvise bağlamaktadır. Over ve komşu organların anatomic görünümü Şekil 1 de gösterilmektedir. Overler anatomik olarak crista iliaca ve simfiz pubis arasında yer almaktadır [12,13].



Şekil 1: Uterus ve her iki overin anatomik görünümü

Over dokusunu 3 tabaka oluşturmaktadır. Bu tabakardan dışta korteks iç kısmında ise medulla ve korteks bulunmaktadır. Medulla ve ve hilus ayrımı net olarak ayırt edilememektedir. Foliküller ise overin medulla ve korteksinde izlenmektedir [15].

2.2 Over anjiogenezi ve inervasyonu

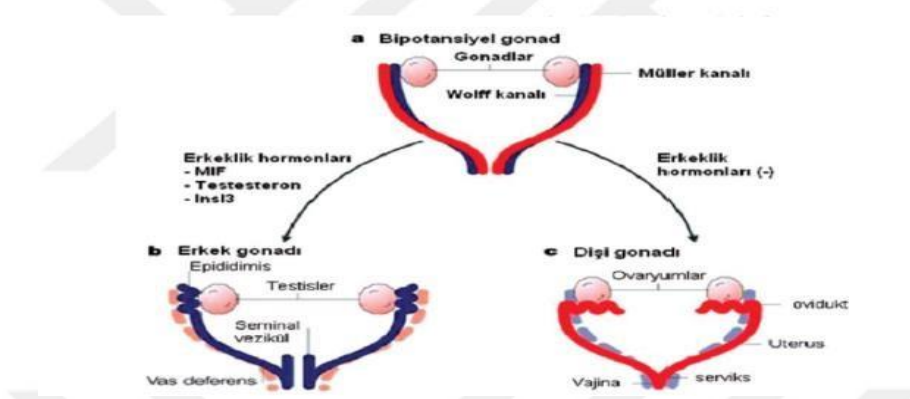
Overi besleyen 2 adet damar mevcuttur. Bu damarlardan biri ovaryan arterdir. Diğer arter ise uterin arterin ovaryan dalıdır. Bu iki arter uterusun lateral kenarında anastomoz yapmaktadır. Overin arterleri aortanın bir dalıdır ve infundibulopelvik ligaman ile birlikte seyretmektedir. Tuba uterina ise ovaryan arterin broad ligament içerisinde verdiği bir dal tarafından beslenmektedir. Ovaryan venler ise infundibulopelvik ligament boyunca seyretmektedir. Ovaryan venler uterus ve tuba etrafında pampiniformis pleksusu oluşturmaktadır. Pampiniformis pleksus ise birleşerek ovaryan veni oluşturmakta ovaryan ven ise vena cava inferiora drene olmaktadır [13].

Overin inervasyonu otonom pleksus tarafından inerve edilmektedir. Ovaryan pleksusun üst kısmını renal ve aortik pleksus oluştururken alt kısmını ise süperior hipogastrik ve inferior hipogastrik pleksus tarafından oluşturulmaktadır. Bu pleksuslarda postganglionik sempatik ve parasempatik lifler mevcuttur [13,14].

2.3 Overin embriyolojisi

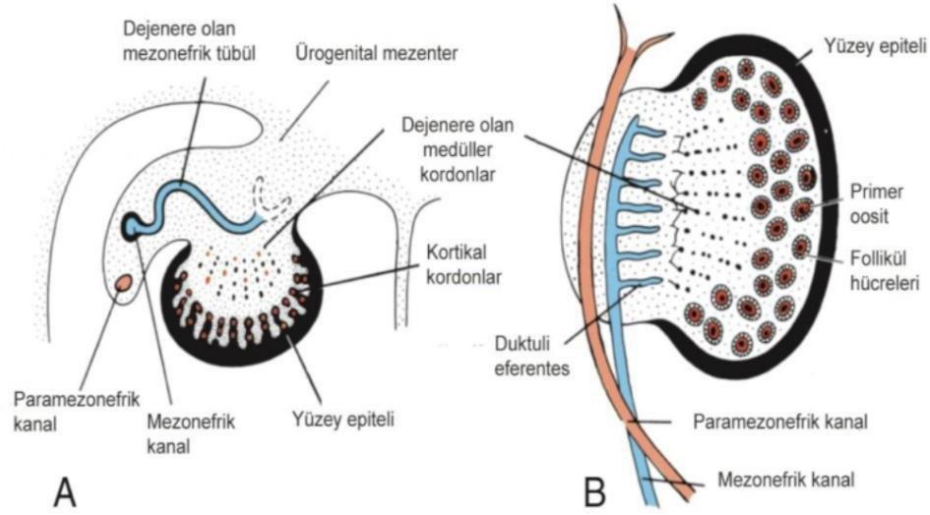
Gonadal yapılar olan overler ve testisler mezodermal epitel hemen altında yerleşen mezenkim doku ve primordiyal germ hücreleri tarafından oluşturulmuştur. Primordiyal germ hücreleri ilk olarak gestasyonel 5. haftada yolk kesesi duvarında tanımlanmıştır. Daha sonra 5. gestasyonel haftada primordiyal germ hücreleri genital çukurlar oluştuktan sonra dorsal mezenterdeki iki çukurlığa doğru ilerlemektedir. Daha sonra bu oluşumlar sonrası erkek ve dişi yönünde genetik sinyallere göre cinsiyet yönelim süreci takip etmektedir [16,17].

Cinsiyet farklılaşmasında bir çok genetik faktör yer almaktadır. Farklılaşma 7. Gestasyonel haftadan sonra oluşmaktadır. XY kromozomunun kısa kolunda bulunan SRY geni genetik farklılaşmada temel rol oynamaktadır Over embriyolojisinde cinsiyet farklılaşması **Şekil 2** de gösterilmiştir [18].



Şekil 2 Over embriyolojisi [18]

XX kromozomunda SRY geni olmaması nedeniyle dişi yapıya yönelmektedir. Primitif germ hücreleri de içeren hücre kümeleri over medullasına ilerlerler. Daha sonra stromal yapı oluşur ve over medullası oluşumu bu süreci takip eder. Dişi gonadda yüzeyel epitel bölünme süreci devam etmekte ve kortikal kort oluşmaktadır. Kortikal kort bölünmesi sonucu oluşan hücre kümeleri ile birlikte oogoniumu folikül hücreleri ile birlikte sarmakta ve primordiyal hücreler oluşmaktadır. Dişi gonadda medüller kordlar geriler kortikal kort oluşmaktadır. Over dokusunun 7. haftada ki ve 5. Aydaki kestirsel görünümü **Şekil 3** de gösterilmiştir [19,20,21].



Şekil 3 [20]

A: overin 7. haftadaki kesitsel görünümü

B: overin 5. aydaki kesitsel

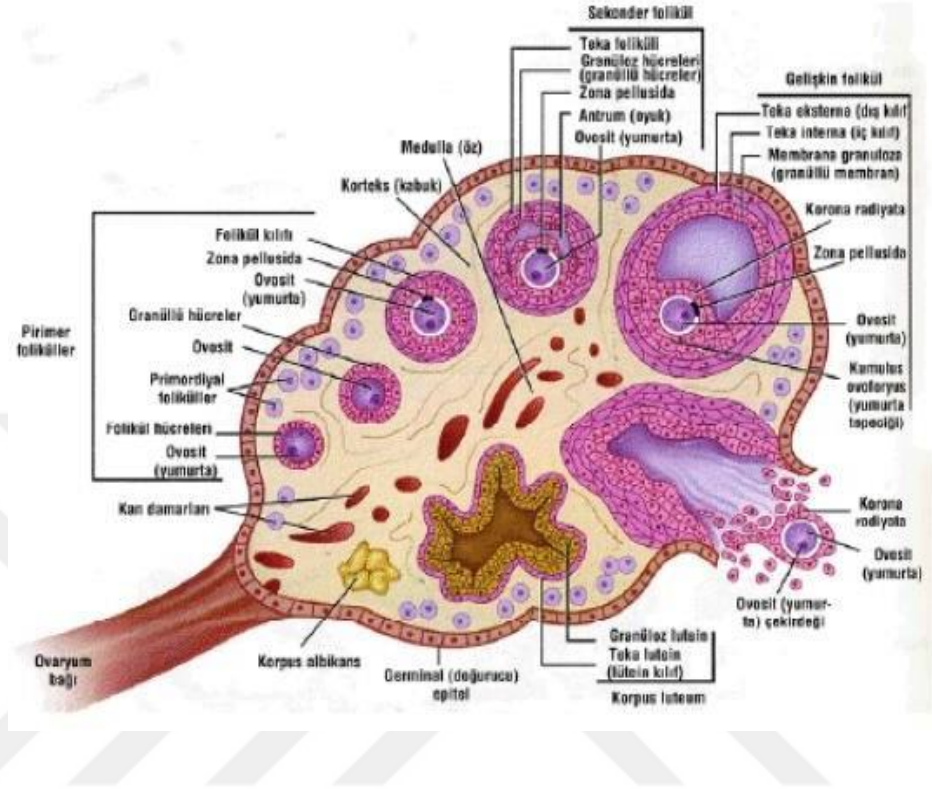
Primordiyal over yaklaşık 8. haftada ayırt edilebilmektedir. 12-15. Gestasyonel haftada ise artık oogoniumlardan mayoz bölünme başlar ve mayoz bölünmenin prefaz aşamasında süreç duraklar. Bu duraklama sonucu olan hücrelere primer oosit denilmektedir [22].

Gestasyonel yaklaşık 20. haftada korteks oosit ve pregranüloza hücreleri olarak ayrılır. Pregranüloza hücreleri germ hücrelerin etrafını sararak primordiyal hücreleri oluştururlar [22].

2.4 Over histolojisi

Over yüzeyi tek katlı kübik ve yassı epitel ile kaplıdır. Germinal epitel olarak adlandırılmıştır. Germinal epitelin altında tunica albuginea olarak isimlendirilen bağ dokusu mevcuttur. Bu bağ dokusunun altında ise foliküller korpus luteum gibi yapıları içeren korteks yapısı mevcuttur. Korteks yapısının etrafını ise gevşek bağ dokuya sahip stroma sarmaktadır. Bu gevşek bağ dokuya sahip stroma iğ şeklinde fibroblastlara sahiptir. Bu fibroblastların hormonal uyarılara karşı cevabı vücudun başka yerinde olan fibroblastlara göre farklılıklar içermektedir. Overin en iç kısmı ise medüller bölge olarak adlandırılmaktadır. Bu

bölgede yaygın damar ağı mevcuttur. Overin histolojik yapısı **Şekil 4** de gösterilmiştir. Overin korteksi ile medüller bölgesi arasında sınırı net ayrım yapılamamaktadır ve birbiri ile keskin bir sınır mevcut değildir [23].



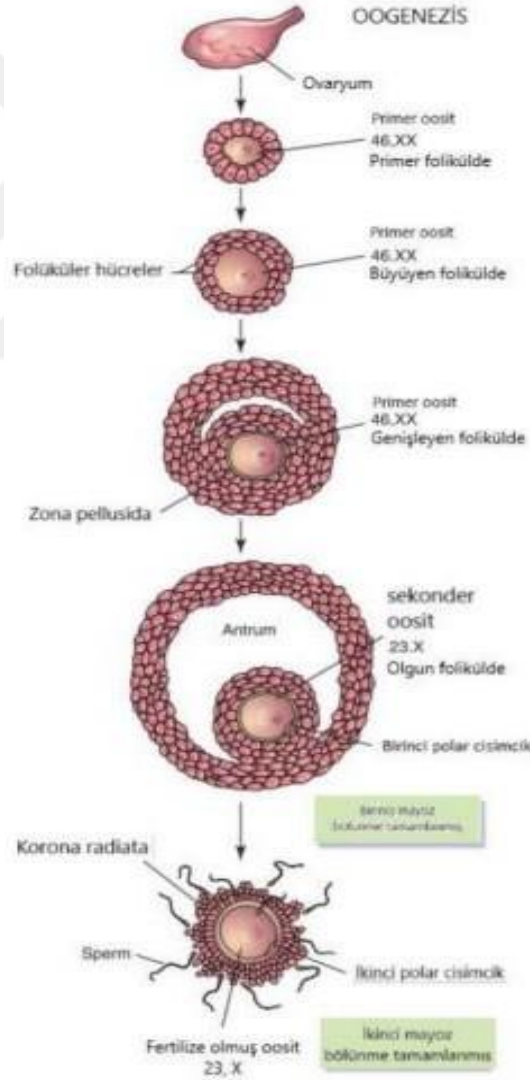
Şekil 4 : overin histolojik yapısı [24]

Primordiyal folikül yaklaşık gastasyonel 12. haftada oluşmakta ve tunika albuginea yapısının hemen altında yer almakta ve primordiyal folikül etrafında yassı epitel yer almaktadır. Primordiyal folikül büyüdükçe yassı epitel kübik epitel dönüşmekte ve primer folikülü oluşturmaktadır. Primer folikül büyüdükçe mukopolisakkarit yapıda olan zona pellisuda oluşmaktadır. Primer folikül etrafında bulunan epitel tabakası çoğalarak çok katlı primer folikülü oluşturmaktadır [25,26,27].

Folikül epiteline Granüloza tabakası olarak isim verilmektedir. Granüloza tabakasında hücresel farklılaşmalar olmasıyla birlikte teka interna ve teka eksterna tabakası oluşmaktadır. Granüloza tabakasında mitoz bölünme devam ederek sekonder folikül oluşur. Sekonder folikül oluşması sonrası gelişim devam eder ve granüloza hücreleri yaklaşık 8-12 tabaka oluşturarak folikülün son halini almasını sağlar. Daha sonra granüloza hücreleri arasında antrum olarak isimlendirilen için sıvı dolu boşluk oluşur ve sekonder folikül son halini almış olur [28,29].

Sekonder folikül büyüdükçe oosit ile uzaklaşır. Folikül ile oosit cumulus ooforus adı verilen bir yapı ile folikülün granüloza tabakasına bağlanmıştır [30].

Zona pellisuda ile granüloza hücreleri tarafından oositin kimliğini oluşturan korona radiata adında yapı oluşmaktadır. Ovulasyon sonrası tüm folikül korpus luteum adında bir yapıya dönüşür. Eğer döllenme olmamışsa korpus luteum yapısı bozulur ve corpus albicans yapısına dönüşür ve regrese olur Oosit bölünme döngüsü **Şekil 5** de gösterilmiştir [30,31,32,33].



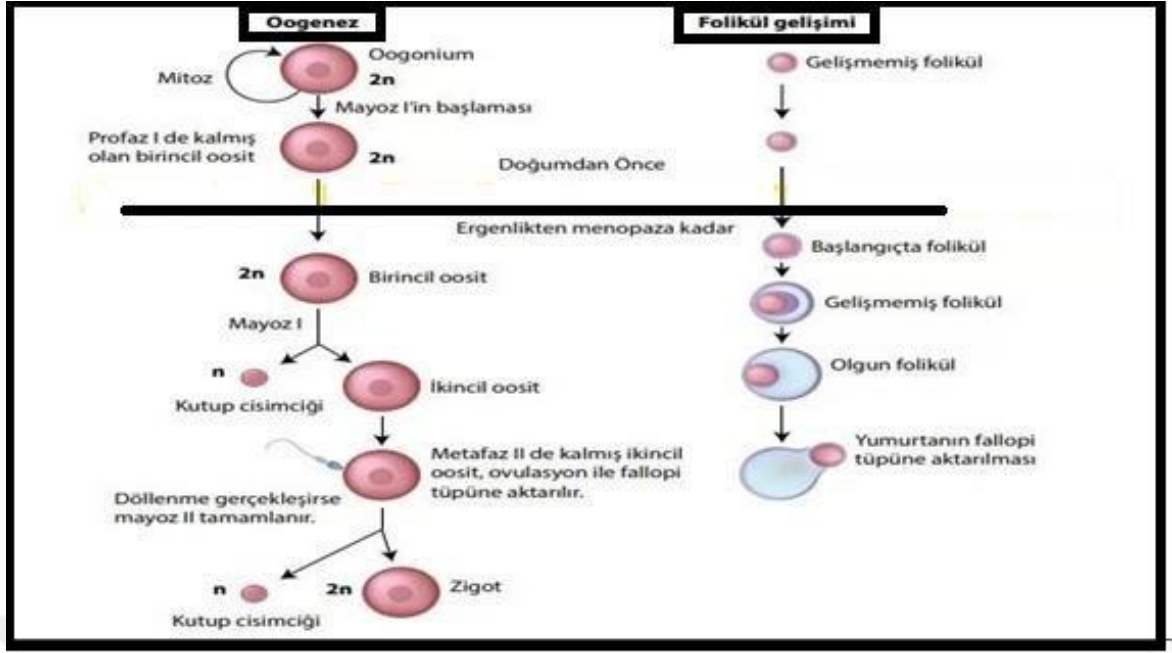
Şekil 5 Oosit bölünme döngüsü [33]

2.5 Over fizyolojisi

Over fizyolojisinde etkili iki hormon FSH ve LH hormonudur. Bu iki hormon folikül gelişmesi ve ovulasyonun oluşmasını sağlamaktadır. FSH her siklusta en az birkaç adet folikülün gelişmesini sağlar. FSH etkisi ile gelişen Graff Folikül (olgun folikül) siklusun yaklaşık 14. Gününde FSH ve LH etkisi ile hızlı bir büyüme gösterir ve LH pikinin yaklaşık 24 saat sonrasında ovulasyon gerçekleşir ve sekonder oosit atılımı gerçekleşir. Ovulasyon sonrası atılan oositin etrafını zona pellusida, korona radiata çevrelemektedir. Ovulasyon sonrası atılan sekonder oosit LH etkisi ile birlikte korpus luteum'a dönüşmektedir. Eğer fertilizasyon gerçekleşirse embriyo tarafından salgılanan beta hcg sayesinde korpus luteum' un devamı sağlanır korpus luteumdan gebeliğin devamını sağlayan progesteron hormonu salgılamaya başlar[34,35].

Ovulasyon sonrası eğer gebelik oluşmaz ise progesteron hormonu azalmasına bağlı olarak korpus luteum küçülmeye başlar ve corpus albicans'a dönüşür ve menstrüasyon kanaması ile atılır [34,35].

Hipotalamustan salgılanan GnRH hipofiz bezinden FSH ve LH hormonun salgılanmasını sağlar. FSH ve LH ise overden östrojen ve progesteron hormonu salgılatır. Kadın menstrüel siklusu bu hormonların etkisi altındadır. Yaşa bağlı olarak hormonal değişikliklere bağlı olarak siklusta değişiklikler izlenebilmektedir. Folikül gelişim aşamaları ve oosit bölünme döngüsü **Şekil 6** da gösterilmiştir [36,37].



Şekil 6 Folikül gelişim aşamaları ve oosit bölünme döngüsü

2.6 Over torsiyonu ve detorsiyonu

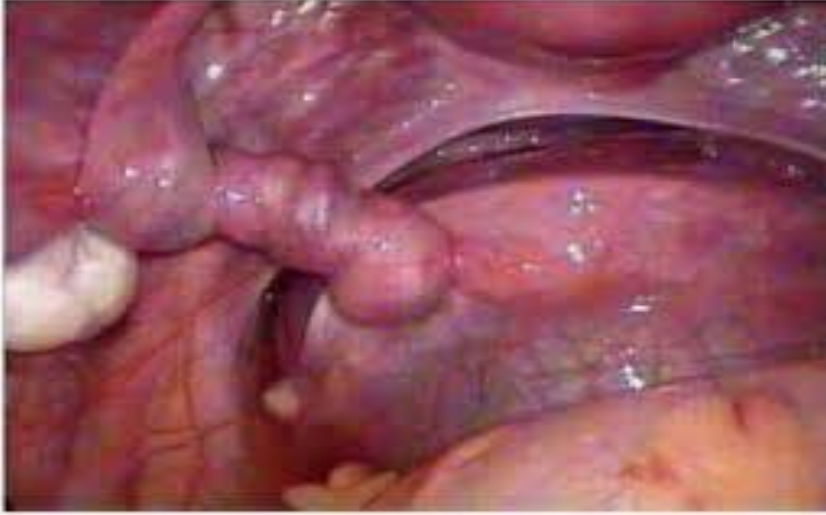
Over torsiyonu overin infundibulopelvik ve tuboovaryan ligament etrafında dönmesine verilen isimdir. Torsiyon olması ile birlikte overe giden kan akımı bozulur ve iskemi meydana gelir. Akut karın ağrısının sebeplerinden biridir. Non spesifik semptomlar ile acil başvuru ile gelmekte olup jinekolojik bir acil durumdur. Over torsiyonu ilk olarak 1890 yılında Sutton tarafından tanısı konulmuştur [38,39].

Over torsiyonu oluşmasına yatkınlık sağlayan bir çok etken vardır. Bunlardan en önemlileri overde bulunan kistler, neoplazi gibi overin büyümesine sebep olacak bir çok faktör torsiyon oluşmasına yatkınlık sağlamaktadır. Overin mezo yapısının uzun olması da yine torsiyon açısından yatkınlık sağlayan bir faktördür. Overyan neoplaziler içerisinde en sık torsiyone olan lezyon benign kistik teratomdur [40].

Overiın spesifik bir belirtici olmadığı için tanı konulması zordur. Acile genellikle karın ağrısı ile başvuran hastalarda tanı için iyi bir anamnez muayene ve pelvik USG gerekli ise BT ve MRI ile tanı konulmaktadır. USG de genellikle torsiyone olmuş over hacmi artmış, douglasta serbest mayii, overde görülene kitle

dopplerde kan akımında azalma, girdap işareti olarak da bilinen dönmüş pedikül görünümü tanı konulmasında yardımcı olmaktadır [40].

İnfertilite sebebiyle tedavi verilen hastalarda over hipersitümülasyonu yine over indüksiyonu polikistik over sendromuna bağlı olarak da over torsiyonu izlenmektedir. Sadece tuba uterina'nın torsiyone olduğu olgular hamilelik, hidrosalpenks, piyosalpenks gibi durumlarda torsiyon için yatkınlık sağlamaktadır. **Şekil 7** de torsiyone bir over dokusunun laparoskopik görüntüsü izlenmektedir. Endometrioma ve pelvik enflamatuar hastalıklarda (PID) yapışıklıların olması nedeniyle torsiyon ihtimali azalmakla birlikte eğer endometrioma büyük ve kitle şeklinde ise yine torsiyona yatkınlık sağlamaktadır [41,42].



Şekil 7 : Over torsiyonunun laparoskopik görünümü

Over torsiyonunda genellikle ilk bulgu şiddetli karın ağrısıdır. Karın ağrısı genellikle kolik ağrı şeklindedir. Bunun yanında bulantı kusma, subfebril ateş ve yan ağrısı olabilmektedir. Torsiyon tanı konulması gecikmesi durumunda ise nadir de olsa peritonit tablosu eşlik edebilmektedir [43,44].

Doppler USG de overde periferik kanlanmanın bozulması tanıda yardımcıdır. Ama periferik kanlanma olması durumunda ise yine klinik durum uyumlu ise tanıdan şüphe edilmelidir çünkü tam torsiyon olmayan olgularda kanlanma bozulmayabilir. Periferik kanlanmanın olmaması ise tanıda yüksek özgüllüğe sahiptir [45].

Günümüzde over torsiyonunun tedavisinde organ koruyucu cerrahi yapılmakta ve detorsiyone edilmektedir. Bazı cerrahi klinikler ise organ koruyucu cerrahi sonrası ooferopeksi işlemini yapmakla birlikte bu işlem tartışmalıdır. Detorsiyon işlemi sonrası sonrai over round veya pelvik yan duvarlara asılmakta bu işlem lateral fiksasyon olarak tanımlanmaktadır. Medial fiksasyon da ise uterovaryan ligamentin kısaltılması ve overin arka duvarına dikilmesidir. Lateral fiksasyon işlemi sonrası overin ve tuba uterinanın anatomisi bozulduğu için fertilitite oranı azalmaktadır. Medial fiksasyon fertilitite açısından daha avantajlıdır. Her iki teknik te günümüzde hala tartışmalıdır. Torsiyonun tekrarlamasını önlemek açısından ovaryan kitle kist torsiyona sebep olan lezyonun çıkarılması torsiyon ihtimalini azaltmaktadır. Ancak malignite şüphesi olan kanlanması tamamen bozulmuş nekroze olmuş menopoza girmiş ve fertilititesini tamamlamış olgularda ooferektomi işlemi de uygulanmaktadır [46,47,48].

Over torsiyonu sebebiyle yapılan detorsiyon işlemi sonucu kanlanma tekrar geri gelse de iskemi reperfüzyon hasarını engelleyememektedir. İskemi reperfüzyon hasarını engelleyen şu ana kadar kanıtlanmış bir tedavi yöntemi yoktur **Şekil 8** de nekroze yapıda torsiyone over yapısı izlenmektedir [49].

Over torsiyonu ciddi bir jinekolojik acildir. Özellikle adolesan ve genç yaşta olan hastalarda fertilitite korunması açısından erken teşhis ve tedavi önemlidir.



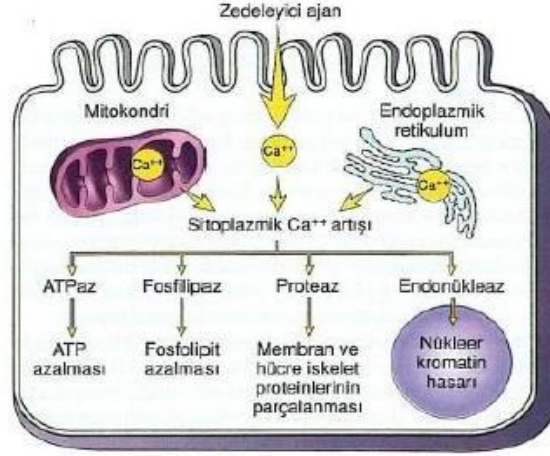
Şekil 8: Nekroze yapıda torsiyone over yapısı

2.7 İskemi ve Reperfüzyon

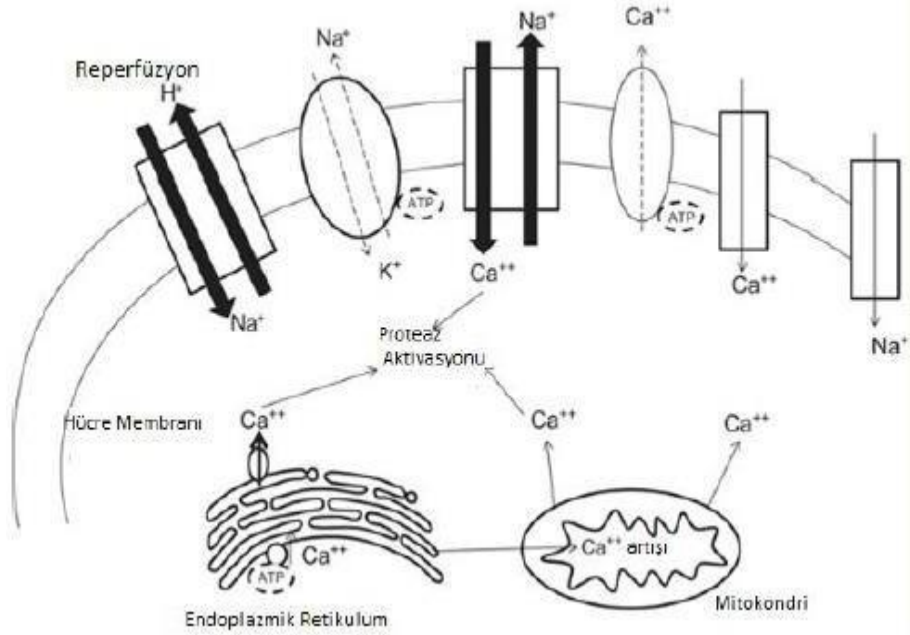
İskemi tanım olarak dokuya giden kan akımında azalma olarak tanımlanmaktadır. Hipoksiden ayrımı ise hipoksi de anaerobik solumum ile enerji üretimi sağlanmaktadır. İskemi de Anaerobik solunumda durmakta çünkü anaerobik solunum için substrat bitmiş veya oluşan atılması gereken metabolitler ortamdaki uzaklaştırılamamaktadır. Bu yüzden İskemi hipoksi ye göre dokuya daha fazla zarar vermektedir [50].

İskemiye bağlı olarak dokuya giden oksijen miktarı azalır ve anaerobik solunum sonucu hücre içi pH düşer. Oluşan hidrojen iyonlarını tamponlamak amacıyla Na^+/H^+ pompası çalışır ve fazla miktarda Na^+ üretilerek hidrojen iyonu dışarı atılır. İskemiye bağlı olarak hücre ATP azalır. Hücre ATP azalmasıyla birlikte aktif kalsiyum iyonu (Ca^{2+}) düzeninde bozulma olur ve kalsiyum akışı azalır. Hücre için kalsiyum miktarı artar. Hücre içi kalsiyum miktarının artması ATP üretimini bozan bir mekanizmayı daha harekete geçirir ve mitokondrial geçirgenlik geçişi (MPT) açılır ve bu iyonların birikmesi hücre içi osmolariteyi artırır hücre içine sıvı girişi olur hücre içinde ödem artışı izlenir. Hücre içinde pH miktarının azalması asiditenin artması nedeniyle enzimatik bir çok olayın bozulmasına neden olur. **Şekil 9** da Sitoplazmik kalsiyum artışının kaynağı ve sonuçları gösterilmektedir. Hücre düzeyde iske mi ve reperfüzyonu ise **Şekil 10** da gösterilmektedir.[50,51,52].

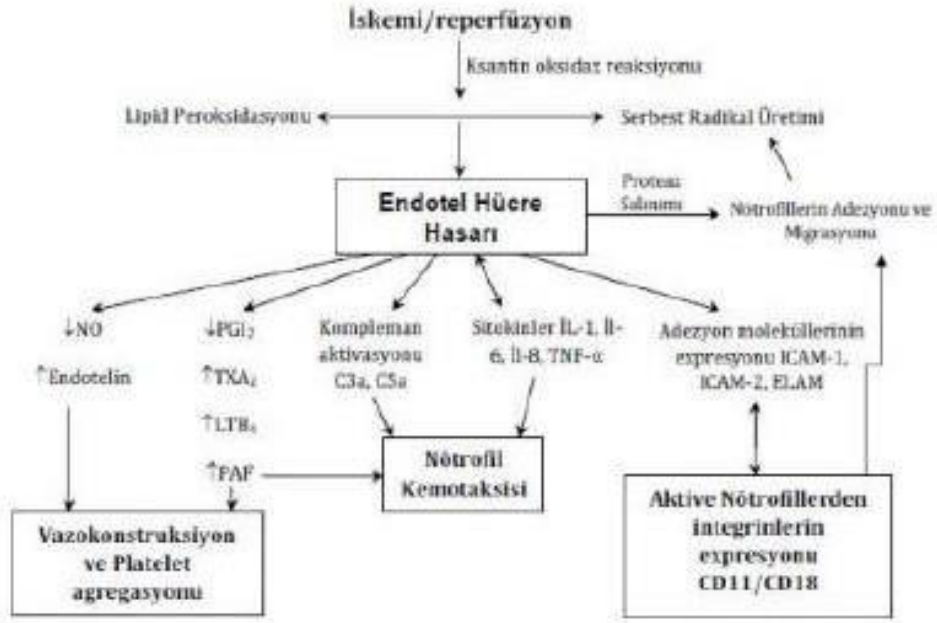
İskeminin devam etmesi durumunda ATP eksikliğinin artması ve enzimatik sistemin bozulmasına bağlı olarak hücre membranında bulunan mikrovillus yapılarının bozulmasına hücre içinde osmolaritenin artmasına bağlı olarak hücre içinde sıvının artmasına ve hücre yapılarının bozulmasına neden olur İske mi ve reperfüzyon hasarına bağlı gelişen inflamatuvar süreç **Şekil 11** de gösterilmiştir[50,51].



Şekil 9: Sitoplazmik kalsiyum artışının kaynak ve sonuçları [51]



Şekil 10 : Hücresel düzeyde iskemi ve reperfüzyonu [51]



Şekil 11 İskemi ve reperfüzyon hasarı [51]

Reperfüzyon ise iskemik bir dokuda veya organda kan akımının tekrar başlaması, iskemiye bağlı olarak oluşan metabolitlerin ve oksijenin kan akımının tekrar başlaması olarak tanımlanmaktadır. Reperfüzyon olayı iskemiye göre dokuya daha fazla zarar vermektedir [53,54].

Reperfüzyon hasarına sebep olan mekanizma tam olarak netleştirilmemekle birlikte hasara serbest oksijen radikallerin artması, endotel dokuda selektinlerin artması Na/K pompasının bozulması, hücre içinde kalsiyumun birikmesi, lipid yıkımının artması gibi bir dizi mekanizmanın sebep olduğu düşünülmektedir. Bu bir dizi olayın gerçekleşmesinden sonra apoptoz ve nekroz gibi hücre hasarı gerçekleşmektedir [55,56,57,58].

İnflamatuar olayın oluşmasıyla birlikte süreç daha da karmaşık bir hal almaktadır. Lökositler kompleman aktivasyonu ile birlikte inflammatuar süreç başlar. Bu inflammatuar süreç vücudun hayati öneme sahip organ veya dokuya ulaşırsa sitokinler ve inflammatuar ajanların tüm vücuda yayılması ile birlikte

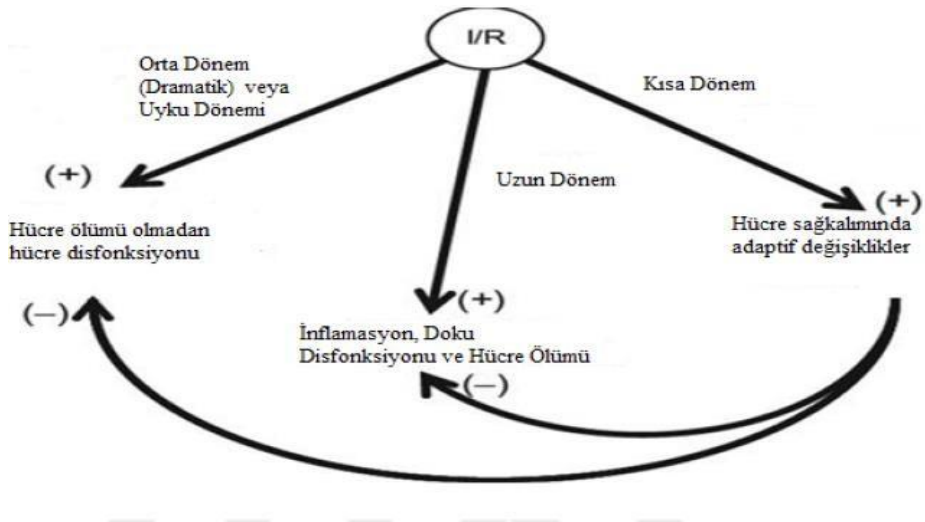
yaygın doku hasarı oluşur ve bu sürecin sonunda yaygın doku hasarına bağlı olarak organ yetmezliğine ve ölüme kadar giden bir durum oluşabilmektedir [59].

İskemi ve reperfüzyon hasarı esas serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulmaktadır. Serbest oksijen radikalleri temel olarak 4 mekanizma ile oluşmaktadır.

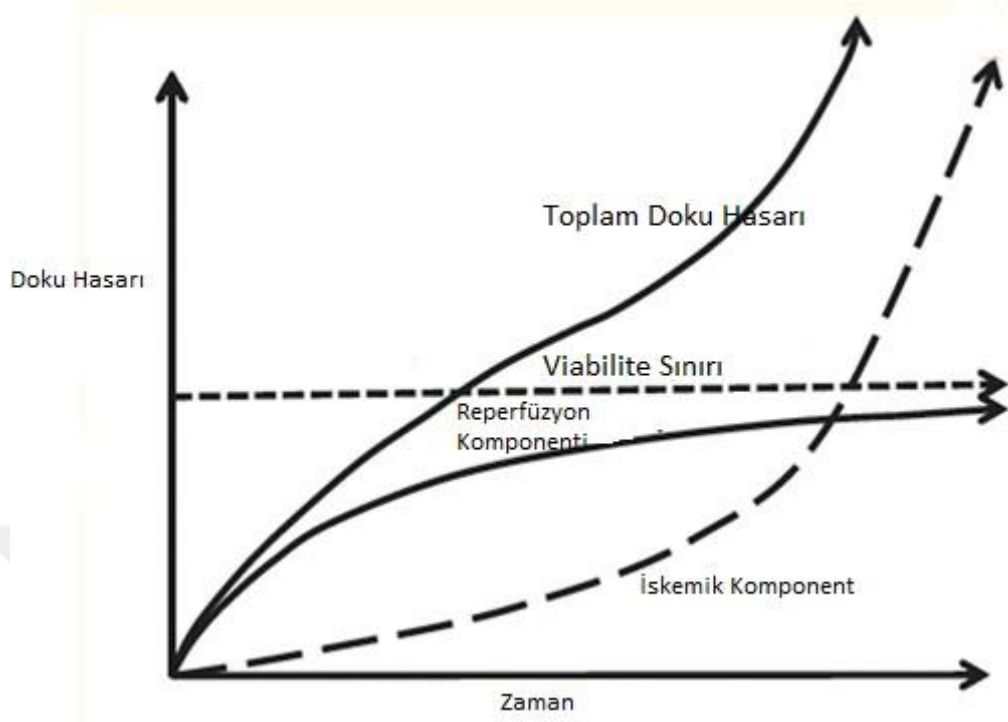
- 1: Nitrik oksit sentaz sistemi
- 2: Ksantin oksidaz sistemi
- 3: Mitokondriyal elektron zinciri (ETZ)
- 4: Fagositik sistem

İskemi reperfüzyon doku hasarında her dokunun hasar görmesi ve iflamatuar süreci ve dokunun verdiği tepki aynı değildir İskemi reperfüzyon sürecinde hücreni kısa ve uzun dönem yanıtı **Şekil 12** de verilmiştir [51,60].

İskemi reperfüzyon hasarında doku hasarı zaman ilişkisi ise **Şekil 13** de gösterilmiştir.



Şekil 12 : İskemi reperfüzyon hasarında dokunun kısa ve uzun dönem yanıtı[51]



Şekil 13 İskemi reperfüzyon hasarında doku hasarı zaman ilişkisi [51]

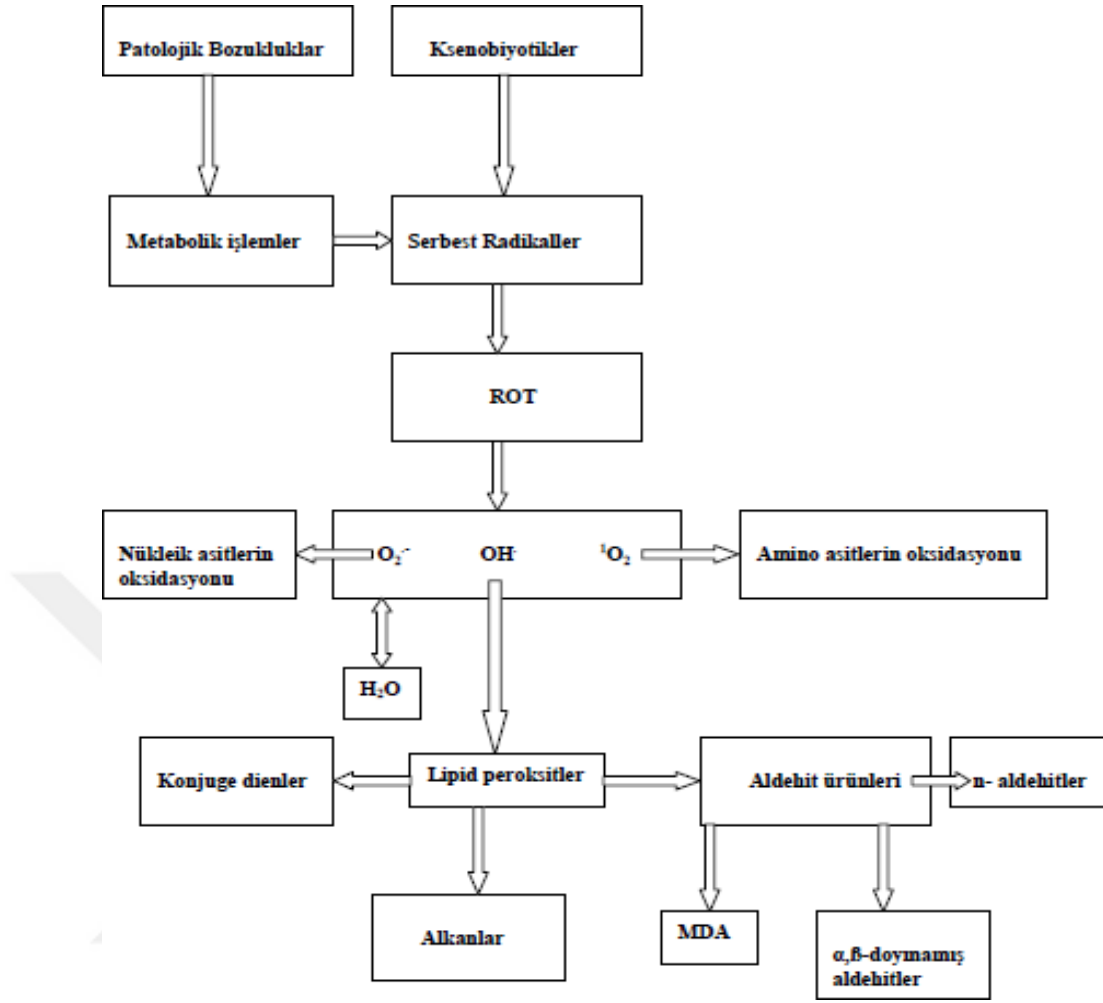
2.8 Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri kimyasal tepkimelerle ortaya çıkan en dış yörüngesinde eşleşmemiş elektronlar bulunduran moleküllere verilen isimdir. Serbest oksijen radikalleri aşırı derece reaktif moleküllerdir. Diğer moleküllerle ile hemen reaksiyona girme eğilimindedirler. Bu serbest oksijen radikalleri hücre içinde hem normal oksijen ile enerji üretim mekanizması sırasında hem de patolojik durumlarda oluşabilmektedir. Bu serbest oksijen radikallerinden bir kaçısı hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) süperoksit anyonu ($\text{O}_2^\cdot$), (tekil) oksijen (O_2) ve nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$) gibi radikallerdir. **Şekil 14** de oksijen kaynaklı olan ve oksijen kaynaklı olmayan serbest oksijen radikalleri gösterilmiştir. Serbest oksijen radikalleri hem hücre içinde hem de hücre dışında üretilebilmektedir. Hücre içinde fagositik sistem oksidan enzim sistemi mitokondrial elektron taşıma zinciri gibi bir çok hücresel sistem ile üretilmektedir. Hücre dışı sistem ise sigara, alkol kirli hava karbonmonoksit, ksenobiyotikler uyuşturucu, gibi bir çok dış etkende serbest

oksijen radikallerinin oluşmasında etkili dış etkenlerdir. Serbest oksijen radikallerinin aşırı reaksiyon verme eğilimi hücresel yapılara zarar vermektedir. Bir çok hücresel moleküle, nükleik asitlere, lipit, protein, aminoasitler gibi hücrenin yapı taşlarına zarar vermektedir. **Şekil 15** de ise serbest oksijen radikallerinin yaptığı hasar ve oluşan ürünler gösterilmiştir [61,62].

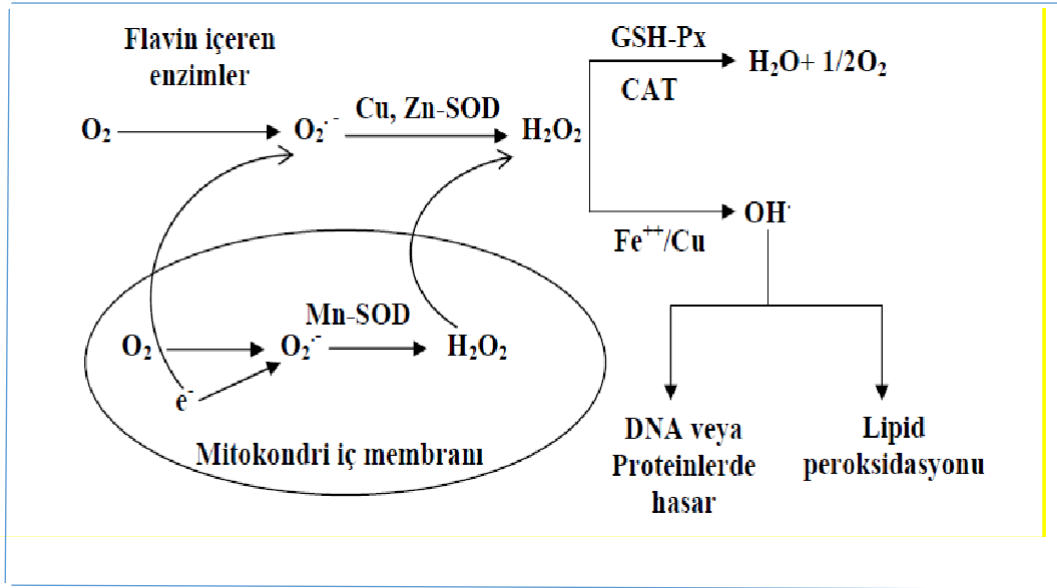
Oksijen Kaynaklı Serbest Radikaller		Oksijen Kaynaklı Olmayan Serbest Radikaller
Radikaller	Radikal Olmayanlar	
Süperoksit radikali	Singlet oksijen	1.Karbon kaynaklı serbest radikaller: Triklor metil
Hidroksil radikali	Hidrojen peroksit	2.Sülfür kaynaklı serbest radikaller: Thiyl radikali
Preoksil radikali	Peroksinitrit	3.Nitrojen kaynaklı serbest radikaller: Fenildiazin
Nitrik oksit radikali		4.Geçiş meral kompleksleri
Alkoksi radikali		

Şekil 14: Serbest oksijen radikalleri



Şekil 15: Serbest oksijen radikalleri yaptığı hasar ve oluşan ürünler [62]

Normal şartlarda oksijenin % 2 ile % 5 arası reaktif oksijen türevleri (ROT) dönüşmektedir. Bu oluşan ürün antioksidan sistem tarafından yok edilmektedir. Herhangi bir sebepten dolayı bu ürün yok edilemez ise hücreler yapılar ile tepkimeye girerek hücrenin yapı taşları olan aminoasitler, lipid ve nükleik asitler gibi hücreler moleküllere zarar vererek hücrel hasara yol açmaktadır. Bu serbest oksijen radikallerinin hücrel hasara yol açması ile birlikte insanda bir çok hastalık ve doku hasarı meydana gelmektedir. Serbest oksijen radikalleri SOD (süperoksit dismutaz) sistemi ile H_2O_2 ye (hidrojen peroksit) oluşan H_2O_2 de başta GSH-Px(Glutatyon peroksidaz) ve CAT(katalaz) olmak üzere bir çok enzim sistemi ile su ve dioksijene dönüşerek vücuttan atılır veya metal iyonları ile tepkimeye girerek hidrojen radikali ($OH\cdot$) dönüşerek hücrel hasara neden olabilir.Şekil 16 da hücrel oksidan ve antioksidan sistemi gösterilmiştir[63].



Şekil 16: Hücresel oksidan ve antioksidan sistemi [63]

2.9 Anti oksidan Sistemler

Hücrede serbest oksijen radikallerinin (SOR) hücresel yapılara zarar vermesini engellemek, metabolize edilerek zararsız metabolitlere dönüşmesini sağlayan antioksidan sistemler vardır. Antioksidan sistemler dört bölümde incelenmektedir [64].

1: Enzimatik endojen antioksidan sistemi: gultatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz gibi hücresel antioksidan sistemler bu grupta yer almaktadır [64].

2: Enzimatik olmayan endojen antioksidan sistemi: Bu grupta ise hemoglobin, transferin, myoglobin, ferritin, sistein, metiyonin, laktoferrin, seruloplazmin gibi enzimatik olmayan hücresel antioksidanlar yer almaktadır [65].

3: Besinlerle alınan ekzojen antioksidan sistemi: Bu grupta ise vitamin C, vitamin E, vitamin A, Folik asit ve bir çok gıda da olan antioksidanlar yer almaktadır [66].

4: Diğer ekzojen antioksidanlar: Bu grupta ise özellikle ilaçlar alınan antioksidanlar yer almaktadır. Özellikle kalsiyum kanal blokörleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, lokal aneztezükler, TNF-a ajanları, demir preparatları,

mannitol albümin gibi non enzimatik serbest radikal toplayıcı dışarıdan alınan moleküller yer almaktadır [66].

Şekil 17 de başlıca bilinen antioksidan moleküller gösterilmektedir.

ENZİMLER	YAĞDA ÇÖZÜNEN RADİKAL TUTUCULAR
Katalaz Glutadyon peroksidaz Süperoksit dismutaz Glutasyon redüktaz Glütasyon transferaz Glikoz 6 fosfat dehidrogenaz Sitokrom oksidaz	Melatonin Ubiquinol Flavonoidler B-karoten E vitamini
SUDA ÇÖZÜNEN RADİKAL TUTUCULAR	METAL İYONLARI BAĞLAYAN PROTEİNLER
C vitamini Ürik asit Glukoz İndirgenmiş glutasyon Sistein Taurin Mukus	Laktoferrin Haptogloblin Ferritin Seruloplazmin Albumin Hemopeksin

Şekil 17: Başlıca bilinen antioksidan moleküller

1: Toplayarak etki: Bu etki mekanizmasında ya tutarak etki gösterir ya da daha zayıf bir moleküle çevirerek etki göstermektedir. Bunlara örnek olarak bilirubin, bronşlardaki mukus ve küçük antioksidan yapılar toplayıcı etki ile etki göstermektedir [67,68].

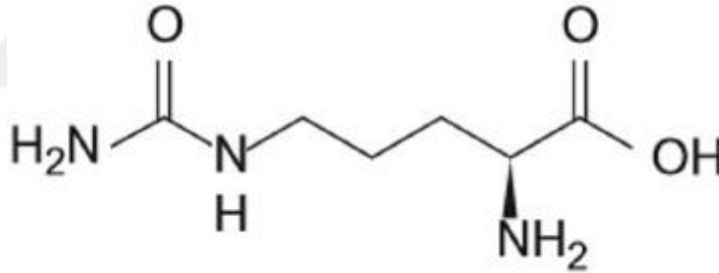
2: Bağlanarak (zincir kırıcı) etki: Burada ise antioksidanlar oksijen radikallerine bağlanarak serbest oksijen radikallerinin zincirini kırarak etki göstermektedir. Bunlara örnek olarak ise hemoglobin, mineraller, serüloplazmin gibi moleküller zincir kırıcı etki göstererek etki etmektedir [69,70].

3: İnaktif edici (bastırıcı etki) Burada ise oksijen radikalleri ile tepkimeye girerek onların etkinliğini azaltan veya onları inaktif hale getirerek etkilemektedir. Bunlara en önemli örnek ise vitaminlerdir [67,71].

4: Onarım(onarıcı) etki: Serbest oksijen radikalleri tarafından hasar görmüş nükleik asitler ve DNA molekülünü temir eden enzimler bu grupta yer almaktadır [72].

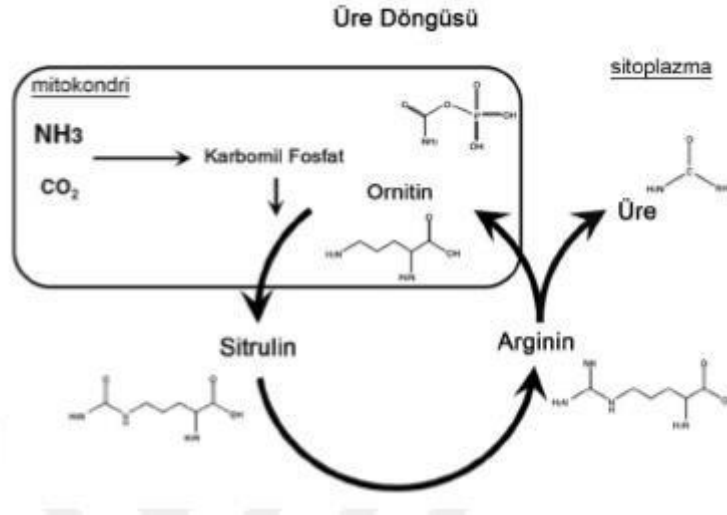
2.10 L- Citrullin

Canlılarda L-citrüllin vücutta kimyasal olarak üretim mekanizması iki yolla olmaktadır. L- citrullin non esansiyel bir aminoasit çeşididir. Ayrıca doğal olarak da vücutta L- citrüllin üretimi olmaktadır. İlk üretim mekanizması ornitinden birkaç enzimatik reaksiyon sonucunda oluşmaktadır. L-citrullin'in ikinci üretim mekanizması ise nitrik oksit sentaz döngüsüyle oluşmaktadır. Nitrik oksit sentazlar endotel NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve enflamatuar NOS (iNOS) olarak sıralanmaktadır. Bu üç nitrik oksit sentaz sistemi ile birlikte L-citrüllin argininden salınabilmektedir. L- citrüllin karaciğerde gerçekleşen üre döngüsünde bir bileşen olarak da yer almaktadır. Yine L-citrüllin enterosit de yer alan glutamin ve argininden de sentezlenebilmektedir. L citrüllin' in moleküler düzeyde yapısı **Şekil 18** de gösterilmektedir [73,74].



Şekil 18 L citrüllin moleküler düzeyde yapısı [74]

Şekil 19 L-Citrüllin metabolizmasının vücuttaki diğer organlarla olan etkileşimi [76]



Şekil 20: Üre döngüsünde arginin aminoasitinden L- citrüllin oluşum mekanizması [76]

Memelilerde L citrüllin kullanımının çoğu enterositlerde oluşan argininin sentezinde kullanılmaktadır. Nitrik oksit sentaz ile indüklenen sitrül in arginin proteinin oksidasyonu sonucu oluşan nitrik oksit'in yan ürünüdür. Bazı meyve sebzelerde L-citrüllin bulunması nedeniyle L-citrüllin ekzojen alınımı da

mevcuttur. **Şekil 19** da L citrüllin metabolizmasının vücuttaki diğer organlarla olan etkileşimi gösterilmiştir. **Şekil 20** de ise üre döngüsünde arginin aminoasitinden L citrüllin oluşum mekanizması gösterilmiştir [75,76].

L-Citrullin potansiyel olarak, Nitrik oksit (NO) ve poliaminlerin üretimi için bir substrat olarak işlev görebilen Arginin'nin anahtar öncüsüdür. Dolayısıyla, L-Citrullin (L-Cit), L-arginin'den (L-Arg) (Nitrik oksit sentaz) NOS katalizli NO sentezinin bir reaksiyon ürünüdür. Bundan dolayı L-Cit periferik kan damarları üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. Deneysel çalışmalarda L-Cit uygulaması, iskemi / reperfüzyon hasarını takiben endotel hasarı ve mikro dolaşım fonksiyon bozukluğunu düzelttiği bildirilmiştir. Ayrıca, L-Cit'in hem periferde hem de serebral vasküler hastalıklarda eNOS disfonksiyonunu azaltarak hem periferde hem de serebral vasküler hastalıklarda faydalı olabileceği gösterilmiştir [77,78,79]. Yumurtalık (over) iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesi için pek çok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalarda da çok sayıda ilaç kullanılmıştır. Bu çalışmada ilk defa yumurtalık iskemi-reperfüzyonu sonrası ortaya çıkan histopatolojik hasar üzerine L-Citrullin'in koruyucu etkisinin olup olmadığı antioksidan etkiler üzerinden araştırılacaktır.

Bu çalışma ile klinik olarak oldukça sık karşılaşılan ve infertiliteye dahi sebep olabilen over torsiyonunda erken dönemlerde kullanılabilecek L-Citrullin'nin over dokusu üzerindeki hasarlanmayı azaltıcı etkileri ile olası olumlu etkilerinin gösterilmesi planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Etik Kurul Onayı

Deneyisel over torsiyonu sonucunda oluşan histopatolojik hasar üzerine L-citrullin'in antioksidan etkileri adlı uzmanlık tezi etik kurula uygunluğu Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu başkanlığının 06.04.2022 tarih ve 2022/11 Kararıyla onaylanmıştır.

Çalışmada toplam 21 Sprague-Dawley türü (200-250gr) dişi rat kullanılmıştır. Toplam 3 grup oluşturularak tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında (22°C) da tutulmuştur. Tüm denekler standart palet sıçan yemi (210kcal/100gr/gün) ile beslenilmiş, musluk suyu içirilmiştir. Gruplar aşağıdaki gibi düzenlenmiştir.

3.2 Deney Modelinin Oluşması, Gruplandırılması Ve Cerrahi İşlemler

Alt karın bölgesinde 2,5 cm boyuna insizyon yapılacak ve sağ over serbestleştirilmiştir. İskemi indüksiyonu için sağ over damarlarına vasküler klempler uygulanmıştır. Daha sonra, karın ön duvarına 3/0 ipek kullanılarak iki kat halinde sabitlenmiş ve 3 saatlik iskemi süresinin sonunda, ipek dikişler açılacak ve vasküler klempler çıkarılacak ve 3 saatlik bir reperfüzyona devam edilmiştir. Bu işlemin sonunda, yapılan insizyon yoluyla over biyokimyasal ve histopatolojik çalışma için çıkarılmıştır.

Grup 1: (Sham-kontrol) (n=7): Sağ overyal insizyon yoluyla over serbestlenerek herhangi bir işlem yapılmamıştır.

Grup 2: (İskemi–reperfüzyon)) (OI)(n=7): Sıçanların sağ overyal insizyonu yoluyla over serbestlenerek iskemi indüksiyonu için sağ over damarlarına vasküler klempler uygulanmış daha sonra, karın ön duvarına 3/0 ipek kullanılarak iki kat halinde sabitlenmiştir. 3 saatlik iskemi süresinin sonunda, ipek dikişler açılacak ve vasküler klempler çıkarılmış ve 3 saatlik bir reperfüzyona devam edilmiştir.

Grup 3: (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) (n=7) (OL): Grup 2 sıçanlarda uygulanan prosedüre ek olarak reperfüzyon oluşturmada 30 dk önce

L-Citrullin 200 mg/kg dozunda intraperitoneal (L-Citrullin, Sigma-Aldrich) olarak verilmiştir [79,80].

3.3 Biyokimyasal İşlemler

Alınan kan örneklerinde Total Thiol (TT), Native Thiol (NT), Disulfide (SS), SS/SH; %, Estradiol (E2) seviyeleri biyokimyasal olarak ölçülmüştür. Serum örnekleri çalışma gününde çözdürülerek tiyol-disülfid homeostazisi parametreleri Erel ve Neşelioğlu tarafından geliştirilen yeni otomatik ölçme yöntemi ile analiz edilmiştir [81]. Bu yöntem iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta örnek içerisinde bulunan nativ tiyol (NT) düzeyleri DTNB [5,5' – dithiobis- (2- nitrobenzoic) acid] ile tespit edilmektedir.

İkinci basamakta dinamik ve indirgenebilir disülfid bağları (-S-S) sodyum borohidrit (NaBH_4) varlığında serbest fonksiyonel (reaktif) tiyol gruplarına (-SH) indirgenmektedir. Kullanılmadan kalmış olan indirgeyici NaBH_4 formaldehit ile tüketilerek temizlenmektedir. Daha sonra hem NaBH_4 ile indirgenmiş hem de nativ tiyol içeren toplam tiyol (TT) grupları DTNB [5,5' – dithiobis- (2- nitrobenzoic) acid] ile reaksiyon sonrası tespit edilmektedir. Nativ tiyol ve toplam tiyol konsantrasyonları belirlendikten sonra ve bu iki değerin arasındaki farkın yarısı dinamik disülfid (SS) miktarını vermektedir. Ek olarak disülfid / nativ tiyol grupları yüzde oranı hesaplanmaktadır [81]. Kan alım sonrası overler çıkarılarak ve dokular histopatolojik değerlendirme için kullanılmıştır. Histopatolojik değerlendirme Hematoksilin & Eosin boyama ve Cosentino ve arkadaşlarının belirlediği kriterlere göre yapılacaktır [82]. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilirken gruplar arası karşılaştırmada Kruskal-Wallis test ve iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test kullanılmıştır. P değeri 0.05'den küçük bulunduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir.

3.4 Histopatolojik İşlemler

Histopatolojik inceleme için ratlardan elde edilen over dokuları %10'luk formaldehid içinde fikse edilmiştir. Over dokuları doku takibine alınarak alkol ile dehidratasyon ksilen ile şeffaflandırma aşamalarından sonra parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom cihazında 3 μm kalınlığında kesitler alınarak hematoksin-eozin boyası ile boyandı. Kesitler LEICA DM 2000 LED marka ışık mikroskopunda patolog tarafından incelendi. Histomorfolojik olarak over hasarı değerlendirilerek foliküler hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon,

ödem, inflamasyon, vasküler konjesyon, hemoraji 0-3 olarak semikantitatif skorlandı [83].

0: patolojik bulgu yok

1: <%33 patolojik bulgu

2: %33-66 patolojik bulgu

3: >%66 patolojik bulgu mevcut

INFINITY 3 ANALYZE Release 6.5 görüntüleme sistemi ile hematoxilen eozin boyalı kesitler farklı büyütme ölçeklerinde fotoğraflanmıştır.

4. BULGULAR

21 rad 3 grup halinde yapılan çalışmamızın oksidatif stres ve histopatolojik bulguları değerlendirildi.

4.1 Biyokimyasal bulgular

Grupların serum thiol disülfid ve hemoztaz parametreleri ve estradiol düzeylerinin karşılaştırılması **Tablo 1** de verilmiştir. TT düzeylerine bakıldığında kontrol grubunda 210,27, OL 190,8 ve OI grubunda 190,8 bulunmuş olup gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır(P:0,130). NT, SS, SS/SH ve E2 düzeyleri üç grup arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu saptanmıştır(p<0,05).

Anlamlı farkların hangi gruplar arasında olduğu Mann-Whinney U testi ile değerlendirilmiş, grupların ikili olarak karşılaştırmaları **Tablo 2** de verilmiştir.

Native Thiol (NT)düzeylerine bakıldığında ise kontrol grubunda 186,55 OL grubunda 162,47 Oİ grubunda 135,29 bulunmuş olup üç grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur(P:0,026). Kontrol grubunda NT anlamlı oranda diğer gruplardan fazla çıkmış, OI ve OL grupları arasında NT açısından anlamlı fark saptanmamıştır(P:0,110).

Disulfide (SS) düzeyleri incelendiğinde kontrol grubunda 19,15 OL grubunda 28,41 Oİ grubunda 26,51 bulunmuş olup üç grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur(P:0,002). SS düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak diğer gruplardan daha düşük olduğu halde, OI ve OL grupları arasında SS düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır (P:0.142).

SS/SH düzeyleri incelendiğinde ise kontrol grubundan 9,99 OL grubunda 17,49 Oİ grubunda 20,16 olup üç grup arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur(P:0,002). Kontrol grubunda SS/SH düzeyleri diğer iki gruptan anlamlı oranda daha düşük bulunmuş olup, OI ve OL grupları arasında ise anlamlı farklılık saptanmamıştır(P:0,749).

Estradiol(E2) düzeyleri incelendiğinde ise kontrol grubunda 70 OL grubunda 26 Oİ grubunda 21 olup üç grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark

bulunmuştur (P:0,001). Kontrol grubunda estradiol düzeyleri diğer iki gruptan anlamlı oranda yüksek bulunmuş, OI ve OL grupları arasında E2 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (P:0.179).

Tablo 1: Gruplar arasında Thiol-Disülfid homeostaz parametrelerinin ve östrodiolün karşılaştırılması.

	Control	OL	Oİ	Pa
Total Thiol (TT); $\mu\text{mol/L}$	210.27(195.6-235.25)	219.29(178.38-252.11)	190.8(183.8-199.04)	0.130
Native Thiol (NT); $\mu\text{mol/L}$	186.55(160.71-196.93)	162.47(117.61-196.57)	135.29(126.38-155.98)*	0.026
Disulfide (SS); $\mu\text{mol/L}$	19.15(17.45-19.68)	28.41(25.27-32.09)*	26.51(22.48-28.29)*	0.001
SS/SH; %	9.99 (9.58-11.63)	17.49 (16.33-21.49)*	20.16 (14.70-20.52)*	0.002
E2	70 (62-92)	26 (20-36)*	21 (18-26)*	0.001

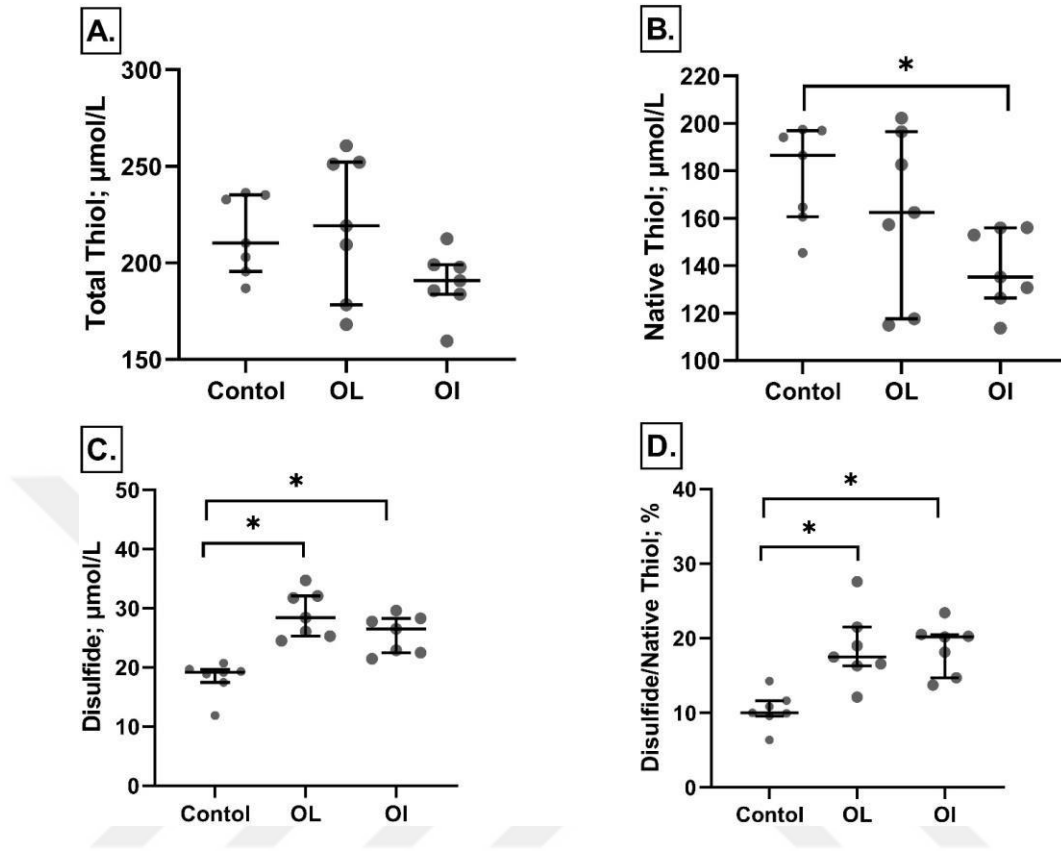
Değerler ortalama ve % 95 interval olarak verilmiştir. a : Kruskal wallis testi

Tablo 2: Overyen iskemi ve reperfüzyon hasarı (OI) ve L citrullin ile tedavi grubu (OL) arasında oksidan antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması

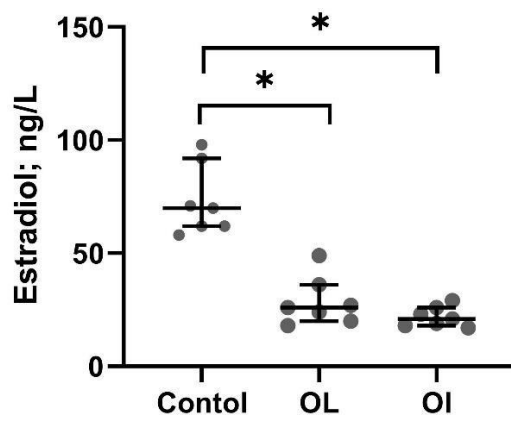
	Gruplar	N	Sıra Ortalaması	Sıralar Toplamı	U	Z	Pb
NT $\mu\text{mol/L}$	OL	7	9.29	65.00	12.000	-1.597	.110
	Oİ	7	5.71	40.00			
TT $\mu\text{mol/L}$	OL	7	9.14	64.00	13.000	-1.469	.142
	Oİ	7	5.86	41.00			
SS $\mu\text{mol/L}$	OL	7	9.14	64.00	13.000	-1.469	.142
	Oİ	7	5.86	41.00			
E2	OL	7	9.00	63.00	14.000	-1.345	.179
	Oİ	7	6.00	42.00			
SS_SH %	OL	7	7.14	50.00	22.000	-.319	.749
	Oİ	7	7.86	55.00			

Değerler ortalama ve % 95 interval olarak verilmiştir. b : Mann-Whitney U test

Tablo 3: Thiol-Disülfid homeostaz parametrelerinin Scotter-nokta grafikleri



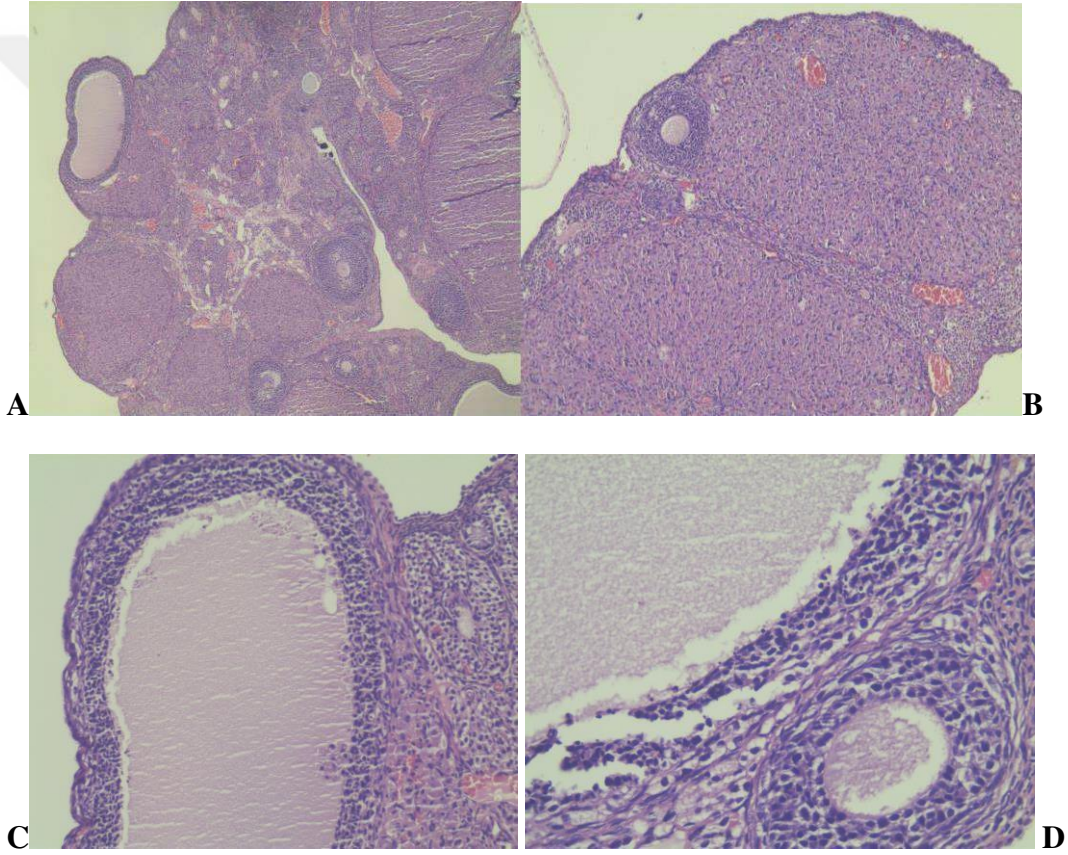
Tablo 4: Östadiol (E2) noktalı çizelgesi



OL ve OI gruplarında E2 seviyeleri azalmış olması overde iskemi-reperfüzyon hasarı oluştuğunu desteklemektedir. OL ve OI gruplarında SS ve SS/SH düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmasına rağmen NT değerlerinde OL grubunda kontrol grubuna göre anlamlı değildi. OL grubunda TT, NT, E2 düzeylerinin OI grubundan yüksek olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu durum L-citrulinin iskemi-reperfüzyon durumunda thiol-disülfide dengesinde antioksidan tarafı desteklediğini göstermektedir. Ancak antioksidan düzeylerin yükselmiş olmasına rağmen SS tarafında anlamlı yüksekliğin devam etmesi iskemi-reperfüzyon hasarının çok erken dönemde değerlendirilmiş olmasından veya L-citrullin dozunun antioksidanları arttırmasına rağmen oksidasyonu azaltacak dozajda olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

4.2 Histopatolojik bulgular

Histopatolojik olarak yapılan değerlendirmede hemoraji, vakulizasyon, hücreler arası, ödem inflamasyon ve vasküler staz açısından tek tek değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada Histopatolojik olarak L citrulinin overin iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan etkileri açısından histopatolojik değerlendirilmesinde hemoraji, folikül dejenerasyonu, vakuolizasyon, hücreler arası ödem, vasküler staz açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur($P<0,05$). İnflamasyon açısından ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($P: 0,074$).



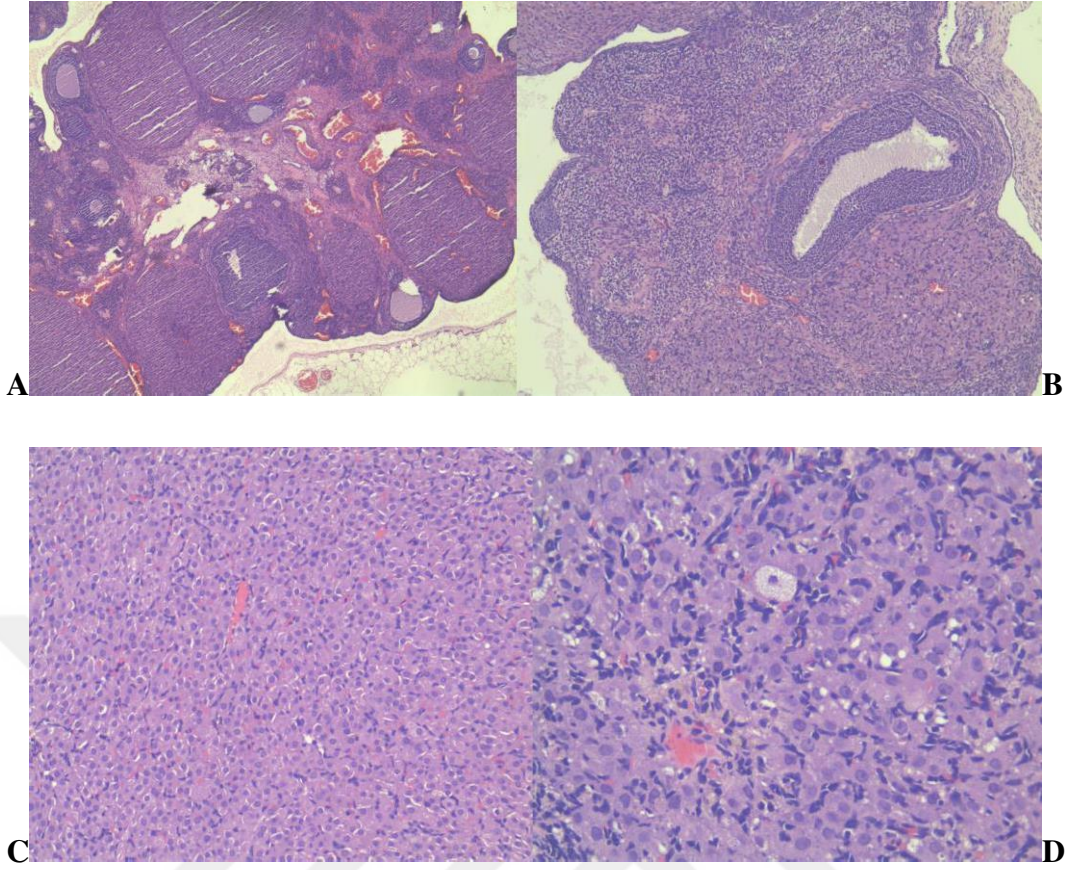
Resim 1 (A): Grup 1 (kontrol grubu) 40x büyütme ile over dokusunun görünümü

Resim 2(B): Grup 1(kontrol Grubu) 100x büyütme ile over dokusunun görünümü

Resim 3(C): Grup 1(kontrol Grubu)200x büyütme ile over dokusunun görünümü

Resim 4(D): Grup1(kontrol Grubu) 100x büyütme ile over dokusunun görünümü

Yapılan histopatolojik incelemede kontrol (Sham) grubuna ait normal over dokusuna ait kesitsel görüntüler **Resim1-4** de izlenmektedir.



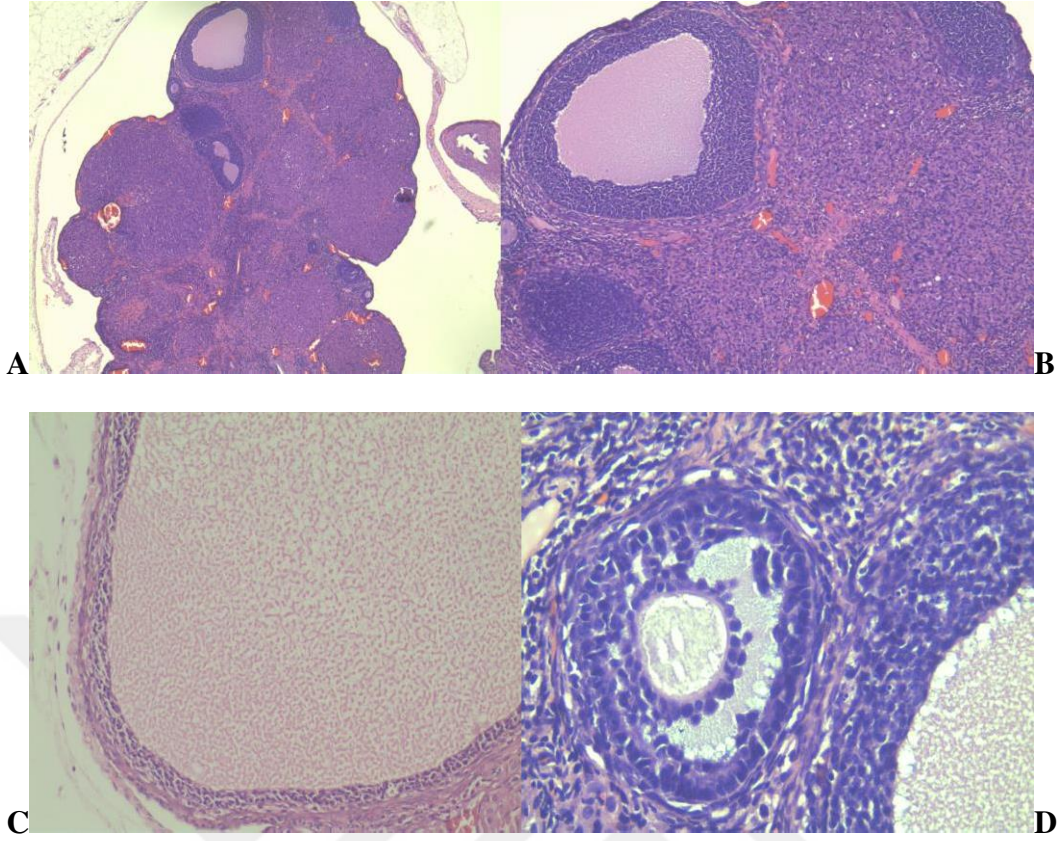
Resim 5 (A): Grup 2 (iskemi reperfüzyon) 40x ile over dokusunun görünümü

Resim 6 (B): Grup 2 (iskemi reperfüzyon) 100x ile over dokusunun görünümü

Resim 7(C): Grup 2 (iskemi reperfüzyon) 200x ile over dokusunun görünümü

Resim 8 (D): Grup 2 (iskemi reperfüzyon)400x ile over dokusunun görünümü

Histopatolojik değerlendirmede iskemi reperfüzyon hasarına uğrayan over dokusuna ait kesitler görüntüler **Resim 5-8** de folikül dejenerasyonu, vasküler staz, yer yer hemorajik alanlar, inflamasyon ve yer yer hücreler arası ödem izlenmektedir.



Resim 9 (A): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 40 x büyütme ile over dokusunun görünümü

Resim 10(B): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 100 x büyütme ile over dokusunun görünümü

Resim 11 (C): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 200 x büyütme ile over dokusunun görünümü

Resim 12 (D): Grup 3 (İskemi –reperfüzyon + L-Citrullin tedavi) 400 x büyütme ile over dokusunun görünümü

Histopatolojik incelemede iskemi reperfüzyon sırasında verilen L sitrüllin sonrası over dokusuna ait kesitler görüntüler **Resim 9-12** de folikül dejenerasyonu, hemorajik alanlar, vasküler staz, vakuolizasyon ve hücreler arası ödemin azaldığı izlenmiştir.

Histopatolojik olarak yapılan değerlendirmede hemoraji, vakulizasyon, hücreler arası, ödem inflamasyon ve vasküler staz açısından tek tek değerlendirilmiştir. Yapılan istatistik metodu olarak Kruskal Wallis testi ve iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test kullanılmıştır. $P<0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Tablo 5: Folikül dejenerasyonu açısından üç grubun karşılaştırılması

Gruplar	N	SO	sd	χ^2	p _a	Anlamlı Fark
Kontrol	7	6.29				
�r	7	17.21	2	14.258	.001	1-2, 2-3
Tedavi	7	9.50				

a: Kruskal Wallis testi

SO: Sıra Ortalaması

1-Kontrol 2- r 3- Tedavi ( r+ L Citrüllin)

Folikül dejenerasyonu açısından 3 grup karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyon hasarı sırasında verilen L-citrüllin' in folikül dejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur ($P:0.001$).

Tablo 6: Vakuolizasyon açısından üç grubun karşılaştırılması

Gruplar	N	SO	sd	χ^2	p _a	Anlamlı Fark
Kontrol	7	6.00				
�r	7	18.00	2	16.774	.000	1-2, 2-3
Tedavi	7	9.00				

a: Kruskal Wallis testi

SO: Sıra Ortalaması

1-Kontrol 2- r 3- Tedavi

Vakuolizasyon açısından 3 grup karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyon hasarı sırasında verilen L-citrülin' in vakuolizasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur (P:0.000).

Tablo 7: Hücreler arası ödem açısından üç grubun karşılaştırılması

Gruplar	N	SO	sd	χ^2	p _a	Anlamlı Fark
Kontrol	7	4.50				
İr	7	16.64	2	14.891	.000	1-2, 1-3
Tedavi	7	11.86				

a: Kruskal Wallis testi

SO: Sıra Ortalaması

1-Kontrol 2-İr 3- Tedavi

Hücreler arası ödem açısından 3 grup karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyon hasarı sırasında verilen L sitrülin' in hücreler arası ödemi istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur (P:0.000).

Tablo 8: İnflamasyon açısından üç grubun karşılaştırılması

Gruplar	N	SO	sd	χ^2	p	Anlamlı Fark
Kontrol	7	4.00				
İr	7	16.29	2	16.067	.000	1-2, 1-3
Tedavi	7	12.71				

a: Kruskal Wallis testi

SO: Sıra Ortalaması

1-Kontrol 2-İr 3- Tedavi

İnflamasyon açısından 3 grup karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyon hasarı sırasında verilen Lcitrüllin' in inflamasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur(P:0.000).

Tablo 9: Vasküler staz açısından üç grubun karşılaştırılması

Gruplar	N	SO	sd	χ^2	p _a	Anlamlı Fark
Kontrol	7	5.00				
İr	7	17.50	2	16.576	.000	1-3, 2-3
Tedavi	7	10.50				

a: Kruskal Wallis testi

SO: Sıra Ortalaması

1-Kontrol 2-İr 3- Tedavi

Vasküler staz açısından 3 grup karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyon hasarı sırasında verilen L citrüllin' in vasküler stazı istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur (P:0.000).

Tablo 10: Hemoraji açısından üç grubun karşılaştırılması

Gruplar	N	SO	sd	χ^2	p _a	Anlamlı Fark
Kontrol	7	4.50				
İr	7	17.57	2	17.223	.000	1-3, 2-3
Tedavi	7	10.93				

a: Kruskal Wallis testi

SO: Sıra Ortalaması

1-Kontrol 2-İr 3- Tedavi

Hemoraji açısından 3 grup karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyon hasarı sırasında verilen L-citrülin'in hemorajiyi istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur (P:0.000).

Tablo 11: Kontrol grubu ile iskemi reperfüzyon grubu karşılaştırılması

	Gruplar	N	Sıra Ortalaması	Sıralar Toplamı	U	Z	p ^b
Folikül degenerasyonu	Kontrol	7	4.29	30.00	2.00	-2.992	.003
	İr	7	10.71	75.00			
Vakuolizasyon	Kontrol	7	4.00	28.00	0.00	-3.232	.001
	İr	7	11.00	77.00			
Hücrelerarası_ödem	Kontrol	7	4.07	28.50	0.50	-3.238	.001
	İr	7	10.93	76.50			
İnflamasyon	Kontrol	7	4.00	28.00	0.00	-3.368	.001
	İr	7	11.00	77.00			
Vasküler staz	Kontrol	7	4.00	28.00	0.00	-3.606	.000
	İr	7	11.00	77.00			
Hemoraji	Kontrol	7	4.00	28.00	0.00	-3.390	.001
	İr	7	11.00	77.00			

b: Mann Whitney U testi

İki grup karşılaştırılması Mann Whitney U Testi $P < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir. Grup1 (kontrol grubu) ile Grup 2 (iskemi reperfüzyon grubu) karşılaştırıldığında folikül denerasyonu, hücreler arası ödem, inflamasyon, vakuolizasyon, vasküler staz, hemoraji açısından karşılaştırmıştır. İki grup karşılaştırılmasında Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiş olup iskemi reperfüzyon hasarında folikül denerasyonu, hücreler arası ödem, inflamasyon, vakuolizasyon, vasküler staz, ve hemoraji artmış bulunmuştur.

Tablo 12: Kontrol grubu ile tedavi grubu karşılaştırılması

	Gruplar	N	Sıra Ortalaması	Sıralar Toplamı	U	Z	p ^b
Folikül dejenerasyonu	Kontrol	7	6.00	42.00	14.00	-1.883	.060
	Tedavi	7	9.00	63.00			
Vakuolizasyon	Kontrol	7	6.00	42.00	14.00	-1.883	.060
	Tedavi	7	9.00	63.00			
Hücrelerarası ödem	Kontrol	7	4.43	31.00	3.00	-3.071	.002
	Tedavi	7	10.57	74.00			
İnflamasyon	Kontrol	7	4.00	28.00	0.00	-3.500	.000
	Tedavi	7	11.00	77.00			
Vasküler staz	Kontrol	7	5.00	35.00	7.00	-2.646	.008
	Tedavi	7	10.00	70.00			
Hemoraji	Kontrol	7	4.50	31.50	3.50	-3.122	.002
	Tedavi	7	10.50	73.50			

b: Mann Whitney U testi

Grup 1 (kontrol grubu) ile grup 3 (iskemi reperfüzyon+ L-Citrülin) grubu karşılaştırıldığında ise hücreler arası ödem, inflamasyon, hemoraji, açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmakla beraber folikül dejenerasyonu, vakuolizasyon ve vasküler staz açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Tablo 13: İskemi reperfüzyon grubu ile tedavi grubu karşılaştırılması

	Gruplar	N	Sıra Ortalaması	Sıralar Toplamı	U	Z	p ^b
Folikül dejenerasyonu	İr	7	10.50	73.50	3.50	-3.017	.003
	Tedavi	7	4.50	31.50			
Vakuolizasyon	İr	7	11.00	77.00	.00	-3.403	.001
	Tedavi	7	4.00	28.00			
Hücrelerarası_ödem	İr	7	9.71	68.00	9.00	-2.153	.031
	Tedavi	7	5.29	37.00			
İnflamasyon	İr	7	9.29	65.00	12.00	-1.788	.074
	Tedavi	7	5.71	40.00			
Vasküler staz	İr	7	10.50	73.50	3.50	-3.017	.003
	Tedavi	7	4.50	31.50			
Hemoraji	İr	7	10.57	10.57	3.00	-2.975	.003
	Tedavi	7	4.43	4.43			

b: Mann Whitney U testi

Grup 2 (iskemi reperfüzyon grubu) ile Grup 3 (iskemi reperfüzyon +L Citrüllin) grubu karşılaştırıldığında ise iskemi reperfüzyon sonrasında verilen L citrüllin' in folikül dejenarasyonunu, hücrel vakuolizasyonu, hücreler arası ödemi, vasküler stazı, ve hemorajiyi istatistiksel olarak anlamlı azalttığı bulunmuştur. İnflamasyon ise istatistiksel olarak anlamlı değildir.

5. TARTIŞMA

Over torsiyonu sırasında oluşan iskemi de over dokusuna yeterli oksijen gitmemesiyle birlikte dokularda hipoksi meydana gelir ve dokularda hücre fonksiyonların bozulmasıyla hücre hasarla birlikte apoptoza kadar ilerleyen hücre olaylar meydana gelir. Reperfüzyon sonrası dokuya oksijenin gitmesiyle birlikte dokuda serbest radikaller oluşur ve oluşan serbest radikaller bir dizi hücre içinde kimyasal olayların gelişmesine ve hücre hasarla birlikte hücrenin ölümüne kadar ilerleyen bir süreç gelişebilmektedir. İskemi reperfüzyon hasarında apoptoz mekanizmaları da hücre hasarın derecesine bağlı olarak değişerek rol almaktadır [84,85].

Çalışmamızda radlarda over iskemi reperfüzyon modelinde L-Citrullin'in oksidatif stress radikallerini anlamlı olarak azaltmadığı, ancak histopatolojik açıdan L-citrullin in iskemi sonrası histopatolojik hasarı azalttığı gösterilmiştir.

Over torsiyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda torsiyon sonrası 3 saatlik iskemi ve 3 saatlik reperfüzyon süresi genel olarak kabul görmektedir [86,87]. Bizde çalışmamızda 3 saatlik iskemi 3 saat reperfüzyon süresi kullandık.

Over detorsiyonun over rezervini azalmasını engellediğini ancak tek başına yeterli olmadığı gösterilmiştir [88]. Over torsiyonunda iskemiye bağlı hasarı azaltmak için özellikle radlar üzerinde iskemi reperfüzyon modeli oluşturularak bir çok kimyasal ajan kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi bazı yapılan çalışmalarda da iskemik hasarı azalttığı gösterilen çalışmalar mevcuttur. Yazıcı ve arkadaşlarının [89] yaptığı çalışmada iskemi reperfüzyona maruz kalan sıçanlara genistein verilmiş olup sonuçlar incelendiğinde genistein'in doku hasarını azalttığını ve malondialdehit (MDA) miktarını azalttığını iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Bakan ve arkadaşlarının [90] yaptığı iskemi reperfüzyon hasarına maruz kalan ratlarda eritropoetin uygulanmış ve sonuçlar incelendiğinde over torsiyonunun akut faz döneminde verildiğinde iskemi reperfüzyon hasarını hafiflettiğini bildirmişlerdir. Çelik ve arkadaşları [91] kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) over iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelemişler ve lipit peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA), ksantin oksidaz (XO) düzeyleri de

incelenmiştir. Sham grubuyla karşılaştırıldığında MDA ve XO düzeyleri salin infüzyonu yapılan gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir. Buna göre biyokimyasal olarak CAPE ‘in iskemi reperfüzyon hasarında anlamlı olarak faydası olduğu bildirilmiştir. Yine histopatolojik incelemede lökosittik infiltrasyonda ve vasküler staz açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı faydası olduğu bildirmişlerdir.

Türköz ve arkadaşları [92] tarafından yapılan çalışmada ise melatoninin ratlarda iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde biyokimyasal ve histopatolojik olarak etkileri araştırılmış ve iskemi reperfüzyon sonrası oluşan oksitativ radikaller ile iskemi reperfüzyon sırasında melatonin enjekte edilmesi ile oluşan radikallerin ölçümleri karşılaştırıldığında melatonin enjekte edilmesi sonucu anlamlı derecede düşüş izlendiği belirtilmiştir. yine histopatolojik incelemede vasküler staz ve nötrofil infiltrasyonu açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fayda sağladığı belirtilmiştir. Çalışmamızda olduğu gibi melatoninin iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi olduğu belirtilmiştir.

Hasçalık ve arkadaşları [93] tarafından yapılan kırmızı üzümünden elde edilen resveratrol’un iskemi reperfüzyon hasarındaki etkisi araştırılmış ve malondialdehit (MDA) ve ksantin oksidaz (XO) seviyerleri detorsiyon ve sham grubu ile karşılaştırılmış olup biyokimyasal olarak değerlendirildiğinde MDA ve XO seviyerleri sham grubunda daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızda olduğu gibi resveratrol uygulaması over iskemi reperfüzyon modelinde over dokusu hasarını azalttığını belirtmişlerdir.

Karaçor ve arkadaşları [94] tarafından yapılan over iskemi reperfüzyon hasarında ilioprost’un etkinliği araştırılmış olup yapılan çalışma sonuçlarına göre ilioprost’un çalışmamızda olduğu gibi iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını bildirmişlerdir.

Alia ve arkadaşları [95] tarafından yapılan over iskemi reperfüzyon hasarında anjiotensin (1-7) in overin İ/R hasarında çalışmamızı destekleyen nitelikde overe koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda diğer over iskemi reperfüzyon modellerinden farklı olarak L-citrullin’ in etkisi araştırdık. L-citrullin in iskemik hasarı azalttığına yönelik bir

çok çalışma vardır. Champman ve arkadaşları [96] tarafından domuz yavrularında hipoksi modelinde L-citrüllin'in bağırsak hücrelerinde koruyucu etkisi araştırılmış olup yapılan çalışmada yenidoğan domuz yavruları jejunal dokusu hipoksiye maruz bırakılmış, Transepitelyal bağırsak hücrelerini, transepitelyal direnç immunofloresan yöntemlerle izlenmiştir. Çalışma sonuçları göre L-citrüllin in hipoksiye bağlı hasarı nitrik oksit bağımlı mekanizma ile hipoksinin zararlı etkilerinden koruduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi L-citrüllin'in doku hasarında faydası izlenmiştir.

Matsuo ve arkadaşları [97] tarafından yapılan çalışmada ise ratlarda kombine L- citrüllin ve glutatyonun geçici beyin iskemisini takiben nöronal hücre ölümüne etkisi araştırılmıştır. Daha önce L-citrüllin'in geçici beyin iskemisini takiben hipokampüste nöronal hücre ölümünü engellediği bildirilmiş olduğundan yapılan bu çalışmada ise L-citrüllin ve glutatyonun sinerjik etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre L-citrüllin ve glutatyonun birlikte kullanımı endotelial nitrik oksit sentaz fonksiyonunu kurtararak hipokampusta hücre ölümünü engellemede faydalı olduğu belirtilmiştir.

Lee ve arkadaşları [98] tarafından yapılan çalışmada arginin ve L-sitrülin'in infantil ratlarda düzenleyici T hücreleri üzerinde etkileri araştırılmış olup sonuçlar değerlendirildiğinde infatil sıçanlarda L-citrüllin ve arginin'in immün modülatör etkisi olduğu belirtilmiştir.

Romero ve arkadaşları[99] tarafından yapılan çalışmada sitrülün'in kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkisi araştırılmış. L-citrüllin ise hipertansiyon, ateroskleroz, kalp yetmezliği, diyabetik vasküler hastalık ve iskemi reperfüzyon hasarı gibi endotel disfonksiyonu ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklarda nitrik oksit (NO) üretimini ve kardiyovasküler fonksiyonlar üzerinde olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise L-citrüllin oksidatif stres radikallerini azaltmadığı, antioksidan kapasiteyi yeteri kadar artırmadığı görülmüştür. L-citrullin'in antioksidan düzeylerin yükseltilmiş olmasına rağmen SS tarafında anlamlı yüksekliğin devam etmesi; iskemi-reperfüzyon hasarının çok erken dönemde değerlendirilmiş olmasından veya L-citrullin dozunun antioksidanları arttırmasına

rağmen oksidasyonu azaltacak dozajda olmamasından kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda daha önce overyan iskemi de kullanılmayan L-citrullin'in kullanılması ve overyan iskemi üzerine etkisini ortaya koyması, diğer çalışmalardan farklı olarak Tiyol disülfid ve nativ tiyol'ün oksidatif stress açısından çalışılmış olması üstün olan yanlarıdır.

Çalışmamızda rad sayısının az olması ve diğer iskemi azaltıcı kimyasal ajanlarla karşılaştırma yapılmamış olması çalışmamızın kısıtlılıklarıdır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genellikle üreme çağında görülmekle birlikte tüm yaş gruplarında görülebilen over torsiyonunu erken tanımak ve tedavi etmek çok önemlidir. Over torsiyonunda cerrahi olarak over torsiyonu düzelttikten sonra reperfüzyon hasarına karşı overi koruyucu ajanlar kullanılmasının overde iskemik hasarı azaltacağı düşünülmektedir.

Ovaryan iskemi reperfüzyon modelinde L-sitrülin'in oksitatif stresi azaltmadığı ancak histopatolojik hasarı anlamlı düzeyde azalttığı bulunmuştur.

Bu çalışmanın over torsiyonunda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etki ve yeni tedavi yöntemleri ve tedavi edici yeni moleküler ajanların kullanımı açısından daha ileri çalışmalara ışık tutacağı ümit edilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Dasgupta, R., et al., Ovarian torsion in pediatric and adolescent patients: A systematic review. *J Pediatr Surg*, 2018. 53(7): p. 1387-1391.
2. Walker, S.K., et al., Management of pediatric ovarian torsion: evidence of follicular development after ovarian preservation. *Surgery*, 2018. 163(3): p. 547-552.
3. Berek, S. J. Berek & Novak Jinekoloji. (2017).
4. Eser, A. et al. Effects of curcumin on ovarian ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Biomed. Reports* 3, 807–813 (2015).
5. Celik O, Turkoz Y, Hascalik S Hascalik M, Cigremis Y, Mızrak B, Yologlu Saim (2004) The protective effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia–reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 117:183–188.
6. Chen M, Chen CD, Yang YS (2001) Torsion of the previously normal uterine adnexa. Evaluation of the correlation between the pathological changes and the clinical characteristics. *Acta Obstet Gynecol Scand* 80:58-61.
7. Akgür FM, Kiliç K, Aktuğ T (1993) Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 21:395–399.
8. Liu X, Chen H, Zhan B et al (2007) Attenuation of reperfusion injury by renal ischemic postconditioning: the role of NO. *Biochem Biophys Res Commun* 359:628–634.
9. Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı Cilt 2 Nobel Tıp Kitabevi* 1999 4. Baskı, Özefagus Anatomisi: 586-591.
10. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi (5. Baskı), 1. Cilt, Güneş Kitabevi*, Ankara, 2014: 129 181.
11. Lentz GM, Lobo RA, Gershenson DM, Katz VL. *Comprehensive gynecology ebook*. Baskı. Elsevier Health Sciences, 2012.
12. Standring, S., *Gray's anatomy e-book: the anatomical basis of clinical practice*. 2020: Elsevier Health Sciences.
13. Sobotta, J., F. Paulsen, and J. Waschke, *Atlas of human anatomy*. 2013: Elsevier, Urban & Fischer.
14. Standring, S., *Gray's anatomy e-book: the anatomical basis of clinical practice*. 2020: Elsevier Health Sciences.

15. Clement, P.B., Ovary, in Histology for Pathologists, S.E. Mills, Editor. 2007. p. 1064-1095.
16. Keith L. Moore TVNP. Ürogenital sistem. Klinik yönleriyle insan embriyolojisi. 2 ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri LTD. ŞTŞ.; 243-84.
17. Hummitzsch K, Anderson RA, Wilhelm D, Wu J, Telfer EE, Russell DL, et al. Stem cells, progenitor cells, and lineage decisions in the ovary. Endocrine reviews 2015;36(1):65-91.
18. Demirtaş, A. and İ. Pişkin, Memelilerde cinsiyet gelişimi ve hormonal kontrolü. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 2009. 80(3): p. 23-28.
19. Sadler, T.W., Langman's medical embryology. 2018: Lippincott Williams & Wilkins.
20. Dansuk, R., Kadın genital sisteminin embriyolojisi ve cinsel farklılaşma. Türk pediatri arşivi,
21. Gokalp, N., et al., Protective effect of hydrogen rich saline solution on experimental ovarian ischemia reperfusion model in rats. Journal of pediatric surgery, 2017. 52(3): p. 492-497.
22. Clement, P.B., Ovary, in Histology for Pathologists, S.E. Mills, Editor. 2007. p.1064-1095.
23. Kierszenbaum A L (Ed): Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Follikül gelişimi ve Menstrual Döngü (siklus) (Çev. R. Demir), Palme Yayıncılık, Ankara, 2006; 566-72.
24. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji atlası; Fonksiyonel ilişkileriyle, 9. Baskıdan çeviri, (Çev. Ed. Prof. Dr. Ramazan Demir), 2001; 300-9.
25. Junqueira LCU, Carneiro J, Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel histoloji: Text & Atlas Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.
26. Novak E. Berek & Novak's gynecology. Baskı. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
27. Ross MH, Pawlina W. Histology a text atlas with correlated cell and molecular biology. 2006.
28. Bercegeay S, Jean M, Lucas H, Barriere P. Composition of human zona pellucida as revealed by SDS-PAGE after silver staining. Molecular reproduction and development, 1995, 41: 355-359.
29. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter bases da histologia. Baskı. Elsevier Brasil, 2008.
30. Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji. Ankara: Pelikan Yayınevi, s, 2004, 82.

31. Hawkins SM, Matzuk MM. Menstrual cycle: basic biology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008, 1135: 10.
32. Kierszenbaum AL, Tres L. *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology E-Book*. Baskı.Elsevier Health Sciences, 2015.
33. Adashi EY. Endocrinology of the ovary. *Hum Reprod* 1994; 9: 815-827.
34. Scott RT, Hodgen GD. The ovarian follicle: life cycle of a pelvic clock. *Clin Obstet Gynecol* 1990; 33: 551-562
35. Balasch J, Miró F, Burzaco I, Casamitjana R, Civico S, Ballescá JL, et al. The role of luteinizing hormone in human follicle development and oocyte fertility: evidence from invitro fertilization in a woman with long-standing hypogonadotrophic hypogonadism and using recombinant human follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1995; 10: 1678- 1683
36. Guyton A C, Hall J E. *Text Book of Medical Physiology*, International Edition. W.B. Saunders 2006; S: 906-1026
37. Ganong W F. *Tıbbi Fizyoloji*, 20.baskı.Nobel Tıp Kitabevleri 2002 S:419-433 .
38. Bayer AI, Wiskind AK. Adnexal torsion: can the adnexa be saved? *American journal of obstetrics gynecology*, 1994, 171: 1506-1511.
39. Kazez A, Özokutan B, Küçükaydın M, Okur H, Turan C, Köse Ö. Çocuklarda over torsiyonları. *Pediatric Cerrahi Dergisi*, 1996, 10: 95-97.
40. Kavak, S. B., Kavak, E., Kurkut, B., İlhan, R. & Baspınar, M. The Importance of Clinical, Radiologic and Laboratory Parameters in the Diagnosis of Ovarian Torsion: Retrospective Study. *İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Tıp Derg.*6, 20–22 (2014).
41. Henry MC, R.K., Riggle KM. Ovarian Torsion. In: Hirschl RR, Powell DD, Waldhausen JJ. *Ovarian Torsion*. 2020 [cited 2021; Available from:
42. Akbulut, A., Deneysel over torsiyonunda İbuprofen'in koruyucu etkisi.2019.
43. Pansky, M., et al., Torsion of normal adnexa in postmenarchal women and risk of recurrence. *Obstetrics & Gynecology*, 2007.109(2): p. 355-359.
44. Shadinger, L.L., R.F. Andreotti, and R.L. Kurian, Preoperative sonographic and clinical characteristics as predictors of ovarian torsion. *Journal of ultrasound in medicine*, 2008.27(1): p.7-13.
45. Gordon J, Hopkins K, Jeffrey RB, Giudice L. (1994). Adnexal torsion: Doppler diagnosis and laparoscopic treatment. *Fertil Steril*.61:383-385.
46. Abes, M., Sarihan, H. Oophoropexy in children with ovarian torsion. *Eur J Pediatr Surg*. 2004;14:168–171.

47. Damewood, M.D., Hesla, H.S., Lowen, M. et al, Induction of ovulation and pregnancy following lateral oophoropexy for Hodgkin's disease. *Int J Gynaecol Obstet.* 1990;33:369–371.
48. Simsek, E., Kilicdag, E., Kalayci, H. et al, Repeated ovariopexy failure in recurrent adnexal torsion: combined approach and review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;170:305–308.
49. Ingec, M. et al. Prevention of ischemia-reperfusion injury in rat ovarian tissue with the on-off method. *J. Physiol. Pharmacol.* 62, 575–582 (2011).
50. Harvey, F. Lippincott Biyokimya. (2019).
51. Doğan, Ş. Deneysel Over Torsiyonu Modelinde Over İskemi Reperfüzyon Hasarında Aşamalı Detorsiyon Ve Hipoterminin Overi Koruyucu Etkisinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi.
52. Ozkisacik S, Yazici M, Gursoy H, Culhaci N. Does gradual detorsion protect the ovary against ischemia-reperfusion injury in rats? *Pediatr Surg Int.* 2014 Apr;30(4):437-40.
53. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. The surgical clinics of North America, 1992, 72: 65-83.
54. ontalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 2008, 147: 153-159.
55. Abeş M, Sarihan H. Oophoropexy in children with ovarian torsion. *European Journal of Pediatric Surgery*, 2004, 14: 168-171.
56. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cirurgica Brasileira*, 2005, 20: 336-343.
57. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia–reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase(RISK)-pathway. *Cardiovascular research*, 2004, 61: 448-460.
58. Riksen N, Smits P, Rongen G. Ischaemic preconditioning: from molecular characterisation to clinical application-part I. *Neth J Med*, 2004, 62: 353-363.
59. Gourdin MJ, Bree B, De Kock M. The impact of ischaemia–reperfusion on the blood vessel. *European Journal of Anaesthesiology*, 2009, 26:537-547.
60. Ozcan, O., H. Erdal, and Z. Yonden, İskemi-reperfüzyon hasari ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakiş. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 2015.6(23): p. 27-33.

61. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 381-389 .
62. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990 ; 186: 1-85 .
63. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* 2001;31: 1287-1312.
64. Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophil infiltration after small intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989; 105: 593-597.
65. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Pina E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *The Journal of surgical research* 2008; 147: 153-159.
66. Gener G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim* 2009; 22: 5-13.
67. Collard C.D, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001: 94: 1133-8.
68. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 34: 1103-4.
69. Ozkan OV, Yuzbasioglu MF, Ciralik H, et al. Resveratrol, a natural antioxidant, attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2009 Jul; 218(3): 251-8.
70. Slusser SO, Grotyohann LW, Martin LF, Scaduto RC. Glutathione catabolism by the ischemic rat kidney. *Am J Physiol.* 1990; 258:1546- 53.
71. Beckman JS., Chen J., Ischiropoulos H., Crow JP. Oxidative chemistry of peroxynitrite *Meth Enzymol* 1994: 233:229-40.
72. Chanvitayapongs S, Draczynska-Lusiak B, Sun AY. Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. *Neuroreport* 1997; 8: 1499-502.
73. Khumalo, NP., Stone, J., Gumede, F., McGrath, E., Ngwanya, M.R., & de Berker, D. (2010), 'Relaxers' damage hair: evidence from amino acid analysis. *J. Am. Acad. Dermatol*, 62:402–408
74. Laurentius, A., Wikanendra, GB., Cong, TH., & Arozal, W. (2018), L-citrulline as Alternative Pharmacological Substance in Protecting Against Cardiovascular Disease. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(2), 72- 80.

75. Rimandoa, AM., & Perkins-Veazie, PM. (2005), Determination of citrulline in watermelon rind. *Journal of Chromatography*, 196–200.
76. Püye, ÖY. (2015), Bazı Hastalıkların Tanısı İçin Sitrülin Baskılı Ve Modifiye Nanosensör Geliştirilmesi.Doktora Tezi.
77. Chapman JC, Liu Y, Zhu L, Rhoads JM. Arginine and citrulline protect intestinal cell monolayer tight junctions from hypoxia-induced injury in piglets. *Pediatr Res*. 2012 Dec;72(6):576-82.
78. Matsuo K, Yabuki Y, Fukunaga K. Combined l-citrulline and glutathione administration prevents neuronal cell death following transient brain ischemia. *Brain Res*. 2017;1663:123-131
79. Yi-Chen Lee, Yu-Tsun Su, Ta-Yu Liu, Chih-Min Tsai, Chih-Hao Chang, Hong-Ren Yu. L-Arginine and L-Citrulline Supplementation Have Different Programming Effect on Regulatory T-Cells Function of Infantile Rats. *Front Immunol*. 2018; 9: 2911.
80. Ali FF, Ahmed AF, Elroby Ali DM. Underlying mechanisms behind the protective effect of angiotensin (1–7) in experimental rat model of ovarian ischemia reperfusion injury. *Life Sciences* 235 (2019) 116840
81. O. Erel, S. Neselioglu. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin.Biochem.*, 47 (18) (2014), pp. 326-332
- 82 Huang C, Hong MK, Ding DC. A review of ovary torsion. *Tzu Chi Medical Journal* 2017; 29(3): 143-147
- 83: Hortu I, Ozceltik G, Sahin C, Akman L, Yildirim N, Erbas O. (2018). Granulocyte colony-stimulating factor prevents ischemia/reperfusion-induced ovarian injury in rats: evaluation of histological and biochemical parameters. *Reprod Sci*. 26:1389–1394.
84. Okabe H. The role of xanthine dehydrogenase (xanthine oxidase) in ischemiareperfusion injury in rat kidney. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*, 1996, 38: 577-584.
85. Cighetti G, Del Puppo M, Paroni R, Kienle MG. Lack of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase during warm renal ischemia. *FEBS letters*,1990, 274: 82-84.
86. Yiğiter M, Halici Z, Odabağoğlu F, Keles ON, Atalay F, Ünal B, Salman AB. Growth hormone reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: biochemical and histopathologic evaluation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 157: 94–100.
87. Abalı R, Tasdemir N, Yuksel MA, et al. Protective effect of infliximab on ischemia/reperfusion injury in a rat ovary model: biochemical and histopathologic evaluation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 171: 3.

88. Özler A, Turgut A, Soydinç HE, Sak ME, Evsen MS, Alabalik U, et al. The biochemical and histologic effects of adnexal torsion and early surgical intervention to unwind detorsion on ovarian reserve: an experimental study. *Reprod Sci* 2013; 20: 1349-1355.
89. Yazici G, Erdem O, Cimen B, Arslan M, Tasdelen B, Cinel I. Genistein attenuates postischemic ovarian injury in a rat adnexal torsion-detorsion model. *Fertil Steril*. 2007 Feb;87(2):391-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.06.056.
90. Bakan V, Ciralik H, Tolun F, Atli Y, Mil A, Oztürk S. Protective effect of erythropoietin on torsion/detorsion injury in rat model. *J Pediatr Surg* 2009 Oct;44(10):1988-94. doi:10.1016/j.jpedsurg.2009.02.071.
91. Celik Ö, Turkoz Y, Hascalik Ş, Hascalik M, Cigremis Y, Mizrak B, Yologlu S. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004 Dec 1;117(2):183-8.
92. Turkoz Y, Celik Ö, Hascalik Ş, Cigremis Y, Hascalik M, Mizrak B, Yologlu S. Melatonin reduces torsion-detorsion injury in rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *J Pineal Res*. 2004 Sep;37(2):137-41. doi: 10.1111/j.1600-079X.2004.00146.x.
93. Hascalik S, Celik Ö, Turkoz Y, Hascalik M, Cigremis Y, Mizrak B, Yologlu S. Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, protects from ischemia-reperfusion damage of the ovaries. *Gynecol Obstet Invest*. 2004;57(4):218-23.
94. T Karaçor, Z Dogan, E Elibol, M Bulbul & MC Nacar (2020): Effects of iloprost on experimental ischemia and reperfusion injury in rat ovary, *Biotechnic & Histochemistry*, DOI:10.1080/10520295.2019.1703219
95. Fatma F. Alia , Amira F. Ahmedb , Doaa M. Elroby Ali. Underlying mechanisms behind the protective effect of angiotensin (1–7) in experimental rat model of ovarian ischemia reperfusion injury. *Life Sc* 2019 Oct 15;235:116840. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116840. Epub 2019 Sep 5
96. John C Chapman , Yuying Liu, Limin Zhu, J Marc Rhoads. Arginine and citrulline protect intestinal cell monolayer tight junctions from hypoxia-induced injury in piglets. *Pediatr Res* . 2012 Dec;72(6):576-82. doi: 10.1038/pr.2012.137. Epub 2012 Oct 5.
97. Kazuya Matsuo , Yasushi Yabuki , Kohji Fukunaga. Combined l-citrulline and glutathione administration prevents neuronal cell death following transient brain ischemia. *Brain Res*. 2017 May 15;1663:123-131. doi: 10.1016/j.brainres.2017.03.014. Epub 2017 Mar 14.
98. Yi-Chen Lee , Yu-Tsun Su , Ta-Yu Liu, Chih-Min Tsai , Chih-Hao Chang and Hong-Ren Yu. Supplementation Have Different Programming Effect on Regulatory T-Cells Function of Infantile Rats. *Front. Immunol.*, 10 December 2018 Sec. Nutritional Immunology.

99. Maritza J Romero , Daniel H Platt, Ruth B Caldwell, R William Caldwell Therapeutic use of citrulline in cardiovascular disease Cardiovasc DrugRev. 2006.Fall-Winter;24(3-4):275-90

