

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

**OVARYEN HİPERSTİMÜLASYON SENDROMU
OLUŞTURULMUŞ RAT MODELİNDE
RESVERATROLÜN
ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ŞEBNEM ÖZGÜR**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. MESUT ÖKTEM**

**ANKARA
OCAK 2012**

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

**OVARYEN HİPERSTİMÜLASYON SENDROMU
OLUŞTURULMUŞ RAT MODELİNDE
RESVERATROLÜN
ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ŞEBNEM ÖZGÜR**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. MESUT ÖKTEM**

**Bu tez Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından
G.Ü.ET-11.072 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
OCAK 2012**

TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık tezimi sunarken, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı' ndaki asistanlık eğitimim süresince bana yol gösteren ve eğitimimde büyük katkıları bulunan tüm hocalarıma, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Anıl ONAN' a, tezimin hazırlanması süreci içinde benden yardımını esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Mesut ÖKTEM ve yardımlarından ötürü Patoloji Anabilim Dalı' ndan Doç. Dr. Özlem ERDEM' e; hayatım boyunca bana yol gösteren, bugünlere gelmem için bana sonsuz destek olan ve sevgilerini esirgemeyen aileme; acı tatlı günleri beraber paylaştığımız değerli asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SAYGILARIMLA

Dr. Şebnem ÖZGÜR

Ocak 2012

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
İçindekiler.....	ii
Tablolar Dizini.....	iv
Şekiller Dizini	v
Resimler Dizini	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.İNFERTİLİTE.....	3
2.2. KONTROLLÜ OVARYEN HİPERSTİMÜLASYON	3
2.2.1. Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon Ajanları	4
2.2.1.1. Klomifen Sitrat	4
2.2.1.2. GnRH ANALOGLARI	5
2.2.1.3. Gonadotropinler.....	6
2.3. Ovaryen Hiperstimülasyon Sendromu.....	7
2.3.1. OHSS Patofizyolojisi.....	8
2.3.1.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü.....	8
2.3.1.2. İnterlökin-6.....	12
2.3.2. Risk Faktörleri ve OHSS’ nin Önlenmesi.....	14
2.3.3. OHSS Sınıflaması.....	15
2.3.4. OHSS Tedavisi	16
2.3.4.1. Hastanede Klinik Biyomonitorizasyon	19
2.3.4.2. Medikal Tedavi.....	20

2.3.4.3. Ciddi OHSS’ de Asit Sıvısı ve Plevral Efüzyonun Aspirasyonu	26
2.3.4.4. Cerrahi Tedavi	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	54
7. ÖZET	55
8. SUMMARY	57
9. KAYNAKLAR.....	59
10. EKLER	77

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. OHSS Sınıflaması	16
Tablo 2. Resveratrolün etkileri	25
Tablo 3. Histopatolojik skörlama.....	34
Tablo 4. Çalışma sonucu elde edilen tüm veriler.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	VEGF reseptörleri	10
Şekil 2.	OHSS' nin temel patofizyolojisi	13
Şekil 3.	Resveratrolun kimyasal yapısı	23
Şekil 4.	Ratların vücut ağırlıklarının karşılaştırılması	38
Şekil 5.	Ratların toplam over ağırlıklarının karşılaştırılması	39
Şekil 6.	Periton sıvısı VEGF düzeylerinin karşılaştırılması	40
Şekil 7.	Periton sıvısı IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması	41
Şekil 8.	Gruplara göre antral folikül sayısı	42
Şekil 9.	Gruplara göre atretik folikül sayıları	42
Şekil 10.	Gruplara göre korpus luteum sayıları	43
Şekil 11.	Toplam VEGF skoruna göre grupların karşılaştırılması	47

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Histopatolojik Skorlama (3,2,1,0).....	34
Resim 2. A: Grup 1 (Kontrol), B, C: Grup 2 (Hafif), D: Grup 3 (Şiddetli)	45
Resim 3. A, B: Grup 4 (Resveratrol), C: Grup 3 (Şiddetli), D: Grup 2 (Hafif) ...	46

1. GİRİŞ

Toplumda çiftlerin %10-15 inde infertilite problemi bulunmaktadır (1). ovulasyon fonksiyon bozukluğunda ovulasyon indüksiyonu amacıyla, gonadotropinlerin kullanımı son 30 yılda oldukça artmıştır. Ancak bu ilaçların kullanımı sırasında ciddi iyatrojenik bir komplikasyon olan ovaryen hiperstimulasyon sendromu (OHSS) gelişebilmektedir (2).

OHSS' nin klinik bulguları, masif ekstravasküler sıvı akümüasyonu ve hemokonsantrasyondur. Hastalarda renal yetmezlik, hipovolemik şok, tromboembolik ataklar ve adult respiratuvar distress sendromu (ARDS) ortaya çıkabilir. Bu sendromda, insan koryonik gonadotropini (hCG) stimülasyonu altındaki overler tarafından vazoaktif maddelerin salgılanması ile kapiller permeabilitede artış ortaya çıkar. İnsanlarda OHSS gelişiminde, hCG, Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), östradiol, progesteron, renin-anjiotensin sistemi, kinin-kallikrein sistemi, prostaglandinler, sitokinler, nitrik oksit gibi ajanlar sorumlu tutulmuştur (3).

OHSS, VEGF' nin, vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2)' yi aktive etmesine bağlı olarak vasküler geçirgenliğin (VG) artması sonucu ovarian hipersekresyon ile oluşur (4).

İnterlökin 6 (IL-6) bir akut faz reaktanı olarak vasküler permeabilitenin arttığı ve vasküler protein kaçağının olduğu patolojilere aracılık etmektedir. Hipotansiyon ve asit bulguları ile giden akut alkolik hepatit ve akut pankreatitte yüksek IL-6 düzeyleri bu bulgulara eşlik etmektedir (5).

Resveratrol, viniferin polimer sınıfından olup bitki hücrelerinde fitoalleksin olarak bulunur. Resveratrolün (3,5 4- trihy-droxystilbene) bilinen en iyi kaynakları üzüm (50-100 µg/g), kırmızı şarap, dut, yaban mersini, ve yer fıstığıdır (6).

Resveratrolün anti-aging, anti kanserojen, kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu, anti-inflamatuar, iskemi reperfüzyon sağaltıcı, antioksidan özellikleri vardır (7).

Çalışmamızda amacımız resveratrolün OHSS oluşturulmuş rat modelinde, OHSS üzerine ve IL-6 ,VEGF üzerinde etkilerini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.İNFERTİLİTE

İnfertilite, çiftlerin en az bir yıl süreyle, hiçbir kontrasepsiyon yöntemi kullanmaksızın, düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamamaları durumudur. Toplumda çiftlerin %10-15' inde infertilite problemi bulunmaktadır (1).

Birinci yılın sonunda sağlıklı çiftlerin %85-90'ında gebelik gerçekleşir (9). 30' lu yaşların sonlarında olan kadınlarda, infertilite görülme oranı %25' e ulaşırken, 40 yaşından sonra fertilitede azalma daha hızlı olur (10,11).

2.2. KONTROLLÜ OVARYEN HİPERSTİMÜLASYON

Ovülasyon indüksiyonu yalnızca amenore ve anovülasyon durumlarında değil, tubal, erkek nedenli ya da nedeni bilinmeyen infertilite olgularında da kullanılmaktadır. KOH kavramı IVF (in-vitro fertilizasyon) pratiğinden doğmuştur. Uterusa birden fazla embriyo verilerek gebelik hızının arttığıının anlaşılmasıyla iyi kalitede yumurtaların seçilebilmesine imkan verecek ve mümkün olduğunca çok folikülün elde edilebileceği KOH rejimleri önem kazanmıştır (12).

2.2.1. Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon Ajanları

2.2.1.1. Klomifen Sitrat

Klomifen sitrat (CC) ilk olarak 1956 yılında sentezlenmiş ve klinik kullanımı 1960' ta başlamıştır. CC oral yoldan alındığında aktif olan nonsteroidal bir ajandır. Cis ve trans izomerleri olarak adlandırılan iki sterokimyasal izomerin karışımından meydana gelmektedir. Günümüzde ise bu tanımlama yerine, izomerleri zuklomifen ve enklomifen olarak tanımlanmaktadır (13).

CC 50 mg' lık tabletler halinde mevcuttur ve %38' i daha aktif olan zuklomifendir. CC' nin yapısının östrojenik bir maddeye benzemesi etki mekanizmasının ipucudur. CC çok zayıf östrojenik etki gösterir. Östrojene olan yapısal benzerliği östrojen reseptörleri tarafından tanınması ve bağlanması için yeterlidir. Ancak östrojenden farklı pek çok özelliği vardır (14).

CC hipotalamustaki östrojen reseptörlerine bağlanır ve östrojenin Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) üzerindeki negatif feed back etkisini bloke ederek GnRH pulsatilitesini artırır ve sonuçta hipofizden gonadotropin sentezini artırır. İkinci etki mekanizmasının ise hipofiz üzerindeki östrojen reseptörlerine direk bağlanarak gonadotropin sentezini artırdığı şeklindedir. CC kullanımı ile her iki mekanizma aktive olmakta ve gonadotropin sentezi artmaktadır. CC in tek doz alımdan itibaren 6 hafta sonra dahi intestinal yolla atılımı devam eder ve östrojen reseptörleri üzerine olan etkisi uzun süre de devam eder (15).

2.2.1.2. GnRH ANALOGLARI

Peptid yapıdaki GnRH' ın primer yapısının delesyon ya da bir veya birkaç aminoasitin yer değiştirmesi ile elde edilen GnRH yapısal analoglarından çok sayıda mevcuttur (17).

GnRH agonistleri (GnRH-a)

Deneyssel ve klinik çalışmalarda GnRH analoglarının tekrarlayan invivo kullanımının gonadotropinler üzerinde bifazik salınım yaptığı bulunmuştur. İlk olarak FSH (Foliküler Stimulan Hormon) ve LH (Lüteinizan Hormon)' da ani salınım (flare up etki) olur; daha sonra GnRH reseptörü down regülasyonu pituiter desensitizasyon aşaması gelişir. Gonadotropin sentezindeki progresif azalma, GnRH-a kullanımı süresince devam eder. Desensitizasyonun şiddet ve süresi LH için doza bağımlıdır. Yine doz ve formülasyona bağlı olarak ilaç bırakıldıktan sonra da endojen GnRH' a refrakter bir period oluşur. GnRH-a' nın bu özellikleri iki tedavi protokolünde kullanılmaktadır (16,17).

GnRH antagonistleri

Agonistlerin yanısıra moleküler yapıdaki 6 ve 10. aminoasit' lerin dışında 1, 2, 3 ve 8. pozisyonadaki aminoasitlerdeki modifikasyonlarla antagonistler elde edilmiştir. Antagonistler yarışmalı olarak reseptörlere bağlanır, endojen GnRH' nun ilk salınımını önler ve böylece flare-up etkisini ortadan kaldırır. İlk elde

edilen antagonistlerde histaminin salınımına bağılı alerjik yan etkiler görölmesine karşın yeni preparatlarda bu etki ortadan kalkmıştır (18).

GnRH antagonistleri ile GnRH-a uzun protokolle karşılaştırmalı çalışmalarda sonuçlar tartışmalıdır (19). Foliküler gelişim açısından bakıldığında agonist siklusa göre antagonist sikluslarda foliküllerin başlangıçta hızlı büyüdüğü ve östradiol seviyesinin daha çabuk arttığı görölmüştür (20). Antagonist protokolünün kısa olması ve 3. jenerasyon antagonistlerin klinik toleransının yüksek olması antagonist protokolünün avantajlarıdır. Kullanılan eksojen gonadotropin miktarının, OHSS sıklığının ve toplam maliyetin az olması da diğör önemli avantajlarıdır (20).

2.2.1.3. Gonadotropinler

FSH ve LH karışımı olan düşük spesifisiteye sahip ve alerjik reaksiyonlara neden olan üriner proteinleri içeren insan menapozal gonadotropini (hMG) yıllardır kullanılmaktadır (21). Gonadotropin seçimi kullanılan GnRH analog rejimine ve overin tahmini cevabına göre yapılmalıdır. Sözgelimi, hipogonadotropik hipogonadizmde hMG preparatları yeterli östrojen üretimi ve endometrial matürasyonu sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir veya polikistik over sendromlu (PCOS) hastalarda FSH kullanımı ile hMG ye göre daha az oranda OHSS izlenmektedir (22).

İlk olarak 1958’de pituitör bez FSH ekstraktları, 1962’ de de üriner ekstraktlar tariflendi. Safılaştırılmış insan idrar FSH’ı (u-hFSH) %95’ ten fazla

oranda saf FSH ve 9000 IU FSH/mg içerir. Sonraları rekombinant DNA teknolojisiyle saf insan FSH'ı follitropin alfa ve follitropin beta üretildi. R-hFSH' ı %99' dan fazla oranda saf FSH ve 10000 IU FSH/mg spesifik aktiviteye sahiptir (21). Çeşitli çalışmalarda ve meta-analizlerde toplam oosit sayısı, FSH toplam dozu ve tedavi süresi, gebelik oranları açısından r-FSH' ın üriner ürünlere göre daha etkin olduğu belirtilmektedir (21, 23, 24).

GnRH-a kullanılan IVF protokollerinde LH artışını sağlamak için saflaştırılmış insan idrar koryonik gonotropini (u-hCG) kullanılmaktadır. Bu ürün saf yapıda rekombinan teknolojiyle de üretilmiştir (r-hCG). Bu ürünün 250 mikrogramı 5000 IU u-hCG' ye eşdeğerdir. Çalışmalarda toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısı konusunda çelişkili sonuçlar olmakla beraber ortak nokta hCG sonrası serum progesteron konsantrasyonun r-hCG ile daha yüksek olduğu yönündedir (22,25,26).

Rekombinant LH (r-hLH) ın yarılanma ömrü 2 saat iken u-hCG' nin 24 saat olup aralarında 10 kat fark ve yaklaşık 7 günlük aktivite farkı vardır. Daha uzun ömrü ve yüksek afinitesi nedeni ile u-hCG ile GnRH-a ya veya LH a göre OHSS riski daha fazladır (27).

2.3. Ovaryen Hiperstimülasyon Sendromu

Gonadotropinlerle tedavi edilen infertil hastalarda görülen en önemli komplikasyon olan OHSS, semptomatik hastalarda vasküler permeabilitenin artması ve sıvının intravasküler alandan ekstrasvasküler alana kaçmasından dolayı

vücut boşluklarına sıvı akımıyla karakterize bir durumdur. Bu masif ekstrasvazasyonun sonucunda hipotansiyon, renal kan akımı azalması, idrar çıkışında azalma, hemokonsantrasyon, organ perfüzyonunun azalması, tromboembolik olaylar ve sıvının peritoneal kaviteye ve akciğerlere kaçması sonucu abdominal rahatsızlık ve respiratuar distres sendromu oluşabilir. Overlerin aşırı büyümesine bağlı adneksial torsiyon gelişebilir (28).

Abramav ve ark.'nın İsrail'de yaptığı en büyük kohort tipi çalışmada, IVF' i takiben gelişen ağır OHSS vakalarının insidensini %0.24 olarak bildirmiştir (8).

2.3.1. OHSS Patofizyolojisi

OHSS patofizyolojisi net olarak bilinmemektedir. Ancak süreç, overler ve çevresindeki vasküler yapıların permeabilite artışı ile ilgilidir (30). Kritik noktayı folliküler sıvıdaki proanjijenik ve antianjiyojenik faktörler arasındaki denge oluşturmaktadır. β -hCG ve analogları, östrojen, östradiol, prolaktin, histamin ve prostaglandinler OHSS etiyopatogenezinde suçlanmakla beraber interlekinler, tümör nekroz faktör (TNF)- α , endotelin-1 ve vazoaaktif maddeler, VEGF, vasküler permeabilitenin artmasında etkin rol oynamaktadır (31).

2.3.1.1. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

OHSS fizyopatogenezinde rol oynayan nedenler arasında ilk sırada, vasküler endotel geçirgenlik faktörü (VPF) olarak da adlandırılan VEGF olup, hCG bağımlı ovaryen anjiogeneziste en önemli mediatördür (32,33). hCG

eklendikten sonra granüloza hücrelerindeki VEGF mRNA (Mesajcı ribonükleik asit) seviyesinin arttığı bilinir (36,37).

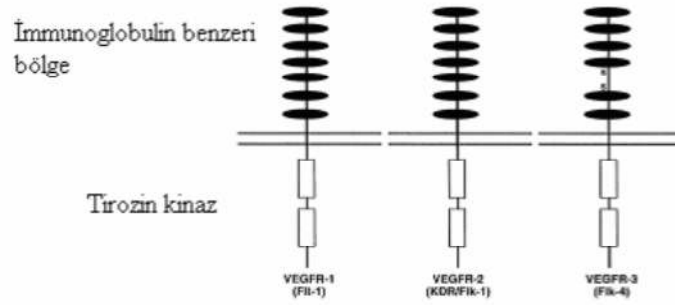
VEGF sadece yeni damar oluşumunu uyarmaz ayrıca reseptör-2 (VEGFR-2) aracılıklı vasküler hiperpermabiliteyi de uyarır (4).

Endotel hücrelerine özgül olan VEGF ailesi ilk olarak 1980' lerde bulunmuştur. İlk bulunduğu yıllarda tek bir üyeden oluştuğu düşünülse de yapılan çalışmalarla bunun birçok üyesi olan bir aile olduğu ortaya konulmuştur. Bu ailenin VEGF-A (Human- VEGF olarak da adlandırılır), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, Plasental büyüme faktörü (PlGF) ve yılan zehiri VEGF' ü (svVEGF, VEGF-F) adı verilen yedi üyeden oluştuğu görülmüştür. Literatürde yer alan birçok makalede VEGF olarak isimlendirilen büyüme faktörü, aslında Human- VEGF' ü ya da diğer adıyla VEGF-A' yı tanımlamaktadır (34,35).

Başta VEGF-A olmak üzere ailenin tüm üyeleri; vücutta olagelen birçok fizyolojik (vaskülogenez, anjiogenez veya kemotaksi gibi) ve patolojik olayda (kanser, neovasküler hastalıklar veya kronik inflamatuvar hastalıklar gibi) rol almalarından dolayı son yıllarda oldukça popüler olmuşlardır (36).

Bu büyüme faktörü ailesinin endotel hücresinde etki gösterebilmesi için öncelikle ona bağlanabilmesi gerekir. Bir başka deyişle, endotel hücrelerinin VEGF' den faydalanabilmesi için onun bağlanabileceği özgül reseptörleri sentezlemesi gerekir. Bu reseptörler 5 tanedir: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2. İlk bulunan reseptörler VEGF reseptör-1, Fms like

tyrosine kinase-1 (flt-1) ve VEGF reseptör-2, Kinase insert domain receptor (flk-1, KDR)' dir. Bunlar ilk olarak embriyogenez sırasında sentezlenirler (39). Bu iki reseptörün amino asitlerinin %44' ü ortaktır. Bu reseptörler yaklaşık 1300 amino asitten oluşur ve iki bölüm içerirler. Birinci bölüm, hücre içinde kalan ve tirozin kinazın etkinlik alanlarını içeren hücre içi bölümdür. İkinci bölüm ise, hücre dışında kalan tek kısa membran köprüleri dizisi ve ligand bağlama bölgeleri içeren 7 adet immünoglobülin benzeri yapıdan oluşan hücre dışı bölümdür (40).



Şekil 1. VEGF reseptörleri (39)

Flt-1 ve KDR reseptörleri VEGF' ye yüksek affinite ile bağlanmaktadır. VEGF, KDR reseptörlerine bağlandığında hücrelerde kemotaksis ve mitojenik aktivite uyarılırken, Flt-1 reseptörlerine bağlandığında buna ters etki görülmektedir. KDR intakt hücrelerde tirozin fosforilasyonunu oldukça güçlü sağlarken, Flt-1' de bu etki daha hafiftir (41). VEGF geninin regulasyonunda çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür.

1- Hipokside invivo ve invitro olarak Hipoksi ile indüklenebilen faktör (HIF) ile VEGF mRNA' sının yüksek ekspresyonudur (42). Muhtemel bir mekanizma VEGF ve eritropoetinin homolog genlerine dayandırılmaktadır. Diğer bir muhtemel mekanizma adenosin A2 reseptörlerinin aktivasyonunu sağlayan, siklik adenosin monofosfat artışı (cAMP) ile sonuçlanan adenosin artışıdır. Artmış cAMP muhtemelen protein kinaz-A bağımlı yoldan VEGF mRNA üretimini arttırmaktadır.

2- Sitokinler ve büyüme faktorlerinin VEGF mRNA üretimini ve protein sekresyonunu arttırmasıdır. IGF-1, VEGF mRNA' sını ve protein üretimini VEGF geninin transkripsiyon oranını hemde mRNA stabilitesini arttırarak indükleyebilmektedir. Epidermal büyüme faktörü (EGF), transforming growth factor- α (TGF- α) ve transforming growth factor - β (TGF- β), platalet derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve IL-6 VEGF' yi yükseltmektedir.

3- Epitelyal ovaryen kanserli hastaların asit sıvıları ve plazmasında bir bioaktif fosfolipid olan lisofosfatidik asit (LPA) seviyeleri yüksek bulunmuştur. LPA, VEGF mRNA ekspresyonunu ve VEGF protein seviyelerini muhtemelen endotelyal diferansiyasyon genini (Edg)-4 ve muhtemelen diğer LPA reseptörlerini aktive ederek arttırmaktadır (41).

4- Hücre farklılaşmasını VEGF gen üretiminin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Fibroblast hücrelerinde tümör baskılayıcı geninin,p53,mutasyon

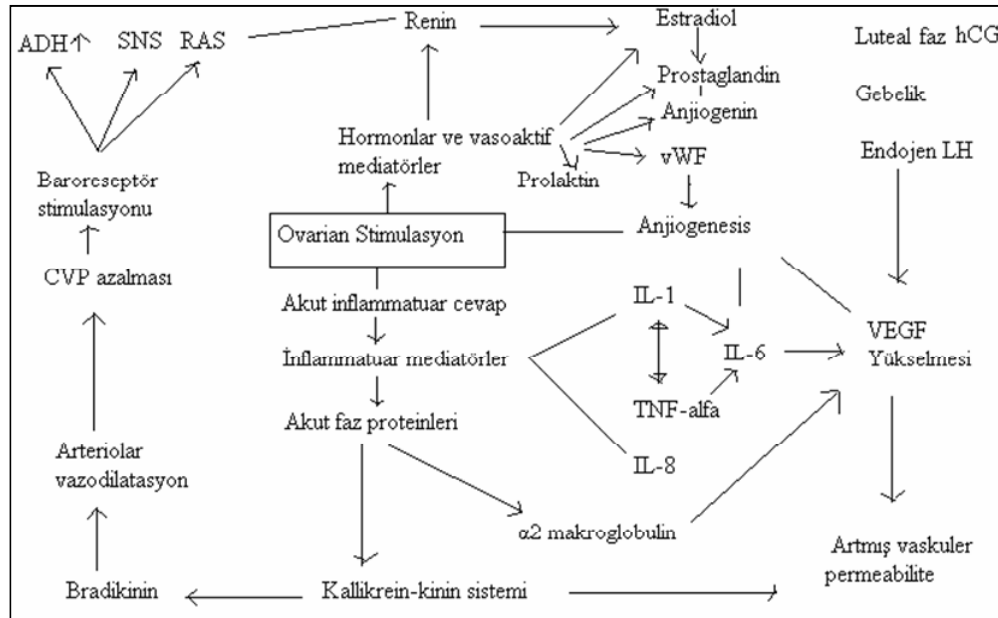
formu VEGF mRNA ekspresyonunu indükleyebilmektedir (43). RAS' ın onkojenik mutasyonu veya amplifikasyonu VEGF' un yükselmesine neden olmakta ve bu bir RAS inhibitörü olan farnesyl transferaz tedavisi ile bloke olabilmektedir. Yeni olarak, Von Hippel- Lindau (VHL) tümör baskılayıcı geni VEGF gen ekspresyonunu regüle ettiği bulunmuştur. Tümör hücrelerinin ekspresse ettiği mutant VHL genleri endotelial hücrelerin mitojenik aktivitesini anti VEGF antikorları ile nötralize olabilmektedir.

Potent bir adenilat siklaz aktivatorü olan forskolin, VEGF mRNA üretimini indüklemektedir. Bir adenilat siklaz aktivatorü olan LH' ın ovarian granuloza hücrelerinde VEGF mRNA üretimini arttırabilmektedir (41).

2.3.1.2. İnterlökin-6

İL-6 lenfoid ve lenfoid olmayan, T hücreleri, B hücreleri, mezenşial hücreler ve değişik hücreler tarafından üretilmektedir. IL-1, TNF α ' ya benzer şekilde değişik etkileri gerçekleştirebilmektedir. İL-6' nın aynı zamanda ovaryen stimulusona giden hastaların foliküler sıvısında, asit sıvısında ve OHSS' li hastaların plazmasında da yükseldiği bulunmuştur. Ovarian foliküler gelişmeye eşlik eden neovaskularizasyon ve embriyonik implantasyonu takiben maternal desiduada kapiller ağın düzenlenmesi olmak üzere iki anjiogenik durumda IL-6 mRNA' sı invivo olarak üretilmiştir (42). IL-6, ovaryen tümör hücreleri tarafından üretilmekte ve anjiogenezin ilerlemesinde, tümör hücrelerinin düzenlenmesinde ve ovaryen kanser ile ilişkili asit gelişiminde önemli rol oynayabilir (43). IL-6' nın bu sınırlı üretimi sitokinlerin reproduktif anjiogeneze rol aldıklarını

düşündürmektedir. Bu bulguların ışığında IL-6' nın OHSS' deki mediatörlerden biri olduğu söylenebilir. İL-6' nın İL-1 ve TNFα ile beraber lökositoz, artmış kapiller permeabilite, karaciğer tarafından sentezlenen akut faz maddeleri gibi sistemik reaksiyonlarda mediyatör olduğu düşünülmektedir. Invivo ve invitro olarak IL-6' nın IL-1 ve TNFα' dan bağımsız olarak vazodilatasyon ve hipotansiyona yol açmadığı bildirilmiştir. İL-6' nın OHSS deki patogenezindeki rolü net olmamakla beraber neovaskularizasyon ve asit formasyonu ile ilişkili olabilir. Bununla beraber TNFα ve IL-1β en azından ilk başta OHSS' deki kapiller permeabilite ve vazomotor instabiliteden sorumlu olabilir. İL-6, OHSS' deki peritoneal akut faz yanıtı artırarak, overlerden peritoneal kaviteye sıvı göllenmesini ve inflamatuvar mediatörlerin birikimini sağlayarak etkili olabilir (42).



Şekil 2. OHSS' nin temel patofizyolojisi (44)

2.3.2. Risk Faktörleri ve OHSS’ nin Önlenmesi

OHSS gelişme riski aşağıdaki özellikleri taşıyan kişilerde daha fazladır (45):

- 1.Genç yaş
- 2.Polikistik Over Hastalığı
- 3.Yüksek serum östrojen seviyeleri (>2000 pg/ml)
- 4.Önceki siklularda OHSS
5. Küçük ve orta büyüklükteki 15’ ten fazla folikül

Rizk, OHSS’ nin önlenmesinde “ON KURAL”dan bahsetmektedir (46).

On Kural

1. hCG vermeme: en genel metod
2. hCG’ yi geciktirme
3. Ovülasyonu tetiklemek için GnRH-a kullanımı
4. Folliküler aspirasyon
5. Luteal faz desteği için progesteron
6. Kriyoprezervasyon ve daha sonraki siklularda dondurulup çözülmüş embriyoların tekrar yerleştirilmesi
7. PCOS’ ta step-up protokolü ve laporoskopik drilling
8. Oositlerin atılımı anında albumin verilmesi
9. IVF programında hCG verilmesinden 35 saat sonra overyan

foliküllerin en iyilerinin alınması

10. Glukokortikoid verilmesi

2.3.3. OHSS Sınıflaması

Golan ve arkadaşları klinik işaretler, semptomlar, ultrasonografik bulgular ve laboratuvar bulgularını kullanarak OHSS' yi 3 sınıf ve 5 dereceye ayırmışlardır. OHSS' yi sınıflamada en popüler sınıflama Golan ve arkadaşlarının yaptığı sınıflamadır (8).

Hafif OHSS: Grade I ve II olarak ayrılır. Grade I' de abdominal distansiyon ve ağrı mevcuttur. Grade II' de grade I' e ilave olarak bulantı, kusma, diyare gibi gastrointestinal semptomlar ile overlerdeki büyüme 5-12 cm arasındadır.

Orta OHSS: Grade III' de ilave olarak ultrasonografik olarak asit bulgusu mevcuttur.

Ağır OHSS: Grade IV ve V olarak ayrılır. Grade III' e ilave olarak asitin klinik olarak saptanması ve/veya hidrotoraks veya dispne. Grade V' de tüm bunlara ilave olarak kan volümünde değişiklikler, hemokonsantrasyona sekonder olarak artmış kan vizkositesi, koagülasyon anormallikleri ve bozulmuş renal perfüzyon ve fonksiyon görülebilmektedir (15, 8). Golan'ın klasifikasyon sisteminde kritik nokta, ağır OHSS' li vakalarda kimlerin ani,hayatı tehdit edici durumla karşı karşıya olduğunun bilinmemesidir (47). Whealan ve ark. Golan

klasifikasyonu kullanılarak tanımlanmış tüm ağır OHSS' li hastaların potansiyel olarak kritik kabul edilmelerini ve hospitalize edilmelerini önermektedir (8).

Tablo 1. OHSS Sınıflaması

HAFİF OHSS	Over Boyutu 5-10 cm
<i>Grade I</i>	Abominal rahatsızlık ve gerginlik
<i>Grade II</i>	Grade I + bulantı, kusma ve/ veya diare
ORTA OHSS	Over Boyutu 10-12 cm
<i>Grade III</i>	Grade II + USG' de asit bulguları
CİDDİ OHSS	Over Boyutu 12 cm' den fazla
<i>Grade IV</i>	Grade III + Klinik olarak belirgin asit ve/ veya plevral effüzyon ve dispne bulguları
<i>Grade V</i>	Grade IV + Hipovolemi, hemokonsantrasyon, kan viskozitesinde artış, hiperkoagülabilite, renal perfüzyon ve fonksiyonlarında bozulma

2.3.4. OHSS Tedavisi

OHSS geliştiği zaman tedavide öncelikle konservatif yaklaşılr. OHSS' nin zamanla dereceli olarak iyileşebileceği unutulmamalıdır. Gebelik oluşmazsa 7 günde, oluşursa 10-20 günde tablo geriler. Hafif ve orta şiddetli OHSS hastalarında düzenli telefon görüşmesi ve muayene, ayrıca hastada dispne, idrar azalması ve/veya alışılmadık durumların bildirmesi takip açısından yeterli görülmektedir. Kilo artımı çoksa, batında ağrı fazla ise, hematokrit (Htc) % 50

olmuşsa, oligüri, dispne ve postural hipotansiyon varsa hospitalize edilmelidir. Pelvik ve abdominal muayene, fiziksel aktivite ve cinsel ilişki yasaklanır. Yatak istirahati, günlük kilo takibi, aldığı çıkardığı sıvı takibi önerilir. Hct (hematokrit), BUN (kan üre azotu), elektrolitler, total protein, albumin/globulin oranı, koagulasyon faktörleri ve üriner sodyum, potasyum ölçümleri seri olarak tekrarlanır. EKG (elektrokardiyografi) hiperkaleminin takibi açısından kullanılabilir. Elektrolit dengesizlikleri için gerekli tedaviler yapılır. Su ve tuz alımının kısıtlanması tartışmalı bir konudur. Htc takibi herhangi bir kanamayı belirlemek açısından anlamlıdır. Ciddi vakalarda overlere dikkat edilerek asit aspirasyonu solunumu rahatlatır. Tekrarlanan aspirasyonlarda kayıp olan plazma proteinlerinin yerine konulmasına dikkat edilmelidir. Bu hastalarda cerrahi girişimden mümkün olduğu kadar kaçınmak gerekir (45).

HAFİF OHSS

Konservatif tedavi ve takip

CİDDİ OHSS

Monitorizasyon Yöntemleri:

1. Sıkı sıvı takibi
2. Plazma ve idrar osmolaritesi
3. Üre ve elektrolitler
4. Pıhtılaşma parametreleri
5. Karaciğer fonksiyon testleri

6. Gebelik testi
7. Pelvik sonografi
8. İnvaziv hemodinamik monitorizasyon

Medikal Tedavi:

1. Doğru dolaşım ve elektrolit imbalansı
 - (i)Elektrolit imbalansının düzeltilmesi
 - (ii)Plasma genişleticiler
2. Antikoagulanlar: klinik ve laboratuvar tromboembolizmde
3. Prostaglandin sentez inhibitörleri renal perfüzyonu arttırabilir
4. Diüretikler: intra vasküler volümü azaltır
5. Dopamin: oligürik hastalarda kullanılabilir

Cerrahi Tedavi:

Laparoskopi:

1. Tecrübeli cerrah
2. Eğer sadece hemoraji, torsiyon, rüptür, ektopik gebelik varsa
3. Hasta hemodinamik olarak stabilse

Laparotomi:

Geçmeyen iki taraflı ovarian kistte

Asidik Sıvının Aspirasyonu:

1. Abdominal parasentez
2. Transvajinal aspirasyon

Asidik Sıvının Aspirasyonunun Avantajları

1. Semptomları düzeltir
2. Renal fonksiyon ve üriner çıkışı düzeltir
3. Hospitalizasyonu kısaltır
4. Venöz dönüşü ve kardiyak output' u düzeltir

2.3.4.1. Hastanede Klinik Biyomonitorizasyon

Hastanın genel durumu düzenli izlem gerektirir ve vital bulguları günlük ağırlık ve bel çevresinin ölçümünü gerektirir. Özellikle idrar çıkışının ve sıvı takibinin çok dikkatli yapılması gerekir. Biyokimyasal monitorizasyon böbrek (BFT) ve karaciğer fonksiyon testleri (KCFT), koagülasyon profilinden ve tam kan sayımından (CBC) oluşur. Serum ve üriner osmolarite ve üriner elektrolit ölçümü hastalığın şiddeti artarsa gerekli olabilir. Respiratuvar problemler ve/veya BFT' de belirgin bozulma kan gazları ve asit baz dengesinin araştırılmasını gerektirir. Bu ölçümlerin aralığı, hastalığın şiddetine göre değişebilir. USG'de over ölçüleri ve asit olup olmadığı ve plevral veya perikardial efüzyon olup olmadığı değerlendirilir. Ayrıca intra veya ekstrauterin gebelik ve çoklu veya heterotropik gebelik olup olmadığı değerlendirilir. Göğüs X-ray' i ayrıca hidrotoraks varlığı hakkında bilgi verir. β - hCG tespiti mümkün olan en kısa

sürede gebeliği gösterir. İnvaziv hemodinamik monitörizasyon; (santral venöz basınç ve pulmoner arter basıncı), volüm genişletici verilmeye başlamanın kesin koşuludur.

2.3.4.2. Medikal Tedavi

Dolaşım ve elektrolitler: Genelde OHSS' li hastalar hipovolemik, hiperkalemik ve azotemiklerdir. OHSS' nin açıklanmasında pek çok faktör öne sürülmüştür. Özellikle intravasküler sıvı kaçağının etiyolojideki yeri önemlidir. Bu bağlamda VEGF, histamin, serotonin, büyüme faktörleri ve renin-angiotensin sistemi suçlanmıştır. Tedavinin temel yolu doğru dolaşım volümü ve elektrolit imbalansının düzeltilmesidir. Amaç normal İ.V. volümü sağlamak ve yeterli renal fonksiyonu sağlamaktır. Bu olay kolloid plazma genişleticiler ve insan albuminiyle sağlanabilir. Plazma genişleticileri kullanılmasının ekstrasvasküler boşluğa dağılmadan hemen önceki yararlı etkilerinin geçici olduğu ve asit oluşumunu arttırması ihtimali de mevcuttur. Uygun solüsyon ile elektrolit düzensizliği düzeltilebilir (48,49). Shapiro ve Hanning, Na ve su kısıtlaması önermiştir (48,50). Ancak Thaler hasta ağırlığı, bel çevresi veya periferik ödemde bu yöntemle değişiklik olmadığını söylemiştir (49). Dolayısıyla Na ve su kısıtlamasının geniş kullanımı yoktur (51). Antikoagulan tedavisi eğer klinik tromboemboli bulgusu veya laboratuvarında yüksek koagulabilite varsa endikedir (52-54). Günümüzde venöz tromboz OHSS' nin en sık görülen ciddi komplikasyonudur. Şiddetli OHSS' lere proflaktik heparinin uzunca süre bütün vakalara verilmesi uygundur. Volüm yüklenmesi olmadan diüretik tedavisinin

İ.V. volümü daha da daraltarak hipotansiyon ve sekellerini ağırlaştırması ihtimali vardır. Diüretikler kan vizkozitesini ve venöz tromboz riskini artırır. Bunun yanında pulmoner konjesyon veya ödemin tedavisinde kullanılırlar.

Dopamin, son zamanlarda ciddi OHSS sonucu oluşan oligürik hastalarda böbrek fonksiyonunu düzeltmek için kullanılmaktadır. Dopamin renal etkilerini, renal kan akımı ve renal filtrasyonu arttırarak gösterir bunu da böbrekteki dopaminerjik reseptörleri uyarmak yoluyla başarmaktadır. Dopaminle tedavi olan oligürik hastalarda mantığa uygun olan sıvı ve tuzdan kaçınmak ve akut böbrek yetmezliğinden korunmaktır. Buna karşın dopamin tedavisi ciddi ve sıkı gözlemle verilmelidir (55).

OHSS rodent modelinde, vasküler permeabilite artışı, SU5416 (selektif VEGF reseptör (Flk-1/KDR) inhibitörü) kullanılarak VEGFR-2' nin intraselüler fosforilasyonu bloke edilerek önlenmiştir (56,57).

Yüksek doz Dopamin reseptör-2 (Dp-R2) agonistinin eklenmesi fare kanser modelinde VEGF/VEGFR-2 sinyal aracılıklı tümör ilişkili anjiogenezisi ve vasküler permeabiliteyi bloke etmiştir. İnvitro çalışmalar sonucunda altta yatan VEGFR-2 aracılıklı moleküler mekanizmanın Dp-R2' nin aktivasyonu ile indüklendiğini gösterilmiştir (58).

Meloksikam bir COX-2 inhibitörüdür. Daha önceden yapılmış bir çalışmada meloksikam ile VEGF ekspresyonunun azaldığı immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir (59).

Antihistaminiklerin, tavşan modellerinde OHSS gelişimini önlediği gösterilmiştir. H1 reseptör blokajının asit oluşumu bloke ettiği ve ovarian çap artımını azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte diğer çalışmalarda H1 veya H2 reseptör blokajının OHSS gelişimine etkisi gösterilememiştir. Histaminin OHSS’ de mediatör olduğu veya antihistaminiklerin OHSS tedavisinde rolleri olduğuna dair önemli kanıtlar bulunmamaktadır (60).

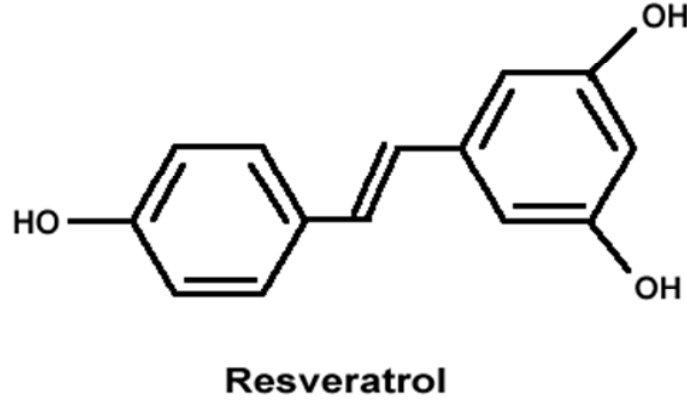
Bir diğer çalışmada; OHSS oluşturulmuş mürin modelinde doksisisiklin kullanımının, peritoneal sıvının spektrofotometrik tekniklerle incelenmesiyle vasküler kaçağı önlediği gösterilmiştir (61).

RESVERATROL

Resveratrol (3,5,4’-trihydroxystilbene) ilk kez 1976 yılında Langcake ve Pryce tarafından üzümde fitoaleksinin olarak bulunmuştur (62). Başta üzüm olmak üzere fındık, çilek ve birçok taze meyvede bulunmaktadır.

Resveratrolun trans-resveratrol ve cis-resveratrol olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. Yüksek pH ve ultraviyole ışık transtan cise dönüşüme sebep olurken; düşük pH, yüksek ısı ve gün ışığı cisten transa dönüşüme sebep olmaktadır. Trans izomer daha stabil olan formdur (63). Resveratrolün yaklaşık %20’ lik kısmı duodenumdan absorbe edilip, bütün organlara yayılır ve absorbe edilen major form resveratrol-glukuronidtir (64). Resveratrolün glukuronidasyonu duodenum ve karaciğerde gerçekleşir. Glukuronidasyonun major ürünü transresveratrol-3-O-glukuronid, trans- resveratrol-4-glukuronid, ve

transresveraresveratrol-3-O-sulfattir (65). Plazmada serbest trans-resveratrol çok az miktarda bulunur ve yarı ömrü kısadır.



Şekil 3. Resveratrolun kimyasal yapısı

Resveratrolün tümör gelişimindeki çeşitli hücreyel olayları inhibe ederek kanserden koruyucu etki oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (66-69). Resveratrolün antitümör etkisi tam olarak anlaşılmamasına rağmen; antiöstrojenik etkisi, p53, fas-fas ligand sistem ve mitojen aktif edilmiş protein kinaz (MAPK) ekspresyonunu aktive etmesi; p4501A1, ribonükleotid redüktaz, ornitin dekarboksilaz, protein kinaz C, DNA polimeraz inhibisyonu ve apoptozisi indüklemesi nedeniyle antitümör etkisi gösterdiği düşünülmektedir (67-78). Bunun yanında, anjiogenezisi inhibe edici etkisinin de antitümör etkide rol oynadığı düşünülmektedir. Yeni damar oluşumu, endotelial hücre aktivasyonu ve proliferasyonu, bazal membran hasarı, aktive ve proliferen olan endotelial

hücrelerin stromal boşluğa invazyonu gibi çok basamaklı bir süreçtir (79). Anjiogenezisde rol oynayan VEGF veya FGF gibi moleküllerin inhibisyonu ve kapiller benzeri tüp formasyonunun supresyonu ile anjiogenezis kontrol altına alınabilir. Yapılan çalışmalarda t-resveratrolün endotelial hücre mikrotubul destabilizasyonu ve FGF beta ve VEGF inhibisyonu ile anjiogenezisi inhibe ettiği gösterilmiştir (80-83). Resveratrolün monosit ve alveolar epitelyal hücrelerde nükleer faktör- kappa B ve aktivatör protein -1 inhibisyonu ile siklooksijenaz 2 ve nitrikoksit sentaz enzimlerini suprese ederek inflamasyonu sınırlayıcı etkisi gösterilmiştir (84, 85). Aynı zamanda, nükleer faktör- kappa B (NF-kappa B) ile regüle edilen matriksmetalloproteinaz-9, hücre yüzey adezyon molekülleri (intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi çeşitli moleküllerin de supresyonunu sağlar. Antiinflamatuvar etkinin yanı sıra NF-kappa B aracılı eksprese olan bazı genlerin supresyonuyla da antikanserojenik etki gösterir (82). C-resveratrol de NF-kappa B gen ailesinin ekspresyonunu, monosit kemotaktik peptid-1 (MCP-1), RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) transkripsiyonunu, monosit koloni-stimüle edici faktör-1 (M-CSF), granülosit-monosit koloni sitümüle edici faktör 2 (GM-CSF), granülosit koloni sitümüle edici faktör 3 (G-CSF), transforming growth faktör beta (TGF-beta) ve ekstrasellüler ligand interlökin 1 (IL-1) gibi proinflamatuvar sitokinleri inhibe eder. Buna karşın, c-resveratrol interlökin 6 (IL-6), tümör nekrozis faktör alfa (TNF alfa), interlökin regulatuvar faktör-1 (IRF-1) gibi bazı proinflamatuvar sitokinleri de stimüle ederek pro-inflamatuvar yolda dengeleyici etki gösterir

(86). Aromataz aktivitesini suprese ederek östrojen sentezini sınırlayıcı etkiside yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (87). Karaciğerde lipid sentezi ve lipoprotein oksidasyonunu engelleyerek antioksidan etki gösterir (88-90). Ek olarak, damarları aterosklerozdan korur, trombosit agregasyonunu inhibe eder ve eikanazoid sentezini azaltır (77-91).

Tablo 2. Resveratrolün etkileri

DNA sentezinin inhibisyonu
Apopitozis indüksiyonu
Anjiogenezis inhibisyonu
Antiinflamatuvar etki
Aromataz inhibisyonu ile antiöstrojenik etki
Trombosit agregasyonunun inhibisyonu
Aterosklerozdan koruyucu etki
Antioksidan etki
Kanserden koruyucu etki

2.3.4.3. Ciddi OHSS’ de Asit Sıvısı ve Plevral Efüzyonun Aspirasyonu

Abdominal Parasentez

Thaler, bir çalışmada parasentez sonrası üriner çıkışın prosedür sonrası kısa sürede arttığını, ağırlığın azaldığını ve bacak ödeminin ve abdominal çevrenin azaldığını göstermiştir (49). Uygulamayı takiben kreatinin klirensinin %50 oranında arttığını göstermişlerdir. Bider, ciddi OHSS’ li ve plevral efüzyon veya asiti sonucu dispne ve nefes darlığı olan 12 hastayı abdominal aspirasyon ile tedavi etmiştir (92). Abdominal veya plevral efüzyon drenajı tüm hastalarda semptomları düzeltmiştir. Aspire edilen sıvı miktarı 200 ve 1400 ml arasındaymış. USG eşliğinde yapıldığında ovarian kiste zarar riski minimize edilir. Parasentez solunum sıkıntısında geçici rahatlama sağlar. Bazı hastalar spontan düzelmeye kadar tekrarlayan parasentez ve efüzyon drenajına ihtiyaç duyarlar. Uzmanlar parasentezde oluşabilecek bazı riskleri söylemiş ve proteinden zengin sıvının çekilebileceğini belirtmiştir (93). Padilla, OHSS’ de ciddi asit ve efüzyonun abdominal parasentez ile boşaltılmasının iyi tolere edilip rahatlama sağladığını göstermişlerdir (94). Renal fonksiyonları düzeltmenin başka yararları daha ileri çalışmaları gerektirmektedir. Al-Ramahi, üç vakada peritoneal kateter kullanmış ve parasentezin tekrarlanma ihtiyacını azalttığını belirtmiştir. USG klavuzluğunda kapalı sistem (simp-lack) kilitli Dawson-Müeller kateter yerleştirilmiş ve asit sıvısının sürekli drenajına izin vermiştir. Abdominal rahatsızlıkta önemli azalma ve üriner çıkışta düzelmeye herhangi bir komplikasyon olmadan gerçekleşmiştir. Bu tekniğin tek çekinilebilecek yanı büyük miktarda plazma proteininin azalmasıdır (95).

Transvajinal USG Klavuzluğunda Aspirasyon

Aboulghar, 11 şiddetli OHSS hastadan oluşan çalışmalarında şiddetli OHSS olan hastalarda USG eşliğinde transvajinal asit sıvısı aspirasyonunun etkilerini araştırmıştır (96). Ortalama hastanede kalış süresini, semptomatik süreyi ve bozulmuş elektrolit dengesi görülme süresinin konservatif tedavi edilen gruba göre çok daha kısa olduğunu bulmuştur. Aboulghar ve Rizk, asit sıvısının hemen aspirasyonunun hastalardaki semptomların hızla kaybolmasına, genel durumun iyileşmesine ve üriner çıkışı artmasına neden olduğunu göstermişlerdir (97). Asit sıvısının 900 ml. gibi az bir miktarının drenajı ile semptomlarda belirgin düzelme ortaya çıkmaktadır. Büyük volümlerde asit sıvısı aspire edilse dahi hemodinamik yan etkiler görülmemiştir. Plazma proteinlerinin replasmanı ise asit sıvısındaki proteinlerin yüksekliği nedeniyle şarttır. Özellikle hastaların %30' unda yapılan ikinci aspirasyonda bu gerekli görülmüştür. Asit sıvısının birikim hızı oldukça değişken hızlarda iken ortalama olarak rahatsızlığa sebep olabilecek kadar büyük miktar asit sıvısı birikimi 3-5 günde olmaktadır. Aboulghar, ciddi OHSS' li 3 vakada asit sıvısının transvajinal aspirasyonu ve oto transfüzyonla tedaviye gitmiştir (98). Bu yöntemle semptomların belirgin düzelişi ve üriner çıkışın artması ilk düzelen bulgulardır. Ototransfüzyon sırasında ve sonrasında hiç reaksiyon görülmemiştir. Bu yöntem basit, güvenli ve heterojen biyolojik materyal kullanmadan çarpıcı fizyolojik başarı ile sıvı ve proteinlerin yanlış dağılımını düzeltebilen bir yöntemdir. Ancak asitin ototransfüzyonuna, dolaşıma sitokinlerin reenjeksiyonuna neden olabildiğinden dolayı, bazı araştırmacılar tavsiye etmemektedirler (52).

Aboulghar, ciddi OHSS tedavisinde I.V. sıvı tedavisinin ve asit sıvısı aspirasyonunun miktarını belirlemiştir. Ciddi OHSS' li 42 kadın, asit sıvısının USG eşliğinde transvajinal aspirasyonu ve intra venöz sıvı infüzyonuyla tedavi edilmiştir. Aynı koşullardaki konservatif olarak tedavi edilmiş 10 hasta da kontrol grubunu oluşturulmuştur. Çalışmanın birincil sonlanım değerleri; hemotokritteki yüzde değişimi, kreatin klirensini ve idrar çıkışının aspirasyondan önceki ve sonraki değerlerini içermiştir. Hastanede kalış süreleri iki grup arasında karşılaştırılmıştır. Hematokrit değeri %22 düşme, kreatinin klirensi %79,3 artma ve idrar çıkışında %220,7 artış izlenmiştir. Ortalama aspirasyon sıvısı 3900 ml. olarak bulunmuştur. Tedavi edilen hastaların ortalama hastanede kalış süreleri 3,8 gün olarak belirtilmiştir. Kontrol grubunda ciddi semptom ve elektrolit imbalansının devam etmesi ortalama 9 gün, ortalama hastanede kalış süresi 11 gün olarak bulunmuştur.

Ciddi OHSS' li hastalarda hassas İ.V. sıvı tedavisi ve asit sıvısının T.V. USG ile aspirasyonu semptomların geçmesi için güvenli, etkili, komplikasyonu önleyen ve hastanede kalış süresini kısaltan bir yöntemdir. USG drenaj sırasında over yaralanmasını kolaylıkla önler. Bu yöntemi uygulamak için anesteziye gerek yoktur. Douglaston asit sıvısının drenajı daha iyi sağlanmaktadır (99).

2.3.4.4. Cerrahi Tedavi

Laparoskopi

Hurwitz, OHSS' li hastada over torsiyonunu ilk kez bildirmiştir. Bu vakada gebelik terme kadar devam etmiş ve sonuçta normal ikiz doğum olmuştur (100). Mashiach, over torsiyon gelişmiş hiperstimüle 12 gebe kadını bildirmiştir. Adnekslerdeki hemoraji ve iskeminin torsiyonu detorsiyone etmekle düzelebileceğini belirtmiştir (101).

Laparotomi

Rizk, OHSS' de laparotomiden kaçınmıştır (102). Eğer çok gerekliyse uzman jinekolog tarafından ve hemostatik ölçümler altında yapılmasını belirtmiştir. Bider, over torsiyonu, rüptüre kist ve ovarian kistin içine kanaması yüzünden opere olan ciddi OHSS' li 16 hastanın operasyon prosedürünü anlatmıştır (92). Aboulghar ektopik gebelikle komplike ciddi OHSS' li hastaların cerrahi tedavisini yapmıştır. Ektopik gebeliğin tedavisi bu gibi vakalarda çok zor bir durum olarak görülmektedir. Ciddi OHSS gelişen hastalarda iç kanama ortaya çıkmakta ve kaybedilen kan miktarı genel durumu yansıtmak için yeterli olmayabilmektedir. Büyük overlerin varlığı pelvisi doldurmakta ve diğer yapıların USG' de görülmesini zorlaştırmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmanın Tipi

Deneysel müdahale; deneysel çalışma protokolü Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Kurulu tarafından, etik ve bilimsel yönden onaylandıktan sonra, National Institute of Health “Guide for the care and Use of Laboratory Animals” kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi. Çalışmaya Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından G.Ü.E.T.-11.072 referans nosu ile araştırma onayı verilmiştir. Deneyde kullanılan ratlar, Gazi Üniversitesi Araştırma Merkezi’ ne bağlı hayvan laboratuvarından temin edildi

Deney Dizaynı

Çalışmada 24 adet 15 günlük dişi Wistar-Albino ratları alınarak laboratuvarında 7 gün tutulup, 22 günlük ve ağırlıkları 30-50 gram arasına ulaşınca kadar ratlar standart dietle beslenip, sınırsız su verildi ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık programı uygulandı. Çalışma 24 adet ratla tamamlanmış olup, her grupta 6 rat olacak şekilde, 4 grupta çalışılmıştır.

Grup 1: 22-26 günler arası 0.1 cc salin (intraperitoneal)

Grup 2: 24. Gün 10 IU gebe kısrak serum gonadotropini (PMSG) + 26. Gün 10 IU human koryonic gonadotropin (hCG)

Grup 3: 22-26 günler arası 10 IU PMSG + 26. gün 30 IU hCG

Grup 4: 22-26 günler arası 10 IU PMSG + 26. gün 30 IU hCG + 60 mg/kg Resveratrol (81) (Her PMSG ve hCG’ den 2 saat önce)

Aneztezi

Bütün hayvanların anestezisi 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar; Eczacıbaşı Warner-Lambert ilaç sanayi, Levent- İstanbul) ve 7 mg/kg xylazine hidroklorit’ in (Rompun-Bayer Sisli- İstanbul) aseptik şartlarda intraperitoneal verilmesi ile sağlandı.

Kontrol grubu (Grup 1) ratlara 22-26. Günler arası 5 gün 0.1 cc salin intraperitoneal uygulandı.

Deney grubu ratlarda OHSS’ nin major belirtilerinin ortaya çıkması için, grup 3 ve 4’ deki ratlara 4 gün boyunca, grup 2’ deki ratlara sadece 24.gün PMSG (Folligon®-İntervet) 10 I.U. subkutanöz (s.c.) olarak verildi. 26 günlük olan hayvanlardan grup 2’ dekiler (hafif OHSS grubu) 10 I.U. hCG (Chorulon®-İntervet), ciddi OHSS grubundakiler de (Grup 3-4) ise 30 I.U. hCG ile ovulasyon indüklendi. Tüm 22 günlük hayvanların çalışmaya başlamadan önceki ağırlıkları ölçülüp kaydedildi. Tedavi grubu ratlardan grup 4’ e 60 mg/kg Resveratrol (Resveratrol (Polygonum cuspidatum)®- Solgar vitamin and herb) oral gavaj yöntemi ile, her PMSG ve hCG’ den 2 saat önce uygulandı hipotermiden korumak için işlemler 22-26 derece oda sıcaklığında yapıldı. Tüm ratlar hCG uygulamasından 4 saat sonra tekrar tartılarak 50 mg/kg ketamin intraperitoneal uygulandı. Ardından laparotomi işlemi yapıldı. Peritoneal kavite 2 ml % 0.9 NaCl

solusyonu (21 derece) ile doldurularak 30 saniye çalkalanıp doku ve damar hasarı oluşturmada periton yıkama sıvısı dikkatlice geri alındı. Ratların overleri bilateral çıkartıldı. Sonrasında hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak hayvanlara ötanazi uygulandı. En son olarak bilateral overleri hassas tartıda tartıldı.

Histopatolojik İnceleme

Her ratın overleri ayrı ayrı formaldehit içeren kaplara alındı. VEGF ekspresyonunu değerlendirmek için overler immunohistokimyasal boyama yapılarak değerlendirildi. Dokular % 10 tamponlu formalinde tesbit edilip, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin ile bloklandı. Parafinli bloklardan mikrotom ile 4-5µm lik kesitler alınıp deparafinize edildi. Hemotoksilen-Eozin boyası ile boyanarak değerlendirildi.

VEGF (clone: VG-1 mouse, Neomarkers) ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biyotin üçlü indirekt immunperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapıldı.

Biyotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor olarak, ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklinde, streptavidin-biyotin kompleksi ve kromojen olarak kullanılan 3-amino-9 Ethylcarbazole (AEC) kullanıldı. Pozitif kontrol olarak plasenta kullanıldı. Negatif kontrol olarak primer antikorlar yerine PBS damlatılarak aynı işlem yapıldı.

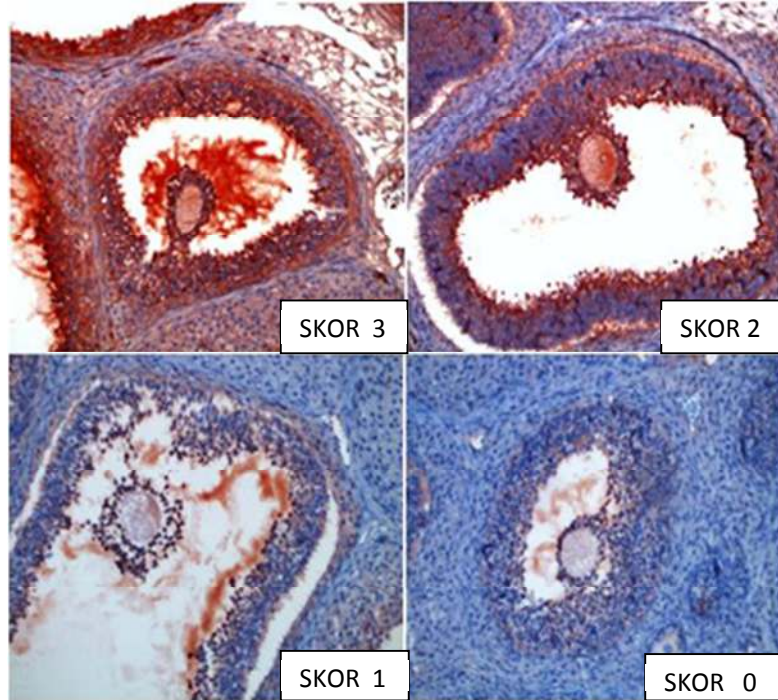
Strept Avidin-Biotin Boyama Yöntemi:

Parafine gömülü dokulardan 4-5 µ kalınlığında kesitler polilizinli lam üzerine alınıp 56 santigratlık etüvde 12 saat bekletilerek deparafinize edildi. Kesitler 30 dakika ksilende bekletilip berraklaştırıldı. Her birinde beş dakika bekletilmek üzere; sırasıyla %100,% 95 ve % 90' lık alkollerden geçirilerek dokuların hidrasyonu sağlandı. Alkollerden arındırmak için pH 7,2-7,4 PBS' le (0,01 M Phosphate Buffer Saline) üç kez çalkalandı. 4- 5- Lamlar mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 9.0 Tris-EDTA buffer solüsyonu içerisine sıralanarak mikrodalga fırında, yüksek derecede inkübe edildi. Daha sonra oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitlere %3' lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 10 dakika bekletildi. Kesitlerin etrafı dikkatlice kurulandı ve kesitin üzerini kaplayacak şekilde primer antikor 1/50 konsantrasyonda damlatılarak bekletildi. PBS' de 3-5 dakika yıkandı. Kesit çevresi silindikten sonra Sekonder (bağlayıcı) antikor (Multi-species ultra streptavidin detection system-HRP; Signet, Massachusetts, USA) damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS' de 3-5 dakika yıkandı. Kesit çevresi silindikten sonra Streptavidin-biyotin damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS' de 3-5 dakika yıkandı. Kesit çevresi silindi. AEC (3-amino 9-ethycarbazole) kromojen damlatıldı. 5-20 dakika sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular distile suya alındı. Mayer Hematoksilen' de 1-3 dakika zemin boyaması yapıldı ve musluk suyunda 3-5 dakika yıkandı. Dehidratasyon için kesitler sırasıyla %90, %95 ve %100' lük alkollerde 5' er dakika tutuldu. Ksilolde şeffaflaştırıldı. Doku kesitleri

Entellan (DAKO Cytomation Faramount Aqueous Mounting Medium) ile kapatıldı. Daha sonrasında hazırlanan preparatlar VEGF ekspresyonu, lokalizasyonu, antral, atretik folikül ve corpus luteum sayıları yönünden mikroskopik olarak değerlendirildi. Boyanma şiddetine göre histopatolojik skora yapıldı.

Tablo 3. Histopatolojik skora

Skor 3	Şiddetli Boyanma
Skor 2	Orta dereceli boyanma
Skor 1	Hafif boyanma
Skor 0	Boyanma yok



Resim 1. Histopatolojik Skora (3,2,1,0)

Sitokin Ölçümleri

Peritoneal sıvı ve serumda VEGF ve IL-6 ölçümleri kantitatif olarak “Enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) kiti (VEGF ve IL-6 için RayBiotech, Inc., Norcross, Georgia, USA) kullanılarak gerçekleştirildi IL-6 için, intra-assay değişkenlik (CV) % 10 inter-assay değişkenlik % 12; VEGF için, intra-assay değişkenlik (CV) % 10 inter-assay değişkenlik % 12 olarak bildirilmiştir. Konsantrasyonlar pg/ml olarak verildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS for windows 16.0 programı ile yapıldı.

Normal dağılımlı (Shapiro-Wilk testi ile belirlendi) parametrik değişkenler ANOVA (varyans analiz) testi ile, post hoc analizi ise LSD testi kullanılarak yapıldı. Non normal dağılım gösteren değişkenler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi testleri kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Tüm veriler ortalama $\pm$ SD ($\pm$ Standart Deviasyon) şeklinde bildirildi.

4. BULGULAR

Ratların ilk vücut ağırlıkları ile karşılaştırmak üzere deney sonu hayvanlar tekrar tartılmıştır. Çalışma sonu periton sıvı örneklerinden çalışılan VEGF ve IL-6 düzeyleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda over dokuları hemotoksilen-eozin boyama ve VEGF ekspresyonunu gösteren immunhistokimyasal sonuçlara göre değerlendirilmiş, gruplar bu sonuçlara göre de değerlendirilmiştir.

Tüm grupların genel karakteristikleri Tablo 4' de gösterilmiştir.

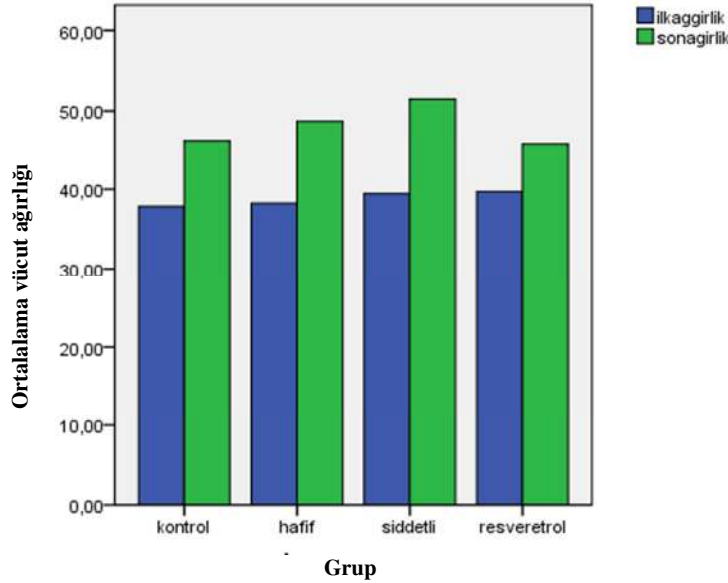
Tablo 4. Çalışma sonucu elde edilen tüm veriler

Değişkenler	Grup 1 (kontrol grubu)	Grup 2 (hafif OHSS grubu)	Grup 3 (şiddetli OHSS grubu)	Grup 4 (resveratrol grubu)	p Değeri
Deney sonu vücut ağırlıkları (gram)	46.01±1.17	48.71±1.81	51.48±2.75	45.61±0.78	p<0.05
Over ağırlıkları(gram)	0.06 ±0.01	0.12 ±0.01	0.31 ±0.01	0.25 ±0.01	p<0.01
Periton sıvısı VEGF düzeyleri(pg/ml)	5.18±0.54	50.58±4.69	58.15 ±6.84	32.80 ±3.83	p<0.01
Periton sıvısı IL-6 düzeyleri(pg/ml)	261.04 ±79.38	5326.50 ±2143.66	5509.63 ±2058.34	1499.39 ± 561.18	p<0.05
Antral folikül sayısı	2.33 ±0.98	4.67 ±0.42	3.33 ±0.21	6.17 ±0.70	p<0.05
Korpus luteum Sayıları	0.83±0.54	0.83±0.47	21.83±3.00	14.33±8.38	p<0.05
Atretik folikül sayıları	0.83±0.30	2.33±0.66	2.33±0.42	7.16±0.98	p<0.05
Granüloza hücreleri VEGF histolojik skor	2.00 ±0.63	2.83 ±0.16	2.50 ±0.22	1.67 ±0.21	p<0.03
Teka hücreleri VEGF histolojik skor	0.67 ±0.21	1.00 ±0.00	1.50 ±0.22	0	p<0.03
Stroma hücreleri VEGF histolojik skor	0.67 ±0.21	1.00 ±0.36	1.83 ±0.30	1.00 ±0.00	p<0.02
Toplam VEGF histolojik skor	3.33 ±1.05	4.83 ±0.47	5.83 ±0.70	2.66 ±0.21	p<0.03

Not: İstatistiksel olarak anlamlı değerler koyu gösterilmiştir.

Deney sonu ortalama vücut ağırlıkları farkı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Şiddetli OHSS oluşturulan grup 3' ün vücut ağırlıkları şiddetli OHSS' ye resveratrol verdiğimiz Grup 4' ten ($p=0.03$) ve kontrol grubundan ($p=0.04$) istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır.

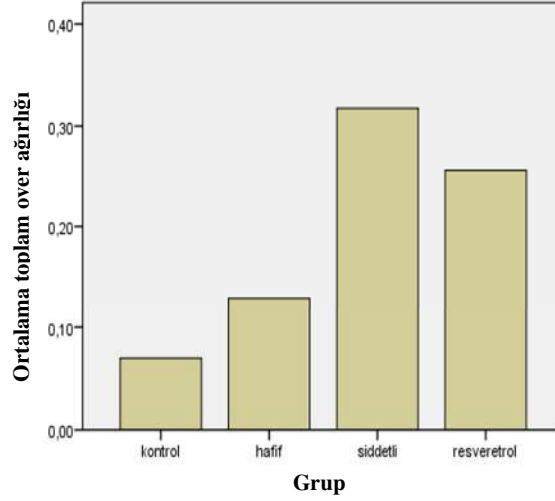
Vücut ilk ve son ağırlıklarındaki değişim ve gruplar arasındaki farklılık Tablo 4 ve Şekil 4' te gösterilmiştir.



Şekil 4. Ratların vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

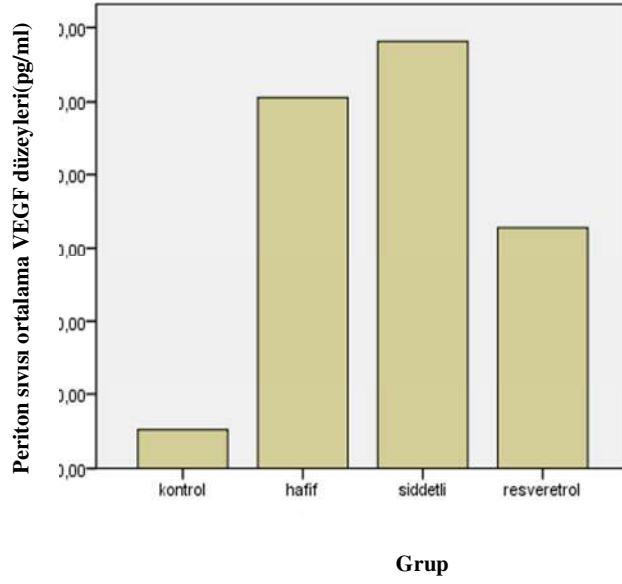
Ortalama over ağırlıkları bakımından tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır. Grup 2 ($p<0.01$), grup 3 ve grup 4 (her iki karşılaştırma için $p<0.001$) over ağırlıkları grup 1' e göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Grup 3 ve grup 4 ortalama over ağırlığı grup 2' den anlamlı olarak ($p<0.001$) daha yüksek

izlenmiştir. Grup 4 ortalama over ağırlığı grup 3' ten anlamlı daha düşük tespit edilmiştir ($p<0.009$) (Tablo 4, Şekil 5).



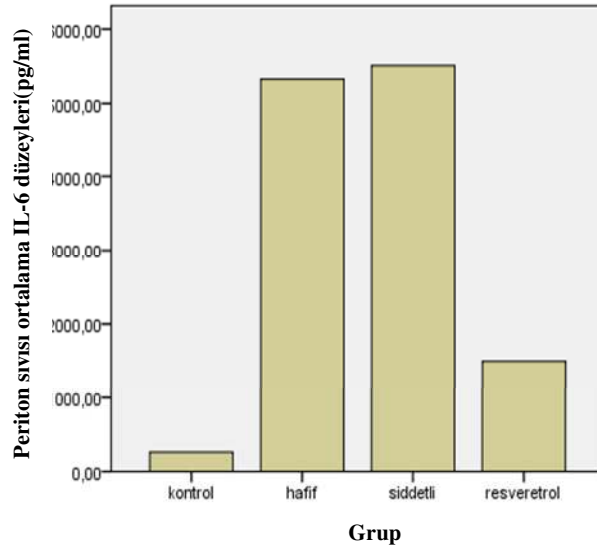
Şekil 5. Ratların toplam over ağırlıklarının karşılaştırılması

Periton sıvısı VEGF düzeyleri gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklı bulundu ($p<0.05$). Post-hoc testler ile değerlendirildiğinde grup 2, 3 ve 4 VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre artmış saptandı (her 3 grup için $p= 0.001$). Grup 3 VEGF düzeyleri grup 2' den yüksek olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup 4 VEGF düzeyleri Grup 2 ve grup 3' e göre anlamlı düşük bulundu (her iki karşılaştırma için $p= 0.01$) (Tablo 4, Şekil 6).



Şekil 6. Periton sıvısı VEGF düzeylerinin karşılaştırılması

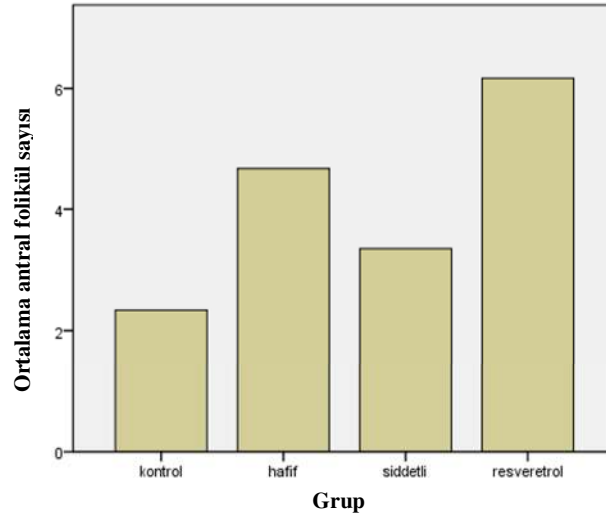
Ortalama periton sıvısı IL-6 seviyeleri değerlendirildiğinde; grup 2 ve grup 3 değerleri IL-6 seviyeleri, grup 1' e göre anlamlı yüksek saptandı ($p=0.02$). Resveratrol grubu (Grup 4) IL-6 seviyeleri, grup 2' den ($p= 0.08$) belirgin olarak daha düşük, grup 3' den ($p= 0.07$) belirgin daha düşük olarak tespit edilmiş fakat istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir (Tablo 4, Şekil 7).



Şekil 7. Periton sıvısı IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması

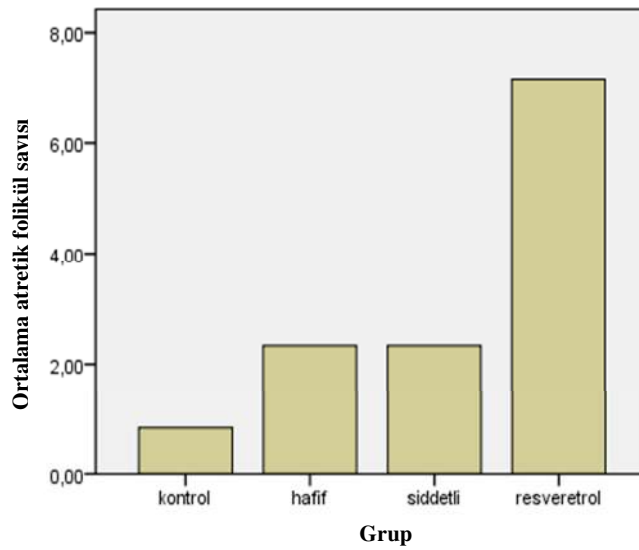
Ratlardan çıkarılan overlerin antral ve atretik foliküller ile korpus luteumları sayılmış, VEGF incelemesi için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu; granüloza, teka ve stroma hücreleri için ayrı ayrı skorlanmıştır. Gruplara göre folikül sayıları ve VEGF immünohistokimyasal boyama skorlarının ayrıntıları aşağıda belirtilmiştir (Tablo 4).

Ortalama antral folikül sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında; Grup 2, grup 1' e göre anlamlı yüksektir ($p= 0.02$). Grup 4 antral folikül sayıları grup 1' den ($p= 0.001$) ve grup 3' den ($p=0.006$) yüksektir ve istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 4, Şekil 8).



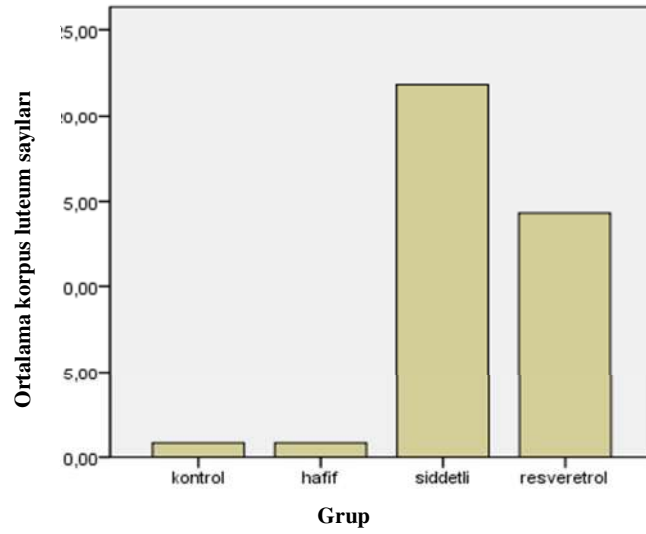
Şekil 8. Gruplara göre antral folikül sayısı

Ortalama atretik folikül sayılarına göre; grup 2 ve grup 3' de eşit değer gözlenmiştir. Bu değer grup 1' e göre daha yüksek ($p=0.035$), grup 4' e göre daha düşüktür ($p=0.001$) ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Grup 4, grup 1' e göre anlamlı daha yüksektir ($p=0.001$) (Tablo 4, Şekil 9).



Şekil 9. Gruplara göre atretik folikül sayıları

Gruplar ortalama korpus luteum sayılarına göre değerlendirildiğinde; grup 1 ve grup 2' de eşit değer gözlenmiştir. Grup 3, grup 1 ve grup 2' den istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p=0.001$). Grup 4, grup 3' ten anlamlı daha düşüktür ($p=0.035$) (Tablo 4, Şekil 10).



Şekil 10. Gruplara göre korpus luteum sayıları

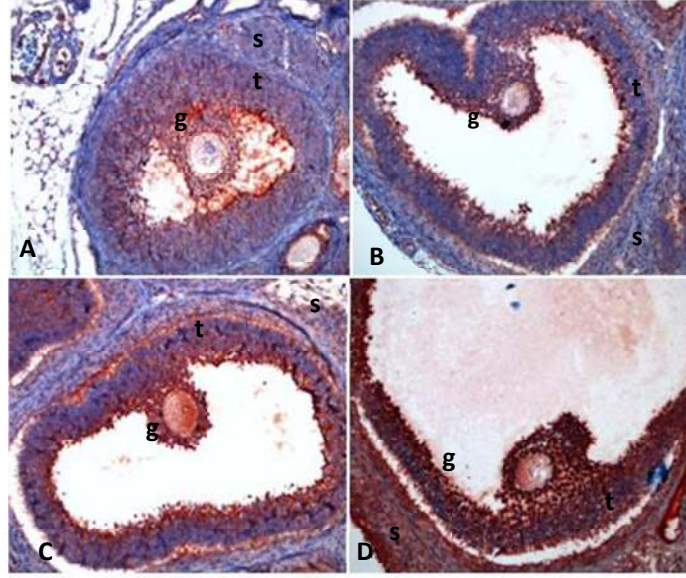
Granüloza hücreleri ortalama VEGF immünohistokimya boyanma skorlarına göre, hafif grup VEGF skoru Grup 4' den anlamlı düşük ($p=0.006$), grup 3 VEGF skoru ise Grup 4' den anlamlı yüksek ($p=0.03$) izlenmiştir (Tablo 4).

Teka hücreleri VEGF skorları gruplar arasında karşılaştırıldığında, en fazla skor şiddetli grupta izlenmekle birlikte; kontrol grup ($p=0.03$) ve resveratrol gruptan ($p=0.002$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. Resveratrol grup (grup

4), kontrol ($p=0.01$) ve hafif gruptan ($p=0.001$) istatistiksel olarak anlamlı olarak az tespit edilmiştir (Tablo 4).

Gruplar stroma VEGF skorlarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek skor şiddetli grup' ta izlenmiş olmakla birlikte kontrol grubu ($p=0.01$) ve resveratrol grubundan ($p=0.02$) istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlenmiştir (Tablo 4).

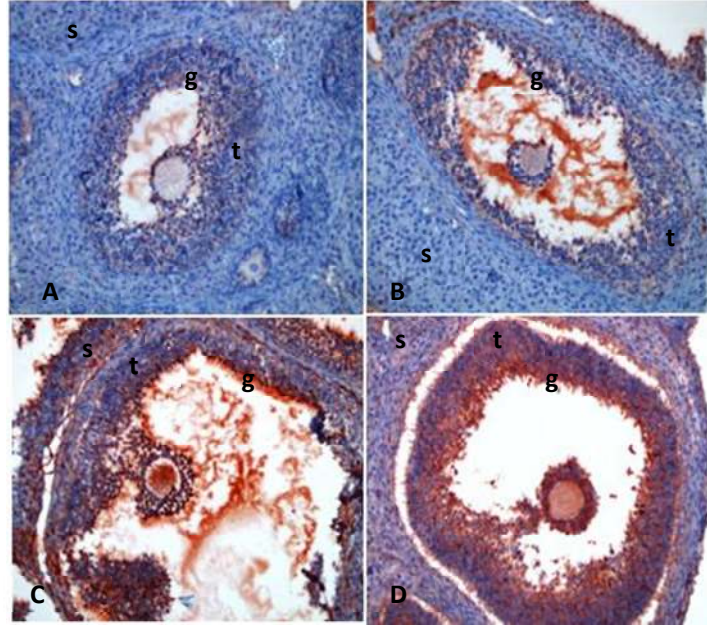
Kontrol grup (grup 1) granüloza hücreleri orta dereceli boyanma özellikleri gösterirken, teka ve stroma hücrelerinde boyanma zayıftır (Resim 2). Hafif grup granüloza hücrelerinde şiddetli boyanma izlenmiş olup granüler bir karakter kazanmaya başlamıştır. Teka hücreleri daha belirgindir (Resim 2). Şiddetli grup granüloza hücreleri hafif grup gibi şiddetli boyanma göstermiş olup granüler boyanma ön plandadır. Teka ve stroma hücrelerinde boyanma artmıştır (Resim 2).



g: Granüloza hücreleri, t: Teka hücreleri, s: Stroma hücreleri

Resim 2. A: Grup 1 (Kontrol), B, C: Grup 2 (Hafif), D: Grup 3 (Şiddetli)

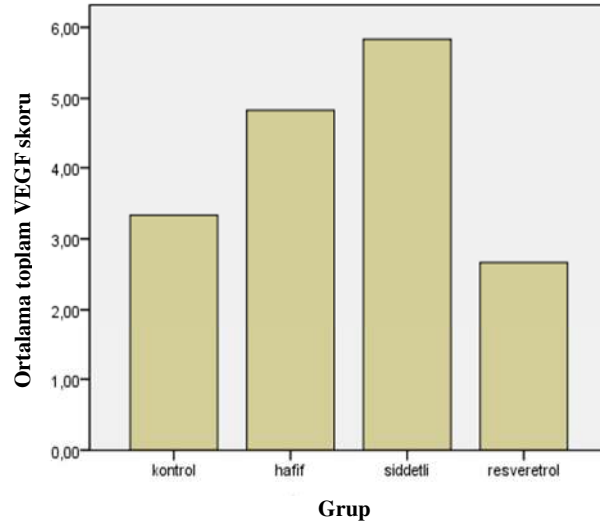
Resveratrol grubu granüloza hücrelerinde hafif boyanma izlenmiş olup teka hücrelerinde boyanma izlenmemiştir. Stromal hücrelerde hafif şiddette boyanma tespit edilmiştir. (Resim 3). Resveratrol grubu total VEGF skoru hafif ve şiddetli gruptan daha düşük gözlenmiştir (Resim 3).



g: Granüloza hücreleri, t: Teka hücreleri, s: Stroma hücreleri

Resim 3. A, B: Grup 4 (Resveratrol), C: Grup 3 (Şiddetli), D: Grup 2 (Hafif)

Toplam skorda şiddetli grup en yüksek skorlu grup olarak değerlendirilmiştir. Resveratrol grubu' nun VEGF skoru hafif ($p=0.008$) ve şiddetli ($p=0.003$) gruptan istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük değerlendirilmiştir (Tablo 4, Şekil 11).



Şekil 11. Toplam VEGF skoruna göre grupların karşılaştırılması

5. TARTIşMA

Çalışmamızda OHSS oluşturulan ratlarda resveratrolün, ratların vücut ağırlıkları, over ağırlıkları, periton sıvısında VEGF, IL-6 seviyeleri, antral, atretik folikül sayıları, corpus luteum sayıları ve overlerde immünhistokimyasal olarak, VEGF ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırdık. Daha önce resveratrolün OHSS üzerine etkileri araştırılmamıştır. Bu nedenle çalışmamız bu alanda ildir.

Deney sonunda; şiddetli gruptaki ratların vücut ağırlıklarının ve over ağırlıklarının, diğeri grup hayvanlara göre daha yüksek; OHSS oluşturulmuş ve resveratrol verilmiş grubun vücut ağırlıklarının ve over ağırlıklarının ise kontrol ve hafif OHSS gruplarından daha yüksek fakat şiddetli gruptan daha düşük değerlerde kaldığı izlenmiştir. Bu bulgular şiddetli ohss grubunun over ağırlıklarının ve hafif ve kontrol gruba göre artmış olduğunun gözlendiğı benzer rat modeli çalışmalara benzerlik göstermektedir (59-114).

Periton sıvı örneklerinden çalışılan VEGF düzeyleri en yüksek olarak şiddetli OHSS grubunda gözlenmekle birlikte, şiddetli OHSS oluşturulan resveratrol grubunda kontrol ve hafif ohss grubuna göre yüksek, şiddetli gruptan daha düşük olarak tespit edilmiştir. Periton sıvısı VEGF düzeylerinin insan ve rat çalışmalarında, OHSS şiddetinin artmasıyla artış gösterdiği görölmektedir (4-5).

Aynı zamanda granüloza hücreleri boyanma özellikleri itibariyle hafif grup VEGF skorları, şiddetli gruptan daha yüksek tespit edilmiştir. Literatürdeki benzer çalışmalarla bu bulgu uyuşmamaktadır (29,4). Fakat resveratrol grup skoru,

şiddetli gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşüktür. Teka, stroma hücreleri ve toplam skorda resveratrol grubu VEGF skorları şiddetli OHSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı az bulunmuştur.

Vücut ağırlıklarının ve over ağırlıklarının artışı şiddetli OHSS nedeniyle oluşan sıvı akümülyasyonunun ve ovaryen büyümenin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Aynı zamanda resveratrolün bu bulgulara dayanarak OHSS oluşumunda engelleyici bir etkisi olabileceği düşünülebilir. Bu etkileri VEGF ekspresyonunu ve anjiogenezi engelleyen etkileriyle gerçekleştiriyor olabilir (80-83).

OHSS’ de vasküler permeabilityi arttıran ana faktör olarak kabul edilen VEGF’ ün en önemli stimülatörü hipoksidir (103). Hipoksi durumunda hipoksinin indüklediği oksijen homeostazını ve neovaskülarizasyonu sağlayan bazı faktörler açığa çıkar ki, bunlardan en önemlisi VEGF’ dür. Resveratrolün çeşitli mekanizmalarla (protein translasyon düzenleyicilerin inhibisyonu, proteozomal yıkımın artırılması, mitojenaktifleştirilmiş protein kinaz inhibisyonu gibi). VEGF gibi hipoksi durumunda ortaya çıkan oksijen homeostazını ayarlayan ve neovaskülarizasyonda görev alan faktörlerin ekspresyonunu azaltarak anjiogenezi inhibe ettiği literatürde gösterilmiştir (104). Yapılan çalışmalarda resveratrolün insan dil skuamoz hücre kanserinde ve ratlarda gliomalarda VEGF ekspresyonunu önemli derecede azaltarak (81-105), endotelial hücre mikrotubul destabilizasyonu ve VEGF’ yi inhibe ederek anjiogenezi süprese ettiği (106), yine insan umbilikal veninde matriks metalloproteinaz inhibisyonu, kapiller tubul

formasyonunu önleyici ve endotelial hücre proliferasyon ve mobilizasyonunu engelleyici etkileriyle anjiogenezisi engellediği gösterilmiştir (107).

Daha önce OHSS oluşturulmuş rat modelinde IL-6 seviyeleri çalışılmamıştır. Fakat insanlarda OHSS ile IL-6 düzeylerinde artış gözlenmiştir. Şiddetli OHSS oluşturduğumuz grubun IL-6 seviyeleri daha önceki çalışmalara uygun şekilde kontrol grubuna göre artış göstermiştir (108-110). Resveratrol grubu IL-6 seviyelerinde ise şiddetli OHSS gruba göre istatistiksel fark tespit edilmemekle birlikte belirgin düşüş izledik.

İnterlökin-6 temel olarak monositler, endotelial hücreler, T hücreler ve fibroblastlar tarafından üretilen bir akut faz reaktandır. Hiperstimüle fare overlerinde yapılan bir çalışmada gelişmekte olan foliküller çevresindeki kapiller ağda IL-6 mRNA ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (108).

OHSS tanılı hastaların asit sıvısı ve serum örneklerinde IL-6' nın artmış olduğu gözlenmiştir. Literatürde IL-6' nın OHSS' nin bir belirteci olabileceğini öneren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (108-110).

Resveratrolün Kalsiyum İyonofor A23187 ve fMLP (N-formyl-methionine-leucine-phenylalanine) ile uyarılan fare peritoneal makrofajlarındaki IL-6 salınımı üzerine etkileri incelenmiş ve resveratrolün IL-6 üzerine inhibitör etkileri gözlenmiştir. Bu etkinin Resveratrolün hücre içine kalsiyum akışını engelleyerek IL-6 biyosentezini engellemiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (111). Hipoksi ve hipoglisemi ardından reoksijenizasyon oluşturulan glial

hücrelerde resveratrolün IL-6 gen ekspresyonunu azaltıcı etkisi belirlenmiş ve iskeminin indüklediği inflamatuvar durumlarda resveratrolün etkili olabileceği üzerinde durulmuştur (112).

Çalışmamızda, resveratrol grubu IL-6 seviyeleri, şiddetli gruba oranla düşme eğilimindedir. Bu durum resveratrolün OHSS patogenezi IL-6 ekspresyonunu muhtemel yollarla engelleyerek gerilettiğini ve IL-6'nın bir OHSS belirteci olabileceğini düşündürmektedir.

Atretik foliküller ve korpus luteum sayıları karşılaştırıldığında, resveratrol etkisindeki overlerin atretik foliküllerinin şiddetli grup ve hafif gruba göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda korpus luteum sayıları da istatistiksel anlamlı olarak düşük sayıda tespit edilmiştir. OHSS oluşturulmuş rat modeli bir çalışmada GnRH-a'nin etkileri luteal apoptozis ve corpus luteum gelişimleri incelenerek irdelenmiştir (113). GnRH-a verilen OHSS grubun atretik folikül sayıları belirgin şekilde artmış ve corpus luteum düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşmüştür. Bizde resveratrol etkisiyle benzer sonuçlara ulaştık. Aynı çalışmada; anjiogenezisde önemli bir role sahip Anjiopoitein reseptörlerinin (ANGPT-1 ve ANGPT-2) ekspresyonun GnRH-a grubunda azalmış olduğu gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada, antianjiogenetik özellikleri daha önce gösterilmiş thrombospondin (TSP)-1'in foliküler atreziyi tetiklediği ve anjiogenezisi gerilettiği in-vivo tespit edilmiştir (114). Bu bulgular ışığında folikülogenezisi duraksatan, gerileten mekanizma anjiogenezisin engellenmesi olabilir. Resveratrol daha önce de bahsedildiği üzere muhtemel anti-anjiogenik

etkileriyle corpus luteum oluşumunu azaltıp, foliküler atreziyi tetikleyebilmektedir.

Resveratrol grubu antral folikül sayıları gruplar arasında en yüksek olarak izlenmiş olup bu durum şiddetli grup ve kontrol grup ile istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

IVF' e giden hastaların hCG ile in-vitro stimüle edilenlerinde ovum toplanması sırasında toplanan granuloza-lutein hücrelerinde VEGF-mRNA ekspresyonu saptanmıştır (115,116). İnsan granuloza-lutein hücreleri ayrıca VEGF reseptörü de üretir (29).

Literatürde hafif ve ciddi OHSS grupları oluşturulmuş rat modelinde VEGF ekspresyonunun ve VEGFR-2 ekspresyonunun granuloza hücrelerinde arttığı ve bunlara bağlı olarak vasküler geçirgenliğin de arttığını belirtmişlerdir (4). Wang ve arkadaşları, 58' i OHSS' li 43' ü kontrol hastası olan toplam 101 IVF hastasında yaptıkları çalışmada, VEGF ekspresyonunu mRNA düzeyinde değerlendirmişler ve OHSS olan hastaların granuloza hücrelerinde VEGF ekspresyonunun arttığını belirtmişlerdir (29).

OHSS patogenezi, başta granuloza hücrelerinden olmak üzere, VEGF artışı ile karakterizedir ve bu artış dolayısıyla antral folikül sayısı ile doğru orantılı olacaktır. Çalışmamızda resveratrolün folikülogenezi duraksattığını düşündüren etkileri tespit edilmiştir. Özellikle preantral ve antral folliküllerin dominant follikül safhasına geçmeleri resveratrol etkisiyle önlenmiştir.

Daha önce OHSS üzerinde resveratrol etkileri çalışılmamıştır, Bu yüzden literatür incelemesinde çalışmamızın bu konuda yapılmış ilk çalışma olduğunu görmekteyiz. Çalışmamızın sonucunda, resveratrolün OHSS' nun oluşumunu önleyebileceği veya varolan hastalığın ilerlemesine engel olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullandığımız resveratrol dozunun OHSS tedavisinde etkili olduğu görülmesine rağmen, ileride tedavide veya OHSS' i önlemede kullanılacak uygun resveratrol dozunu belirlemek için doza dayalı çalışmaların (deneysel veya klinik) planlanması uygun olacaktır.

6. SONUÇ

1. Sıklıkla gonadotropinlerle tedavinin bir komplikasyonu olan OHSS' nin etyopatogenezinde anjiogenezis ve inflamatuvar yanıt önemli rol oynamaktadır.

2. OHSS' de peritoneal sıvıda anjiogeneziste görev alan en önemli sitokin olan VEGF ile anjiogeneziste etkin olduğu gibi inflamatuvar yanıtta da rol oynayan IL-6 düzeyleri artış göstermektedir.

3. VEGF gibi anjiogeneziste görev alan ve IL-6 gibi inflamatuvar yanıtta rol oynayan sitokinlerin OHSS oluşumunda önemli rol oynamasından dolayı, bu sitokinlerin inhibisyonu OHSS tedavisinde yararlı olabilir.

4. Resveratrol, VEGF ve kısmen IL-6' yı inhibe edip, antianjiogenik ve antiinflamatuvar etki göstererek aynı zamanda foliküler atreziyi hızlandırıp folikülogenezde regresyon yaparak OHSS' nin gerilemesine neden olabilir.

7. ÖZET

OVARYEN HİPERSTİMÜLASYON SENDROMU OLUŞTURULMUŞ RAT MODELİNDE RESVERATROLÜN ETKİLERİ

Ovarian hiperstimulasyon sendromu (OHSS) infertil kadınlarda gonadotropinlerle foliküler gelişimi sağlamak amaçlı ovaryen stimülasyon sırasında ortaya çıkan hayatı tehdit eden komplikasyonları olan bir sendromdur. Vasküler geçirgenlikte artışa bağlı asit ve plevral effüzyon ile karakterize kliniği olan bu sendromda birincil şüpheli faktör vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)' dür. OHSS patogenezinde başka faktörlerinde rol oynadığı düşünülmektedir.

OHSS' nin oluşumundan çeşitli mekanizmalar sorumlu tutulmakla birlikte, OHSS' nin oluşumu ve devamında inflamatuvar yanıtın ve anjiogenezinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızın amacı, antiinflamatuvar ve anjiogenezi inhibe edici etki gösteren resveratrolün rat OHSS modelinde etkilerini araştırmaktır.

OHSS' de deney modeli olarak immatür wistar dişi rat kullandık. Toplam 24 rat çalışmaya alındı ve 4 gruba ayrıldı. 6 tanesi kontrol grubu olarak ayrıldı, 6 tanesinde hafif OHSS ve 12 tanesi de iki eşit gruba bölünerek bunlarda da ciddi OHSS oluşturuldu. Gonadotropinlerle ovarian stimulasyon yapılarak hafif ve ciddi OHSS oluşturulan ratlardan, ciddi OHSS gelişen gruplardan birine tedavi olarak 60 mg/kg resveratrol verildi. Gruplar, vücut ağırlıkları, over ağırlıkları,

periton sıvısında VEGF ve IL-6 düzeyleri, VEGF ekspresyonu, antral, atretik folikül ve korpus luteum sayıları over yönünden karşılaştırıldı.

Grup 4 periton sıvısı VEGF ortalama değerleri, ortalama histopatolojik skorları ve ortalama corpus luteum sayıları, grup 3 (şiddetli ohss grup) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak düşük bulunmuştur. Atretik folikül sayısı grup 3 ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Grup 4 Periton sıvısı IL6 değerleri grup 3 ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlama ulaşmasada düşme trendinde bulunmuştur.

Resveratrol, anti-inflamatuar etki göstererek ve anjiogenezi olumsuz yönde etkileyerek VEGF ekspresyonu azaltmıştır.

Anahtar kelimeler: Resveratrol, Anjiogenezi, OHSS, VEGF, IL-6, Rat

8. SUMMARY

THE EFFECTS OF RESVERATROL ON AN OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME MODEL IN RATS

Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) is a life-threatening complication that may result from intended follicular development, thus ovarian stimulation with gonadotropins during infertility treatment. The syndrome comprises an array of symptoms and findings. One of which is a clinical setting involving ascites and pleural effusion due to an increase in vascular permeability. The major causative factor of this condition is suspected to be vascular endothelial growth factor (VEGF), although various other factors are thought to be involved.

Many mechanisms have been held responsible for the ethiopathogenesis of this syndrome although most dwell on substantial evidence of inflammatory processes and angiogenesis. The aim of this study was to show the effects of resveratrol- a substance renowned for its' anti-inflammatory and anti-angiogenic properties on a rat model of OHSS.

OHSS was simulated in immature female wistar rats. A total of 24 rats were included and divided into 4 groups. The control group comprised 6 rats; 6 rats were included in the mild OHSS group whereas 12 rats were subjected to severe stimulation, comprising two severe OHSS groups. Gonadotropins were administered in different doses to achieve the varying OHSS models (ie, mild and severe). 6 rats in the severe OHSS group were administered 60mg/kg resveratrol.

The groups were compared according to mean body weights, ovarian weight, peritoneal fluid VEGF and interleukin 6 (IL-6) levels, VEGF expression, antral and atresic follicle counts as well as corpus luteum counts.

The mean peritoneal VEGF levels, histopathological scores for VEGF expression and corpus luteum counts were significantly lower in group 4 (resveratrol group) when compared to group 3 (severe OHSS group). The number of follicles that had undergone atresia were significantly higher in group 3 when compared to group 4. Peritoneal IL-6 were lower in group 4 although this trend did not reach statistical significance.

Resveratrol demonstrated an antiinflammatory effect as well as a negative effect on angiogenesis, resulting in a decrease in VEGF expression.

Key Words: Resveratrol, Angiogenesis, OHSS, VEGF, IL-6, Rat

9. KAYNAKLAR

1. Barbieri RL. Female infertility. In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), Reproductive endocrinology. Pennsylvania:Elsevier Inc., 5th ed, 2004, pp 633-668.
2. Bahçeci M. Ovulasyon indüksiyonu. T Klin Jineköl Obstet 2: 27-48, 1992.
3. Ohba T, Ujioka T, Ishikawa K, Tanaka N, Okamura H. Ovarian hyperstimulation syndrome-model rats; the manifestation and clinical implication. Mol Cell Endocrinol. 2003; 28: 47-52.
4. Gomez R, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Administration of Moderate and High Doses of Gonadotropins to Female Rats Increases Ovarian Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and VEGF Receptor-2 Expression that is Associated to Vascular Hyperpermeability. Biology Reproduction 2003; 68: 2164-2171
5. Rizk B, Aboulghar M, Smitz J, Ron-El R. The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod Update 1997; 3(3): 255-66.
6. Lamuela-Raventos, RM. Direct HPLC Analysis of cis-and trans-Resveratrol and Piceid Isomers in Spanish Red Vitis vinifera Wines. J Agric Food Chem 1995; 43: 281-3

7. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 341: 1103-4
8. Whelan JG 3rd, Vlahos NF. The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 2000; 73: 883-96.
9. Tuarnaye H. Gamete source and manipulation. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds), *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting*. Geneva: WHO, 2002: 83-101.
10. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Vdal C. Human ovarian steroid secretion in vivo: effects of GnRH agonist versus antagonist (cetorelix). *Human Reprod* 2001; 16: 2533-2539.
11. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998; 83: 4177-4188.
12. Hillier SG. The Parkes's Lecture Controlled Ovarian Stimulation in Women. *Journal of Reproduction and Fertility* 2000; 120: 201-210.
13. Ernst S, Hite G, Cantrell JS, Richardson Jr A, Benson HD. Stereochemistry of geometric isomers of clomiphene: a correction of the literature and a reexamination of structure-activity relationships. *J Pharm Sci* 1976; 65: 148.
14. Clark JH, Markaverich BM. The agonist-antagonist properties of clomiphene. *Pharmacol Ther* 1981; 15: 467-519

15. Özkaya O, Şahiner H. Ovulasyon fizyolojisi ve Ovulasyon indüksiyonu. Çiçek N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004; 1093-106.

16. Hugues JN, Durnerin IC. Revisiting gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols and management of poor ovarian responses to gonadotrophins. Human Reprod Update 1998; 4: 83-101.

17. Fitzgerald PA. Hypothlamic and pituitary hormones. In Katzung BG (ed), Basic and clinical pharmacology. California: Mcgraw-Hill, 8th ed, 2001:625- 643.

18. Önvural A. İnfertilitede GnRH ve Analogların Kullanımı. Obstetrik ve Jinekoloji Sürekli Eğitim Dergisi. Ovulasyon İndüksiyonu Yardımcı Üreme Teknikleri.1997; 1: 254-74.

19. Olivennes F, Belcisch-Allart J, Emperaire JC, et al. Prospective, randomised, controlled study of in-vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) antagonist (Cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (Triptorelin). Fertility and Sterility 2000; 73(2): 314-320.

20. Teresa Wiesak Shore Institute for Reproductive Medicine, Brick, NS, USA. Role of LH in controlled ovarian stimulation. Reproductive Biology 2002; 2(3). 215-227.

21. Hillier SG. The Parkes's Lecture Controlled Ovarian Stimulation in Women. *J Reprod Fertil* 2000; 120: 201-210.
22. Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds), *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting*. Geneva: WHO; 2002: 102-125.
23. Schats R, Sutter PD, Bassil S. Ovarian stimulation during assisted reproduction treatment: a comparison of recombinant and highly purified urinary human FSH. *Human Reprod* 2000; 15: 1691-1697.
24. Frydman R, Howles CM, Truans F. A double-blind, randomised study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH, Gonal-F) with highly purified urinary FSH (Metrodin HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. *Human Reprod* 2000; 15: 520-525.
25. The European Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin Study Group. Induction of final follicular maturation and early luteinization in women undergoing ovulation induction for assisted reproduction treatment-recombinant HCG versus urinary HCG. *Human Reproduction* 2000;15(7): 1446-1451.
26. Driscoll GL, Tyler JPP; Hangan JT, et al. A prospective, randomised, controlled, doubleblind, double-dumming comparison of recombinant and urinary HCG for inducing oocyte maturation and follicular luteinization in ovarian stimulation. *Human Reprod* 2000; 15: 1305-1310.

27. Ron-El R, Lazrel A, Schachter M, et al. Induction of ovulation after GnRH antagonists. *Human Reproduction Update* 2000; 6(4): 318-321.
28. Manau D, Balasch J, Arroyo V, Jimenez W, Fabregues F, Casamitjana R, et al. Circulatory dysfunction in asymptomatic in vitro fertilization patients. Relationship with hyperestrogenemia and activity of endogenous vasodilators. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1489-1493.
29. Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS, et. al. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3300-3308.
30. Morris RS, Paulson RJ. Ovarian derived prorenin-angiotensin cascade in human reproduction. *FertilSteril*. 1994; 62: 1105–14.
31. Elchalal U, Schenker JG. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome-views and ideas. *Hum Reprod*. 1997; 12: 1129–37.
32. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-985.
33. McClure N, Healy DL, Rogers PA, Sullivan J, Beaton L, Haning RV Jr, Connolly DT, Robertson DM et. al. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet* 1994; 344: 235-236.

34. Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C1358-66.
35. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surgical Oncology* 2004; 87: 95-104.
36. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-8.
37. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochem Pharmacology* 2004; 68: 1017-21.
38. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-76.
39. Geva E, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril*. 2000; 74: 429-38.
40. Popovici RM, Irwin JC, Giaccia AJ, Giudice LC. Hypoxia and cAMP stimulate vascular endothelial growth factor (VEGF) in human endometrial stromal cells: potential relevance to menstruation and endometrial regeneration. *J Clin Endocrinol metab* 1999; 84: 2245-8. *Oncogene* 1994; 9: 963-9.

41. Kieser A, Weich HA, Brandner G, Marme D, Kolch W. Mutant p53 potentiates protein kinase C induction of vascular endothelial growth factor expression *Oncogene* 1994; 9: 963–9.
42. Elchalal U, Schenker JG. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome-views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12: 1129–37.
43. Watson JM, Sensintaffar FL, Berek JS, Martinez-Maza O. Constitutive production of IL-6 by ovarian cancer cell lines and by primary ovarian tumor cultures. *Cancer Res.*1990; 50: 6959-65.
44. McElhinney B, Ardill J, Caldwell C, Lloyd F, McClure N. Variations in serum vascular endothelial growth factor binding profiles and the development of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril.* 2002 ;78: 286-90.
45. Sushanek E, Simunic V, Juretic D, Grizelj V. Follicular fluid contents of hyaluronic acid, follicle stimulating hormone and steroids relative to the success of in vitro fertilization of human oocytes. *Fertil Steril* 1994; 62: 347-52.
46. Rizk B. Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: the Cominandments. Presented at the 1993 European Society of Human Reproduction and Embryology Symposium, Tel Aviv, Israel, 1993: 1-2
47. Navot D, Bergh PA, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril.* 1992; 58: 249-61

48. Shapiro AG, Thomas T, Epstein M. Management of hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1977; 28: 237-239
49. Thaler I, Yoffe N, Kaftory J. Treatment of ovarian hyperstimulation syndrome: the physiologic basis for a modified approach. *Fertil Steril* 1981; 36:110-113
50. Hanning RV, Stawn EY, Nolten WE. Pathophysiology of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Obst Gynecol* 1985; 66: 220-224
51. Golan A, Ron-El R, Herman A. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44: 430-440
52. Abdalla HI, Rizk B. Ovarian hyperstimulation syndrome. In Abdalla HI, Rizk B, eds. *Assisted Reproductive Technology*. Abingdon, Oxford: Health Press, 1999: 37-39.
53. Mozes M, Bogowsky H, Anreby E. Thrombo-embolic phenomena after ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin. *Lancet* 1965; 2: 1213-1215.
54. Ong ACM, Eisen V, Rennie DP. The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a possible role of ovarian renin. *Clin Endocrinol* 1991; 34: 43-49
55. Ferrareni AP, Gianaroli L, Diotallevi L. Dopamine treatment for severe hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1992; 7: 180-183

56. Gomez R, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Vascular endothelial growth factor receptor-2 activation induces vascular permeability in hyperstimulated rats, and this effect is prevented by receptor blockade. *Endocrinology* 2002; 143: 4339.

57. Fong TA, Shawver LK, Sun L, Tang C, App H, Powell TJ. et.al. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res* 1999; 59: 99-106.

58. Basu S, Nagy JA, Pal S, Vasile E, Eckelhoefer IA, Bliss VS, et. al. The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2001; 7: 569-574.

59. Quintana R, Kopcow L, Marconi G, Young E, Yovanovich C, Paz DA. Inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) by meloxicam decreases the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Fertil Steril*. 2007 Dec 29.

60. Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Prevention and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2003; 17: 249-61.

61. Fainaru O, Hornstein MD, Folkman J. Doxycycline inhibits vascular leakage and prevents ovarian hyperstimulation syndrome in a murine model. *Fertil Steril*. 2009 Nov; 92(5): 1701-5.

62. Siemann E, Creasy L. Concentration of the phytoalexin resveratrol in

wine. *Am J Enol Vitic* 1992; 43: 49–52.

63. Trela BC, Waterhouse AL. Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 1253–7.

64. Andlauer W, Kolb J, Siebert K, Fürst P. Assessment of resveratrol bioavailability in the perfused small intestine of the rat. *Drugs Exp Clin Res* 2000; 26: 47–55.

65. Yu C, Shin YG, Chow A, Li Y, Kosmeder JW, et al. Human, rat, and mouse metabolism of resveratrol. *Pharm Res* 2002; 19: 1907–14

66. M. Jang, L. Cai, G.O. Udeani, K.V. Slowing, C.F. Thomas, C.W.W. Beecher, H.H.S. Fong et. al. *Science*, 1997; 275: 218–220.

67. Schneider Y, Vincent F, Duranton B, et al. Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. *Cancer Lett* 2000; 158: 85–91.

68. Surh YJ, Hurh YJ, Kang JY, Lee E, Kong G, Lee SJ. Resveratrol, an antioxidant present in red wine, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. *Cancer Lett* 1999; 140: 1–10.

69. Huang C, Ma WY, Goranson A, Dong Z. Resveratrol suppresses cell transformation and induces apoptosis through a p53-dependent pathway. *Carcinogenesis* 1999; 20: 237–42.

70. Miloso M, Bertelli AAE, Nicolini G, Tredici G. Resveratrol-induced activation of the mitogen-activated protein kinases, ERK1 and ERK2, in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Neurosci Lett* 1999; 264: 141–4.

71. She QB, Bode AM, Ma WY, Chen NY, Dong Z. Resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis is mediated by extracellular signal-regulated protein kinases and p38 kinase. *Cancer Res* 2001; 61: 1604–10.

72. Chun YJ, Kim MY, Guengerich FP. Resveratrol is a selective human cytochrome P450 1A1 inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262: 20–4.

73. Fontecave M, Lepoivre M, Elleingand E, Gerez C, Guittet O. Resveratrol, a remarkable inhibitor of ribonucleotide reductase. *FEBS Lett* 1998; 421: 277–9.

74. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, et al. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 21875–82.

75. Sun NJ, Woo SH, Cassady JM, Snapka, RM. DNA polymerase and topoisomerase II inhibitors from *Psoralea corylifolia*. *J Natl Prod* 1998; 61: 362–6.

76. Clement MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, Hirpara JL, Chawdhury SH,

Pervaiz S. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood* 1998; 92: 996–1002.

77. Lu R, Serrero G. Resveratrol, a natural product derived from grapes, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *J Cell Physiol* 1999; 179: 297–304.

78. Hsieh TC, Wu JM. Differential effects on growth, cell cycle arrest, and induction of apoptosis by resveratrol in human prostate cancer cell lines. *Exp Cell Res* 1999; 249: 109–15.

79. Carmeliet P (2000) Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 6: 389– 395.

80. Eun-Ok Lee, Hyo-Jung Lee, Hwa-Soo Hwang, Kyoo-Seok Ahn, Chanhee Chae, Kyung-Sun Kang, Junxuan Lu, Sung-Hoon Kim Potent inhibition of Lewis lung cancer growth by heyneanol A from the roots of *Vitis amurensis* through apoptotic and anti-angiogenic activities *Carcinogenesis* 2006; 27; 10: 2059–2069.

81. Sheng-Hong Tseng, Swei-Ming Lin, Jin-Cherng Chen, Yen-Hao Su, Hsin-Yi Huang, Chia-Kang Chen, Po-Yin Lin, Yun Chen¹, Resveratrol Suppresses the Angiogenesis and Tumor Growth of Gliomas in Rats *Clinical Cancer Research* 2004; 10, 2190–2202.

82. Mirella Belleri, Domenico Ribatti, Stefania Nicoli, Franco Cotelli, Luca Forti, Vanio Vannini, Lucia Anna Stivala, and Marco Presta Antiangiogenic and Vascular-Targeting Activity of the Microtubule-Destabilizing *trans*⁴⁵ Resveratrol Derivative 3,5,4-Trimethoxystilbene Mol Pharmacol 2005; 67: 1451–1459.

83. K. Igura, T. Ohta, Y. Kuroda, K. Kaji. Cancer Lett., 2001; 171: 11–16.

84. Birrell MA, McCluskie K, Wong S, Donnelly LE, Barnes PJ, Belvisi MG. Resveratrol, an extract of red wine, inhibits lipopolysaccharide induced airway neutrophilia and inflammatory mediators through an NFkappaB independent mechanism. FASEB J 2005; 19: 840–1.

85. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappaB, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. J Immunol 2000; 164: 6509–19.

86. Leiro J, Arranz JA, Fraiz N, Sanmartin ML, Quezada E, Orallo F. Effect of cis-resveratrol on genes involved in nuclear factor kappa B signaling. Int Immunopharmacol 2005; 5: 393–406.

87. Le Corre, L., Chalabi, N., Delort, L., Bignon, Y. J., and Bernard-Gallon, D. J. Resveratrol and breast cancer chemoprevention: molecular mechanisms. Mol. Nutr. Food Res. 2005; 49: 462–471.

88. Belguendouz L, Fremont L, Linard A. Resveratrol inhibits metal iondependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. *Biochem Pharmacol* 1997; 53: 1347–55.
89. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 34: 1103–4.
90. Arichi H, Kimura Y, Okuda H. Effects of stilbene components of the roots of polygonium on lipid metabolism. *Chem Pharm Bull* 1982; 30: 1766–70.
91. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: a molecule whose time has come and gone? *Clin Biochem* 1997; 30: 91–113.
92. Bider D, Menashe Y, Oelsner G. Ovarian hyperstimulation exogenous gonadotrophin administration. *Acta Obstet Gynecol* 1989; 69: 511-514.
93. Kingsland C, Collins JV, Rizk B. Ovarian hyperstimulation presenting as acute hydrothorax after in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 381-382.
94. Padilla SL, Zamaria S, Baramki TA. Abdominal paracentesis for the ovarian hyperstimulation syndrome with severe pulmonary compromise. *Fertil Steril* 1990; 53: 365-367.
95. Al-Ramahi M, Leader A, Clarnan P. A novel approach to the treatment of ascites associated with ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1997; 12: 2614-2616.

96. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Ultrasonically guided vaginal aspiration of ascites in the treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1990; 53: 933-935.
97. Rizk B, Aboulghar M. Modern management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1991; 6: 1082-1087.
98. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Auto transfusion of the ascitic fluid in the treatment of severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Fertil Steril* 1992; 58: 1056-1059.
99. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Management of severe ovarian hyperstimulation syndrome by ascitic fluid aspiration and intensive intravenous fluid therapy. *Obstet Gynecol* 1993; 81: 108-111.
100. Hurwitz A, Milwidsky A, Yagel S. Early unwinding of torsion of an ovarian cyst as a result of hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1983; 40: 393.
101. Mashiach S, Bider D, Moran O. Adnexal torsion of hyperstimulated ovaries in pregnancies after gonadotrophin therapy. *Fertil Steril* 1990; 53: 76-78
102. Rizk B. Ovarian hyperstimulation syndrome. In Srud J, ed. *Progress in Obstetrics and Gynecology*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1993; 11: 311-349.
103. Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the ovary. *Am J Obstet Gynecol*. 2000; 182: 240-6.

104. Z. Cao, J. Fang, C. Xia, X, Z.F. Zhang, J. Brown, A.D. Le. Shi. Trans-3,4,5 trihydroxystilbene inhibits hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells, Clin. Cancer Res. 2004; 10: 5253–5263.

105. Q. Zhang, X. Tang, Q.Y. Lu, Z.F. Zhang, J. Brown, A.D. Le, Resveratrol inhibits hypoxia-induced accumulation of hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF expression in human tongue squamous cell carcinoma and hepatoma cells, Mol. Cancer Ther. 2005; 4: 1465–1474.

106. Mirella Belleri, Domenico Ribatti, Stefania Nicoli, Franco Cotelli, Luca Forti, Vanio Vannini, et. al. Antiangiogenic and Vascular-Targeting Activity of the Microtubule-Destabilizing *trans* Resveratrol Derivative 3,5,4-Trimethoxystilbene Mol Pharmacol 2005; 67: 1451–1459.

107. Cao, Yu, Fu, Wang, Fang, Liu, et. al. 'Anti-angiogenic activity of resveratrol, a natural compound from medicinal plants', Journal of Asian Natural Products Research, 2005; 7: 3,205-213.

108. Motro B, Itin A, Sachs L. Pattern of interleukin 6 gene expression in vivo suggests a role for this cytokine in angiogenesis. Keshet E Proc Natl Acad Sci U S A. Apr, 1990; 87(8): 3092-6.

109. Friedlander MA, Loret de Mola JR, Goldfarb JM. Elevated levels of interleukin-6 in ascites and serum from women with ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril. Nov, 1993; 60(5): 826-33.

110. Geva E, Lessing JB, Lerner-Geva L Azem F, Yovel I, Amit A. Elevated levels of interleukin-6 in the follicular fluid at the time of oocyte retrieval for in vitro fertilization may predict the development of early-form ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. Jul, 1997; 68(1): 133-7.

111. Zhong M, Cheng GF, Wang. WJ Inhibitory effect of resveratrol on interleukin 6 release by stimulated peritoneal macrophages of mice. *Phytomedicine*. May, 1999; 6(2): 79-84.

112. M.J Wang, H.M, Huang, S.J Hsieh. Resveratrol inhibits interleukin-6 production in cortical mixed glial cells under hypoxia/hypoglycemia followed by reoxygenation. *Journal of Neuroimmunology*. 2001; 112: 28-34.

113. Scotti L, Irusta G, Abramovich D, Tesone M, Parborell F. Administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist affects corpus luteum vascular stability and development and induces luteal apoptosis in a rat model of ovarian hyperstimulation syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. Mar 30, 2011; 335(2): 116-25.

114. Garside SA, Henkin J, Morris KD. A thrombospondin-mimetic peptide, ABT-898, suppresses angiogenesis and promotes follicular atresia in pre- and early-antral follicles in vivo. *Endocrinology*. Dec, 2010; 151(12): 5905-15.

115. Yan Z, Weich HA, Bernart, Breckwoldt M, Neulen J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger ribonucleic acid (mRNA)

expression in luteinized human granulosa cells in vitro. J Clin Endocrinol Metab 1993; 77: 1723-1725.

116. Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA et. al. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/VP factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80: 1967-1971.

10. EKLER

Ek-1



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAVİ : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/150-12291
KONU :

30.10/2011

Sayın

Doç.Dr.Mesut ÖKTEM
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Mesut ÖKTEM, Şebnem ÖZGÜR, Özlem ERDEM, Şehri ELBEG ve Cahit CENKSOY'dan oluşan, G.Ü.ET-11.072 kod numaralı ve *"Ovarian Hipersitümlasyon Sendromu Oluşturulmuş Rat Modelinde Resveratrol ve Atorvastatinin, VEGF ve IL-6 Üzerine Etkileri"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.072 and entitled *"The Effects of Resveratrol and Atorvastatin on Levels of VEGF and IL-6 in an Ovarian Hyperstimulation Syndrome Rat Model"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Ek-2

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI
KARARLARI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 22.06.2011		TOPLANTI SAYISI : 06	
ADI-SOYADI			
Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN		KATILAMADI	
Prof.Dr.Aydan BABÜL		KATILDI	
Prof.Dr.Nurten TÜRKÖZKAN		KATILDI	
Prof.Dr.M.Tahir HATİPOĞLU		KATILAMADI	
Prof.Dr.Mustafa ARK		KATILDI	
Doç.Dr.Şule COŞKUN CEVHER		KATILDI	
Uzman Dr.Şeyda DİKER		KATILDI	
Arş.Gör. Esra PER		KATILDI	
Dr.Kadir BAŞAR		KATILDI	
İlknur ALKAN		KATILAMADI	

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı