

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**RAT OVERLERİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA KARŞI ARONIA
MELANOCARPA EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS

Yadullah ÖZEL

OCAK-2023
GÜMÜŞHANE



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**RAT OVERLERİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA KARŞI ARONIA
MELANOCARPA EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİSİ**

**PROTECTIVE EFFECT OF ARONIA MELANOCARPA EXTRACT ON
ISCHEMIA REPERFUSION DAMAGE IN RAT OVARIUM**

YÜKSEK LİSANS

Yadullah ÖZEL

**OCAK-2023
GÜMÜŞHANE**



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**RAT OVERLERİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA KARŞI ARONIA
MELANOCARPA EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİSİ**

**PROTECTIVE EFFECT OF ARONIA MELANOCARPA EXTRACT ON
ISCHEMIA REPERFUSION DAMAGE IN RAT OVARIUM**

YÜKSEK LİSANS

Yadullah ÖZEL

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zahid PAKSOY

**OCAK-2023
GÜMÜŞHANE**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Rat Overlerinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Karşı Aronia Melanocarpa Ekstraktının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğum intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanması için izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

19/01/2023

.....
Yadullah ÖZEL

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim değerli Tez Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Zahid Paksoy hocama teşekkür ederim.

Çalışmamız; Kahramanmaraş İstiklal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünce 2021/2-3 kodu ile desteklenmiştir. Proje çalışmamıza histopatolojik ve immünohistokimyasal analizleri yaparak desteklerini sunan Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nihat YUMUŞAK'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışma esnasında ekstraktımızdaki fenolik bileşiklerin belirlenmesinde katkılarından dolayı KTÜ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Oktay YILDIZ'a, sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Yadullah ÖZEL
GÜMÜŞHANE-2023

ÖZET

Bu çalışmada; Aronya ekstraktının ratlarda ovaryum iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan etkisi araştırıldı. Araştırma; Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel Araştırma Merkezinde yapıldı. Bu amaçla Wistar albino ırkı dişi rat (n=40) kullanıldı ve hayvanlar rastgele 5 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol, iskemi-reperfüzyon, Ary1, Ary2 ve Ary3 grubu olarak belirlendi. Tedavi grubundaki ratlara ekstrakt gavaj yoluyla iskemiden bir hafta önce günlük olarak verilmeye başlandı. Her deney grubu için 60 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Deney sonunda ratlardan anestezi altında ovaryum dokusu alındı. Alınan doku ve serum örneklerinde biyokimyasal analizler yapıldı. Ayrıca ovaryum dokusu histopatolojik olarak değerlendirildi. Bunlara ilaveten immünohistokimyasal olarak Interlökin-1 beta, Interlökin-6 ve Tümör nekrozis faktör alfa düzeyleri belirlendi. Çalışmanın sonucunda ratlarda Aronya ekstraktı uygulaması ile bazı antioksidanların seviyelerinde azalma olmuştur. Buna karşın proinflamatuvar sitokinlerin aktivitesi azalmış, daha az hiperemi, kanama ve nekroz görülmüştür. Sonuç olarak Aronya ekstraktının ovaryumlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu amaçla kullanılabilecek bir madde olduğu kanısına varılabilir.

Anahtar kelimeler: Aronya ekstraktı, İskemi, Rat, Reperfüzyon, Ovaryum

SUMMARY

In this study; the effect of Aronia extract on ovarian ischemia-reperfusion injury in rats was investigated. Research was conducted in Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Medicine, Experimental Research Center. For this purpose, Wistar albino female rats (n=40) were used and they were randomly divided into 5 groups. Groups were control, ischemia-reperfusion, Ary1, Ary2 and Ary3. The extract was given daily to the rats in the treatment group by gavage one week before ischemia. 60 minutes of ischemia and 24 hours of reperfusion were applied for each experimental group. At the end of the experiment, ovarian tissue was taken from the rats under anesthesia. Biochemical analyzes were performed on the tissue and serum samples. Also, ovarian tissue was evaluated histopathologically. In addition to these, Interleukin-1 beta, Interleukin-6 and Tumor necrosis factor alpha levels were determined immunohistochemically. As a result of the study, there was a decrease in the levels of some antioxidants with the application of Aronia extract in rats. On the other hand, the activity of proinflammatory cytokines decreased and less hyperemia, bleeding and necrosis were observed. As a result, it can be concluded that Aronia extract is a substance that can be used to protect against ischemia-reperfusion injury in the ovaries.

Keywords: Aronia extract, İschemia, Rat, Reperfusion, Ovary

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	VI
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.1.1. Aronya ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	2
1.2. İskemi.....	2
1.3. Reperfüzyon	4
1.3.1. İnflamatuar Yanıt	5
1.3.2. Kompleman Sistem Aktivasyonu.....	5
1.3.3. Nötrofil - Endotel Etkileşimi.....	6
1.3.4. Sitokinler ve Diğer Faktörlerin Rolü	7
1.4. Serbest Radikaller	8
1.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri Oluşumu	9
1.4.1.1. Süperoksit Radikal Oluşumu	10
1.4.1.2. Hidrojen Peroksit Radikal Oluşumu	11
1.4.1.3. Hidroksil Radikal Oluşumu.....	12
1.4.2. Serbest Radikallerin Zararları	12
1.4.2.1. Proteinler Üzerine Etkileri	12
1.4.2.2. Lipitler Üzerine Etkileri	12
1.4.2.3. DNA Üzerine Etkileri	13
1.4.3. Serbest Radikallerin Yararları.....	13
1.5. Over.....	14
1.5.1. Over Anatomisi	14
1.5.2. Over Histolojisi	15
1.5.3. Adneksiyal Torsiyon	15

1.6. Antioksidanlar	16
1.6.1. Endojen Antioksidanlar	17
1.6.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	17
1.6.1.1.1. Katalaz Enzimi	17
1.6.1.1.2. Süperoksit Dismutaz Enzimi	17
1.6.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz Enzimi	18
1.6.1.1.4. Glutasyon Redüktaz Enzimi	19
1.6.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	19
1.6.1.2.1. Melatonin	19
1.6.1.2.2. Glutasyon	20
1.6.1.2.3. Ürik Asit	20
1.6.1.2.4. Albümin	21
1.6.1.2.5. Bilürubin	21
1.6.1.2.6. α -Lipoik asit	22
1.6.1.2.7. Koenzim Q ₁₀	22
1.6.1.2.8. Selenyum	23
1.6.1.2.9. Seruloplazmin ve Transferrin	23
1.6.2. Eksojen Antioksidanlar	23
1.6.2.1. E Vitamini	23
1.6.2.2. C Vitamini	24
1.6.2.3. Folik Asit	24
1.6.2.4. β -karoten	25
2. MATERYAL VE YÖNTEM	26
2.1. Gereç	26
2.2. Bakım, Besleme ve Barınak	26
2.3. Yöntem	27
2.3.1. Doku Homojenatının Hazırlanması	29
2.3.2. Katalaz Düzeylerinin Ölçümü	29
2.3.3. Superoksit Dismutaz Düzeylerinin Ölçümü	30
2.3.4. MDA Düzeylerinin Ölçümü	31
2.3.5. Histopatolojik Analizler	32
2.3.6. İmmunohistokimyasal Analizler	32
2.4. İstatistikî Analiz	33
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
3.1. Histopatolojik Bulgular	35

3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	38
4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME	45
KAYNAKÇA.....	46
ÖZGEÇMİŞ	59



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Fenolik madde profili ($\mu\text{g/mL}$)*	26
Tablo 2. Serumda MDA, CAT ve SOD düzeyleri (ng/ml)	34
Tablo 3. Ovaryumda MDA, CAT ve SOD düzeyleri (ng/ml)	34
Tablo 4. Kontrol grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması	35
Tablo 5. IR grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması	35
Tablo 6. Ary1 grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması	35
Tablo 7. Ary2 grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması	35
Tablo 8. Ary3 grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması	35
Tablo 9. Kontrol ve IR grubunda IL-1 β , IL-6 ve TNF alfa immünreaktivitesi	39
Tablo 10. Tedavi gruplarında IL-1 β , IL-6 ve TNF alfa immünreaktivitesi	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ratların barındırıldığı kafesler	27
Şekil 2. Operasyonların yapıldığı ameliyathane	28
Şekil 3. Serum CAT sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.994).....	29
Şekil 4. Doku CAT sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.982)	30
Şekil 5. Serum SOD sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.982).....	30
Şekil 6. Doku SOD sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.998)	31
Şekil 7. Serum MDA sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.987)	31
Şekil 8. Doku MDA sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.998).....	32
Şekil 9. Kontrol grubundaki ratlara ait normal yapıda ovaryum dokusu.....	36
Şekil 10. IR grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Siyah yıldız: şiddetli kanama, Kırmızı yıldız: dejeneratif folikül, Kalın ok: şiddetli ödem, İnce ok: şiddetli konjesyon, Ok başı: dejeneratif hücreler).....	37
Şekil 11. Ary1 grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Kalın ok: ödem, İnce ok: konjesyon)	37
Şekil 12. Ary2 grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Ok: konjesyon)	38
Şekil 13. Ary3 grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Ok: konjesyon).....	38
Şekil 14. Kontrol grubunda IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfa (C) immünnegatifliği	39
Şekil 15. IR grubunda IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi	40
Şekil 16. Ary1 grubundaki IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi.	40
Şekil 17. Ary2 grubundaki IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi	41
Şekil 18. Ary3 grubundaki IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMP	: Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Tri Fosfat
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
Cu-Zn-SOD	: Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz
ET	: Endotelin
ETS	: Elektron Transfer Sistemi
EC-SOD	: Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz
FAD	: Flavın Adenin Dinükleotid
GCL	: Glutamin-Sistein Ligaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Selenyuma Bağımlı Olmayan Glutasyon Peroksidaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HOCl	: Hipokloröz Asit
ICAM	: İntrasellüler Adezyon Molekülü
IL	: İnterlökin
IR	: İskemi-Reperfüzyon
KDH	: Ksantin Dehidrogenaz
KO	: Ksantin Oksidaz
LOOH	: Lipit Peroksil
Mn- SOD	: Mangan Süperoksit Dismutaz
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NF	: Nörofibromatozis
NO	: Nitrik Oksit
NO ₂	: Azot dioksit
NOR	: Nitrik Oksit Radikalleri
O ⁻	: Süperoksit
O ₂	: Oksijen
OH ⁻	: Hidroksil
ONOO ⁻	: Peroksi Nitrit

PNL	: Polimorf Nüveli Lökositleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
Se-GPx	: Selenyuma Bağımlı Glutatyon Peroksidaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Birçok bitki arasından özellikle üzümsü meyveler antosiyanin miktarı ve antioksidan kapasite bakımından oldukça yoğundur. Üzümsü meyve özelliğine sahip aronya (*aronia melanocarpa*) bitkisinin ilk olarak anavatanı Kuzey Amerika olarak bilinmektedir. Ancak sağlık üzerine olumlu etkilerinin keşfedilmesinden sonra yakın çevremizde sistemli olarak 1990'lı yılların ilk çeyreğinde Rusya' da ekilmeye başlanmıştır. Güçlü terapotik potansiyele sahip bu bitki, 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren Doğu Avrupa devletlerinde de ticari amaçlı yetiştirilmeye başlanmıştır. Günümüzde üretimi en çok Rusya'da görülürken Almanya ve Doğu Avrupa ülkelerinde de yetiştiriciliği halen devam etmektedir (Fidancı, 2015; Šnebergrová vd., 2014).

Çok yıllık bitkiler grubunda sınıflandırılan aronya bitkisinin bir diğer özelliği ise yaşam süresinin uzun olmasıdır. Bitki büyümeye başladıktan itibaren yeni oluşum göstermiş dallar ve sürgünler yarı odunsu yapıda görülürken zamana bağlı olarak gelişimini tamamlamış dallar odunsu yapıdadırlar. Dış görünüş olarak bu bitkilerin kabuk renkleri yeni oluşmuş sürgünlerde kahverenginin kızılımtırak tonunda görülürken çok yıllık dallarda kahverenginin griye yakın tonunda görsellik sunmaktadır. Ayrıca bu bitkilerin sürgünleri üzerinde beyaz renkte lentisel yapıların varlığı gözlemlenmiştir (Poyraz Engin vd., 2016).

Aronya meyvesinin dallarının yanı sıra yapraklarının da kendine özgü bazı özelliklerinin olduğu gözlemlenmiştir. Genel olarak olarak yaprakları sivri uçlu olup görsel olarak oval şekildedirler ve diğer yandan alternat dizilimli yaprak grubunda yer alırlar. Görsel açıdan diğer bir özellikleri ise yapraklarda üst yüzeyden alt yüzeye doğru indikçe yeşilin daha koyu rengi hâkim olmaktadır. Ayrıca aronya bitkisi üzerinde meydana gelen çiçeklenme dönemi, dalların kalınlığına göre farklılık göstermektedir. Kalın dallardaki çiçeklenmenin, ince dallara göre daha geç gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Poyraz Engin vd., 2016).

Birçok bitki türüne kıyasla gerek yetiştiriciliğinin kolay olması gerekse çok verimli bir tür olması bu bitkinin yetiştirilmesi bakımından avantajları arasındadır. Ayrıca bir çok toprak tipine uyumu ve geç çiçek açmasından dolayı don olayına maruz kalmaması bu meyvenin önemini bir kez daha göstermektedir (Poyraz Engin vd., 2016).

1.1.1.Aronya ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

İnsan sağlığına birden fazla olumlu etkisi olan aronya bitkisi ayrıca birçok iklim türüne ve toprak çeşidine uyum sağlama özelliğine sahip meyvelerdendir (Fidancı, 2015; Poyraz Engin, 2018). İçerik olarak fazlaca flavanoid ve antosiyanin bulundurmaktadır. Diğer taraftan fenol, vitamin, mineral ve antioksidan bakımından da oldukça zengindir. Kimyasal içeriğinin bu kadar zengin olması insanların birçok kalp ve kanser hastalıklarına karşı korunmasına yardımcı olmaktadır (Tolic ve ark., 2015).

Rusya’da aronya meyvesinin biyokimyasal aktivitelerinin ortaya çıkması ile tıbbi bitki statüsüne almıştır. Günümüzde bağırsak problemleri, soğuk algınlığı, safra kesesi ve karaciğer ile beraber birçok rahatsızlıkların tedavisinde öne çıkmaktadır. Diğer yandan kardiyovasküler ve kalp rahatsızlıklarına karşı olumlu etkileri görülmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalarla kan şeker seviyesini istenilen düzeyde tutma, mevcut kan basıncının kontrolü ve savunma sistemini kuvvetlendirerek gribal enfeksiyon oluşumuna karşı vücudu korumaktadır. İnsan vücudunda birçok problem veya rahatsızlığa karşı etkisinin anlaşılması ile 2009 yılında aronya üretiminin artırılması için Orta-Batı Aronya Birliği kurulmuştur (Fidancı, 2015; Hannan, 2013).

Aronya bitkisinin meyve ve yapraklarının farmakolojik özelliklerinin tespit edilmesi amacı ile Ukrayna’ da yapılmış bilimsel bir araştırmada, aronya meyvesi içerisinde fazlaca uçucu özelliğe sahip yağ bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu uçucu yağın yaklaşık %63’ünün benzaldehit olduğu da tespit edilmiştir (Krivoruchko ve Kovalev, 2011).

1.2. İskemi

İskemi, canlıların yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmesi için organ ya da dokulara gitmekte olan kan akımının (venöz veya arteriyel) mekanik etkiler veya pıhtılaşma gibi çeşitli nedenlerle azalması veya durmasından kaynaklı oluşan dokusal bozulmalara denilir. Diğer bir ifade ile perfüzyon bozulması sonucu hücrelerin yeteri kadar oksijen ve diğer önemli maddeleri temin edememesi olayına denilmektedir. Yetersiz perfüzyon sonucu oluşmuş iskemik dokularda bir takım dokusal hasarlar meydana gelebilmekte ve iskemi süresinin artması sonucu da nekrozla sonuçlanabilecek hücrelölümler görülmektedir (Ozcan vd., 2015).

İskemi maruziyeti sonrası dokular, kan akımının yavaşlamasına ya da durmasına bağlı ihtiyaç duyduğu besin ve oksijen temininde bir takım sorunlarla karşılaşarak hipoksi durumu oluşmaktadır. İskemiye maruz kalmış dokularda meydana gelen diğer bir sorun ise hücrelerde biriken atıkların uzaklaştırılması hususunda oluşan

problemlerdir. Bu nedenle iskemi süresinin kritik seviyeyi geçmesi istenmeyen tahribatlara sebebiyet vererek doku hasarı oluşumunu da beraberinde getirmektedir (Sugiyama vd., 1988). Kritik seviyenin aşılması; gerek hücre içinde gerekse membran dışında bulunan iyon konsantrasyonu değişimine, membran akışkanlık hızında düşüşe ve hücre iskeletinin endotel hücreler aracılığı ile işlevlerini yitirmesine sebep olmaktadır. Bu bağlam doğrultusunda nitrik oksit (NO) gibi aktif olmayan bazı ajan oluşumunda azalmalara neden olurken diğer taraftan endotelin benzeri ajan oluşumunda da artmalara neden olmaktadır. Hipoksiye maruz kalmış hücrelerin mevcut enerji depolarında azalmalar görülürken endotelin (ET) hücrelerinde birçok genin baskılanmasını veya uyarılmasını tetiklemektedir. Ayrıca hipoksi sonucu dokularda meydana gelebilecek tahribatlar birçok hücrenin metabolik gereksinimlerine, iskemi yoğunluğu ve süresine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Grace, 1999; Kalp, 2004).

İnsan veya hayvanlardaki normal hücreler, solunumlarını aerobik olarak gerçekleştirirken iskemiye maruz kalmış hücreler anaerobik olarak sürdürmektedir (Semenza, 2000). Ancak iskemi sonrası anaerobik metabolizma sistemleri, aerobik hücrelerin oksijen (O_2) ihtiyacını temin etmekte yetersiz kalabilmektedir. Mevcut O_2 ihtiyacı, elektron transfer mekanizmasının (ETS) işlevini olumsuz etkileyecektir ve mitokondriyal membranın etkinliğini devam ettirmek için adenosin trifosfat (ATP) sentaz F_1F_0 'ın fonksiyonlarını etkileyerek tersine çalışmasına neden olacaktır. ATP sentaz F_1F_0 'ın fonksiyonlarının bozulması mitokondrilerde kullanılan ATP miktarını daha fazla artıracaktır. Bu bağlamda hücrelerdeki mevcut ATP seviyesi giderek azalacaktır (Di Lisa vd., 2007). Dokularda iskemi sonrası ATP miktarındaki azalmaya bağlı ilk olarak glikojen parçalanma hızı ve sonrasında glikoliz olayı artacaktır (Lieberthal ve Nigam 1998). ATP miktarındaki azalmalardan sonra iskemik dokuların homeostazisi bozulup hücre içine su ve fazlaca sodyum (Na^+) iyonu birikerek ödem oluşumuna sebep olacaktır (Kosieradzki ve Rowinski, 2008).

İskemiye uğramamış normal dokulardaki hücrelerde, aerobik solunum mekanizmasında ilk olarak oluşturulan ATP, adenosin monofosfata (AMP) indirgenir. AMP ise bir sonraki aşamada adenoze ve akabinde hücre dışına çıkarak inozin ve devamında hipoksantine indirgenmektedir. Üretilen hipoksantinde, ksantin dehidrogenaz (KDH) enzimi ile ksantine indirgenir ve son olarak oluşan ksantin, ürik aside çevrilmektedir. Solunumlarını aerobik olarak gerçekleştiren normal hücrelerde hipoksantin, KDH ile etkileşimi sonucu toksik özellikteki oksijen radikallerinin oluşmama nedeni ise elektron alıcı özelliğe sahip nikotinamid adenin dinükleotid

(NAD) kullanılmasıdır (Grace, 1994). Diğer yandan iskemi sonrası anaerobik solunuma geçen hücrelerde hipoksantin, KDH yerine ksantin oksidaz (KO) ile etkileşime girmektedir (Li ve Jackson, 2002). Bu durumun nedeni iskemi sırasında KDH enziminin KO enzimine değiştirilmesinden kaynaklıdır. Dolayısı ile iskemik dokularda reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunun nedeni KDH enzimi yerine KO enziminin varlığıdır. KO enzimi de etkinlik gösterirken elektron alıcı olarak O_2 moleküllerini kullanmaktadır. Yalnız O_2 'nin iskemik hücrelerde belirli düzeyde bulunmamasından kaynaklı miktarı artmakta olan hipoksantin, ksantine indirgenemez. Böylece toksik etkiye sahip serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumu gerçekleşmez (Parks vd., 1988).

İskemiye uğramış dokularda kan akımının azalmasına ya da durmasına bağlı gelişen diğer bir sorun da oksidatif fosforilasyon üretiminde yavaşlamaların görülmesidir. Üretilen fosforilasyonun azalmasına bağlı olarak adenosin 5'-trifosfat gibi çok fazla enerjiye sahip fosfat sentezlerinde yavaşlamalar görülmesidir (Jennigs ve Reimer, 1991). Bu bağlam doğrultusunda iskemik doku hücrelerinde enerji depolarının azalmasına bağlı olarak hücre zarlarındaki potasyum, Na^{+1} ve ATP-az pompa sistemleri işlevlerini kaybederek inhibisyona uğramaktadır. Pompa sistemlerinin inhibisyonu sonucu hücre dışına çıkamayan kalsiyum (Ca^{+2}) ve Na^{+1} iyonlarının hücre içindeki konsantrasyonlarında artış görülür (Green vd., 1989). Ca^{+2} iyonlarının hücre içinde birikimi ise hücrelerde sitotoksik etki oluşumuna neden olmaktadır (Orrenius vd., 1992). Böylelikle iskemik doku hücrelerindeki bu iyonların konsantrasyon seviyelerindeki değişiklikler proinflamatuvar sitokinlerin inflamasyonu başlatıcı özelliğe sahip lökosit adezyon yapılı moleküllerin oluşumunda artmaya neden olmaktadır. Ayrıca antioksidan aktiviteye sahip enzimlerin üretiminde azalmayı tetikleyerek iskemiye uğramış hücrelerin tekrar kanlanmaya başladıktan sonra oluşabilecek reperfüzyon hasarlarına karşı güçsüz bırakmaktadır (Parks vd, 1988).

1.3. Reperfüzyon

Mekanik etkilerle veya ilaçlarla iskemiye uğramış doku ya da organlara tekrar kan akımının sağlanmasına reperfüzyon denilmektedir. Reperfüzyon sonrası iskemik dokulara tekrar kan ulaşımının gerçekleşmesi toksik etkiye sahip metabolitlerin yok edilmesine ve ihtiyaç duyulan enerjinin tekrardan yapılmasına olumlu etki gösterir (Grace, 1994). Ancak reperfüzyonun başlaması ile oluşabilecek doku hasarı iskemi sonrası oluşan hasara oranla daha fazla büyüklükte olabilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016). İskemiye uğramış dokulara tekrar kan akımı gerçekleştiikten sonra endotel hücre

yapılarında meydana gelen morfolojik ve işlevsel değişiklikler stabil fizyolojik mekanizmaların bozulmalarına neden olmaktadır. Reperfüzyon sonrası görülen morfolojik farklılaşmalar sırası ile; pinositik yapılı veziküllerin işlevlerini kaybetmesi, hücre hacimlerinde görülen artışlar, bazal membranın üzerindeki endotel yapılı hücrelerden ayrılması sayılmaktadır. Diğer bir morfolojik değişim ise endotel tabakalı hücre yüzeyine reperfüzyon sonrası aktifleşmiş lökosit yapıların bağlanması söz konusudur (Parvums, 1999). Başlıca iskemi ve reperfüzyon sonrası her iki aşamada da doku değişimleri veya tahribatları meydana gelebildiği için genel olarak bu iki olayın tamamına İskemi-Reperfüzyon (IR) hasarı denilmektedir.

Reperfüzyon sonucu başlıca doku hasarı oluşumu aşağıdaki mekanizmalar ile gerçekleştirilebilir;

- İnflamatuvar Yanıt
- Kompleman Sistemi Aktivasyonu
- Nötrofil- Endotel Etkileşimi
- Sitokin Yapılar ve Diğer Faktörlerin Rolü

1.3.1. İnflamatuvar Yanıt

Reperfüzyon sonrası gerçekleşen inflamatuvar yanıt kompleman sistem, endotel ve polimorf nüveli lökositlerin (PNL) aktifleşmesi ile paralellik göstermektedir. İnflamatuvar cevap, reperfüzyona uğramış bir organda etki göstermesi halinde bazı proinflamatuvar metabolit yapılar ve sitokin benzeri proteinler, dolaşım üzerinden kana karışarak bütün doku veya organlara yayılabilmektedir. Ancak ortaya çıkabilecek proinflamatuvar cevabın sonucu ilk başta gerçekleşmekte olan inflamasyon şiddetiyle orantılı olarak birçok değişik doku sistemlerinde farklılık oluşturabilmektedir. Diğer taraftan aktif forma bürünmüş nötrofil yapılar, birçok iskemik hücre yada doku gruplarının parankimlerinde, infiltre etki göstererek canlı vücudunda ağır hasar oluşumlarından organ yetmezliğine kadar gidebilmektedir (Gourdin vd., 2009).

1.3.2. Kompleman Sistem Aktivasyonu

Kompleman sistem, vücudun kendi bağışıklık sisteminde önemli görevlere sahip proteinler olup karaciğerde üretilmekte ve serumda bulunmaktadırlar. İnflamasyon sonucu inaktif formdan aktif hale geçen kompleman sistem proteinleri vasküler permeabilite üzerinde artışa ve endotele yapışma özelliğine sahip fagositlerin uyarılması gibi olumsuz olayların gelişimine neden olmaktadır (Roos vd., 1995). Kompleman sistem, reperfüzyonun başlaması ile birlikte aktifleşerek C5a ve C3b gibi C kökenli a ve

b tipli proinflatuvar komponentlerin üretilmesini gerçekleştirir. Diğer yandan bu komponentler kemotaksisin uyarımını ve lökositlerin aktivasyonunu sağlamaktadır. Bazı önemli komponentlerin özelliklerine bakıldığında C5a komponenti inflamatuvar yanıtı tetikleyerek tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), kemoatraktan-1 proteini ve interlökin-1 (IL-1) benzeri sitokinlerin oluşumunda görevlidir. C5b-9 komponentinin etkisi ise 3'-5'-siklik guanozin monofosfat (cGMP) miktarını düşürerek damar sertliği olarak bilinen vasküler tonusu yükseltmektedir (Collard vd., 1999). Aktif hale gelen kompleman sistemi endotelial nörofibromatozis (NF)-kappa-B molekülünü aktive etmektedir. Bu protein kompleksi aktifleştikten sonra nötrofil ve endotellerin yüzey kısmındaki L-selektin, P-selektin benzeri adezyon yapıdaki moleküllerin ekspresyon miktarını artırdığı görülmüştür. Ayrıca C3b komponenti de endotelial yüzeydeki nötrofil yapı kan hücrelerinin adezyonundan sorumludur (Eltzschig ve Collard 2004).

1.3.3. Nötrofil - Endotel Etkileşimi

Reperfüzyonla bağlantılı lezyon ve inflamatuvar yanıt oluşumunda nötrofiller ciddi öneme sahiptir (Gourdin ve ark 2009). Nötrofiller, iskemi ve reperfüzyonda ilk aktif hale gelen ve doku hasarı oluşumunda en etkili role sahip hücrelerdir (Siemionow ve Arslan 2004). Öncelikle endotel hücrelerin işlevlerini kaybetmesinin nedeni oksidatif stres olduğu bilinmektedir. Endotel hücreleri, bir yandan SOR oluşumunda ana etken olmasına rağmen diğer yandan SOR için potansiyel hedeftir. Fonksiyonel olarak endoteller, NO ve ET gibi mikrovasküler homeostazda rol alan yapıların oluşumunu gerçekleştirir. NO'nin diğer radikallere oranla reaktivitesi düşüktür ancak farklı radikallerle ve içerisinde metal bulunduran bileşiklerle çok hızlı olarak reaksiyon verebilmektedir (García-Villalón vd., 2008). Ayrıca NO lipid radikalleri ile reaksiyona girerek kendisine antioksidan özellik kazandırabilir. Farklı reaktif özelliklere sahip NO molekül yapıların meydana gelmesinde ilk olarak nitrik oksit sentazın uyarılması sağlanmaktadır. Bu enzimin uyarılması sonucu NO konsantrasyonunda artış gerçekleşir ve buna bağlı oksidasyonların hızlanması sonucu farklı NO yapıları oluşmaktadır. Yeni oluşan reaktif ürünler hücre yapısındaki bazı moleküllerin nitrolizasyonuna ya da nitrozasyonuna sebep olarak birçok protein yapıların işlevlerini kaybetmesine yol açmaktadır (Philips, 2009). Mikrovasküler homeostazda NO ile ET arasında oransal bir denge söz konusudur. Reperfüzyon sonrasında bu oransal dengede bir bozulma gerçekleşir ve ET lehine doğru kaymaktadır. Bu da venlerde vazodilatasyonlara, arteriyellerde ise vazokonstriksiyonlara yol açmaktadır (García-Villalón vd., 2008).

Nötrofillerin inflamasyonlu bölgeye göç işlemi 3 basamakta gerçekleşmektedir. Bu basamaklar sırası ile nötrofillerin endotel tabakaya zayıf adezyonu, yine aynı şekilde endotel tabakaya sıkı adezyonu ve nötrofil göçü olarak gerçekleşmektedir. Nötrofillerin endotel yüzeye zayıf adezyonu, endoteldeki P-selektin ve E-selektin ile PNL yüzeyinde bulunan P-selektin glikoprotein-1 ile etkileşerek endotel yüzeye lökositlerin yapışmasına imkân sağlar. İlerleyen aşamada endotel yüzeye bu yapışmayı nötrofillerin sıkı adezyonu takip etmektedir. Endotel-nötrofil sıkı adezyonu, endotelial intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ile lökosit üzerinde bulunan β_2 integrinler arasındaki etkileşim sonucu gerçekleşmektedir (Gourdin vd., 2009; Anaya-Prado ve Toledo-Pereyra, 2002). Diğer yandan nötrofillerin hücre içi granüllerinde β_2 integrin ekspresyonunu leukotrien serbest oksijen radikal türleri artırmaktadır. Bununla beraber interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-1 (IL-1) ve TNF- α benzeri sitokin yapılarda endotelial ICAM-1 moleküllerinin ekspresyonunu artırmaktadır (Gourdin ve ark., 2009).

Son olarak nötrofil göçü gerçekleşir. Bu basamakta lökositler, endotelial yapı hücreler arası boşluktan girer ve inflamasyon sınırları içerisinde trans-migrasyon olayı gerçekleşmektedir. Nötrofillerin interstisyuma doğru transferini platelet endotel adezyon molekülü-1, immünoglobülin süperfamilyasına ait ICAM-1 molekülünü düzenlemektedir. Aktif hale geçen nötrofiller interstisyuma ulaşmış olsa dahi hipoksiye maruz kalmış hücrelerde ciddi hasarlara sebebiyet vermektedir. Aslında bu hasara neden olan etmenler arasıdonik asit metabolitleri, çok fazla salınan reaktif oksijen türleri ve nötrofil granüllerin içeriği olduğu belirtilmiştir. Ayrıca ekstrasellüler matriksin protein ağını kollajenazlar, proteazlar, elastazlar ve fosfolipazlar gibi moleküller parçalamaktadır (Kumar ve ark 2000).

Kompleman sistem, endotel yapılarıdaki hücreler, serbest halde bulunan oksijen radikalleri ve PNL neden olduğu belirtilmiştir (Collard ve Gelman, 2001).

1.3.4.Sitokinler ve Diğer Faktörlerin Rolü

Sitokinler, genellikle aktif hale geçmiş makrofaj ya da lenfositler gibi hücrelerce salgılanan polipeptitlerdir. Hücreler arası uyarılara karşılık cevap oluşturulmasında ve bazı biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde etkili olan proteinlerdir (Senatorski vd., 2002).

Sitokinler birçok değişik hücrece salgılanır fakat etki olarak aynı özelliği gösterir. Genellikle sitokinler hücrelerin çoğalması, tamiri, gelişimi gibi görevleri olduğu ve salgıların yapıldığı yerlere göre adlandırılmışlardır. Lökositlerce salgılanan sitokinlere interlökinler (IL), monositlerce salgılananlara monokrin ve lenfositlerce salgılananlara

ise lenfokin adı verilmiştir (Dupont vd., 1974; Page, 1991). Ayrıca bilim dünyasında sitokinler üzerine yapılan çalışmalar devam ettikçe bazı farklı hücreler tarafından benzer sitokinlerin salgılandığı tespit edilmiştir. Hücrelere gösterdikleri etkilere göre; kemotaktik sitokinler, immün düzenleyici sitokinler, antiinflamatuvar sitokinler, proinflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörü sitokinleri adı altında 5 farklı bölüme ayrılmışlardır (Hefti, 1993).

Sitokinler birkaç yönden hormonlara benzese de farklı özellikteki hücrelerce sentezlendiğinden dolayı hormon olarak değerlendirilmezler. Benzerlik gösteren yönleri ise herhangi bir hücre sıvısına ya da kana salgılanarak canlının diğer bölgelerinde bulunan hücrel reseptörlere bağlanma özelliğine sahip olmalarıdır (Biller-Takahashi ve Urbinati, 2014).

Sitokinler hücrelere etkilerini sistematik veya lokal olarak göstermektedir. Hücreler arası etkileşimde sitokinler, uzağındaki hücreleri etkilerse endokrin, yakınındaki hücreye etkilerse parakrin, salgılandığı hücreleri etkilerse otokrin etki adı altında isimlendirilmektedirler (Abbas vd., 2021; Guner, 1997).

Hücrelerden salınan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α canlıların doğal bağışıklığının oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Özellikle TNF- α reperfüzyon sonrası inflamatuvar cevabın oluşturulmasında çok önemli paya sahiptir. TNF- α , inflamatuvar cevapta bir çekirdeğe sahip fagositik yapıli hücreleri ve damar yapıdaki endotel hücreleri etkileyerek IL-6 ve IL-1 β sitokinlerinin dolaşıma katılmasına öncülük etmektedir (Carlson, 1999).

1.4. Serbest Radikaller

Son yörünge hattında bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron barındıran genellikle kararsız ve ömürleri kısa olan molekül ya da atomlar serbest radikal olarak adlandırılmaktadır. Yapısal olarak moleküllerdeki mevcut elektronlar eşlenik halde bulunmamaları sebebiyle reaktif ve stabil olarak görülmezler. Fakat herhangi bir şekilde moleküllerden bir elektron kopararak ya da yapıya bir elektron aktarılması sonucu molekül reaktif hale gelebilmektedir (Şener ve Bç, 2009). Serbest radikaller elektriksel yüklerine bakılarak incelendiğinde negatif, pozitif ve nötr olarak bulunabilmektedir.

Canlılar yaşamsal faaliyetlerini sürdürürken hücrel metabolizmalarının işleyişi sırasında kendiliğinden oluşarak biriken, çok fazla arttıklarında ise hücre ölümüne yol açabilen ürünlerdir (Nordberg ve Arner, 2001). Hücrelerde radikal oluşumu, eksojen ve endojen kaynaklı olarak meydana gelmektedir. Eksojen kaynaklı etmenlere bakıldığında karbon tetraklorür gibi ilaç kullanımına bağlı toksikasyonlar, alloksan, parakuat benzeri

kimyasallara maruz kalma durumları sayılmaktadır. Diğer yandan hava kirliliğine sebep olabilen bazı fitokimyasal maddeler, çevresel faktörler ve doksorubisin türü antineoplastik ajanlardan meydana gelmektedir (Mercan, 2004). Endojen kaynaklı serbest radikal oluşumuna ise lipooksijenaz, otooksidasyon, fagositik hücreler, oksidan enzimler ve yaşlanma gibi etmenler neden olarak sayılmaktadır (Southard vd., 1984).

Serbest radikaller, radikal olmayan maddelerle reaksiyona katılmaları sonucu onların da radikal özellik kazanmalarına sebep olmaktadır. Bu durumda, canlı için tehlikeli reaksiyonların başlamasına yol açarak bir takım geri dönüşümsüz ya da dönüşümlü değişimlere sebebiyet vermektedir. Bir başka özellik olarak patolojik olayda veya aerobik solunum sistemlerine sahip hücrelerde yan ürün olabilmektedirler (Halliwell, 1996).

Serbest radikal üretimi birçok olayda pato-mekanizma adı verilen sistemin birer parçasını oluşturup ve birden fazla ksenobiyotiğin toksisitesi ise serbest radikal üretimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çevresel kirleticilerden olan kurşun ve kadmiyum benzeri maddelere uzun süreli maruziyetler, oksidatif strese neden olabilir ki bu, canlılarda istenmeyen sistematik mekanizmaların oluşumunda kendini göstermektedir (Mercan, 2004). Kimyasal olarak serbest radikaller; NO, hidroksil (OH[•]), lipid peroksit ve O[•]-ler gibi farklı formlara sahiptir. Canlı sistemlerde en önemli konuma sahip radikaller oksijen kökenli gruplardır (Mates, 2000).

1.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri Oluşumu

En dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron bulunduran elektrik yüksüz veya yüklü atom grupları ya da moleküller serbest haldeki radikaller olarak adlandırılmaktadır (Akkuş, 1995). Bu radikallerin yaşam süresi kısa olmasının yanı sıra yüklerine göre negatif, pozitif veya nötr yüklere sahip olabilmektedirler. Yapı içerisinde eşlenmemiş elektrona sahip radikal grupları, radikal olmayan gruplar ile etkileşim göstererek bu grupları redükte edip yeni radikal özellikte gruplar oluşturabilmektedir (Halliwell, 1992). Bir başka ifade ile serbest radikaller proton ve elektron sayıları arasında oluşmuş dengesizliği ortadan kaldırmak için hücrelerin bütün materyalleri ile etkileşim gösterebilmektedir.

Canlı vücudunda birçok dış uyarı veya kendi içerisinde gerçekleşen problemler ile ortaya çıkabilen serbest radikal grupları bu bağlamda eksojen ve endojen kaynaklı olarak iki kısma ayrılmaktadır. Endojen kaynaklı radikal oluşumlarına fagositoz üzerinden hücresel ölümleri ve sitokrom p-450 mekanizmasının endoplazmik retikulumda detoksifikasyon işlevini gerçekleştirmesi örnek olarak gösterilmektedir.

Eksojen kaynaklı radikal oluşumlarına pestisitler, radyasyon ve ilaçlar örnek gösterilmektedir (Nakazawa vd., 1996).

Serbest oksijen radikalleri, iskemi sonrası reperfüzyonla dokulara tekrardan O_2 ulaşması ile toksik özelliğe sahip serbest O_2 moleküllerinden oluşmaktadır. Toksik özellikteki bu radikaller hücre membranı üzerinde bulunan lipidlerin yükseltgenerek bozulmasına sebep olur. Ayrıca doymamış yağ asidi özelliğine sahip araşidonik asit oluşumu ile lipid bileşenlerinden prostaglandinin üretimini çoğaltarak lökosit aktivasyonunu sağlar (Toyokuni, 1999). İlerleyen aşamada lökositler ise O_2^- varlığında aktifleşerek vasküler yapıdaki endotel hücrelerle etkileşime girip göç oluşumlarına neden olan yolağı kullanılır hale getirmektedir. Lökositlerin göçünde ilk basamak olarak endotelial P-selektin ve P-selektin glikoprotein-1 ile etkileşimidir. Aktifleşmiş halde dokulara ulaşan lökositler elastaz, proteaz, kollajenaz gibi enzimleri, katyonik proteinleri ve toksik özellikteki oksijen radikallerini oluşturmaktadırlar. Bu sıralı sistemsel olaylar ise ödem, tromboz ve bazı hücre ölümlerine kadar uzayabilmektedir (Carden ve Granger, 2000; Panés vd., 1999).

1.4.1.1. Süperoksit Radikal Oluşumu

O_2^- , hidrojen peroksit (H_2O_2) aracılığı ile O_2 'ye dönüşebilen serbest haldeki O_2 radikallerinin ilkidir (Grace, 1994). Enzimatik olarak üretimleri monosit, makrofaj ve nötrofiller tarafından yapılmaktadır. Endotelial yapıdaki hücrelere hasar verebilen sitokinlerden olup ayrıca hücre membranlarından rahatlıkla geçme potansiyeline sahiptirler. Serbest haldeki radikaller içinde en güçlüsü ve doku hasarı oluşturmaktan sorumlu olan yapılar ise hidroksil (OH^-) radikalleridir (Kılınç, 1985). Bu radikaller hücrel etkilerini lipid peroksidasyonuna sebep olarak membran yapılarında çözümler oluşturup hücre ölümlerini gerçekleştirmek suretiyle göstermektedir (Günel vd., 1998). OH^- radikallerinin bir diğer özelliği ise O_2^- radikallerinin protonlanması ile meydana gelen ve membranlardan rahatlıkla geçme potansiyeline sahip yapılar olmasıdır. OH^- radikalleri etkilerini ise yağ asitleri ile doğrudan reaksiyona girerek gerçekleştirir (Oostenbrug vd., 1997).

O_2 , canlının yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için son derece önemli elementlerden olup karbon, hidrojen (H), kükürt ve nitrojen ile beraber organik yapıli bileşenlerin temel unsurlarını oluşturular (Pham-Huy vd., 2008). Hücrelerde devam etmekte olan metabolik olaylar için ihtiyaç duyulan O_2 'nin %90'ı hücre mitokondrisinde oksidatif fosforilasyon sürecinde harcanmaktadır ve buradaki oksijeninde %1-3'ü ROS'a dönüşmektedir (Cankurtaran, 2005; Muller vd., 2004). O_2^-

radikali oluşumu, O_2 molekülüne bir elektron aktarılması ile gerçekleşir. Karakteristik olarak serbest radikal grubunda yer almasına rağmen yüksek düzeyde reaktif özellik göstermez (Miller ve ark., 1990; Cadenas ve Sies, 1998). Geçmişte yapılan çalışmalar neticesinde yarılanma ömürlerinin oldukça kısa olduğu ve Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi varlığında dismutasyon tepkimelerine katılarak H_2O_2 ve O_2 moleküllerinin oluşumuna neden olduğu görülmüştür (Dugan ve Choi, 1994).

O_2^- radikallerinin diğer bir özelliği ise NO ile reaksiyon göstererek peroksinitrit ($ONOO^-$) adındaki molekülleri oluşturmalarıdır ve bu yeni oluşan molekül, nitrit ve nitrat oluşturmak için metabolize olmaktadır. Diğer yandan azot dioksit (NO_2) ve nitronyum iyonu gibi toksik karakterli ürünlere dönüşebilen peroksinitrit, zararlı etkiler gösterebilen NO sentezinde ana etkindir (Kavas, 1989).

Memeli hücrelerinde mitokondriyal ETS, temel ATP kaynağı olduğu için yaşam süresince daima gereklidir. Bu bağlamda enerji dönüşümü gerçekleşirken minimum oranda görülen elektron kayıpları O_2 molekülünün serbest radikal forma dönüşmesine ve patofizyolojik olarak bazı hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır (Kovacic ve ark., 2005; Valko vd., 2004). ETS üzerinde O_2^- radikali, kompleks I ve kompleks III mekanizması tarafından üretilmektedir. Ayrıca O_2^- ler, mitokondrinin iç kısmındaki membrandan anyonik forma dönüştüğü için rahatlıkla geçişini sağlamaktadırlar (Muller vd., 2004).

1.4.1.2. Hidrojen Peroksit Radikal Oluşumu

Serbest halde bulunan bir radikal grubu olmamasına rağmen hücre membranlarına sızabilme potansiyellerinden dolayı H_2O_2 oldukça önemlidir. Bu radikaller, nötrofillerde bulunmakta olan miyeloperoksidaz enzimi ile hipokloröz asite ($HOCl$) dönüşmektedir. Bu zaman dilimi içerisinde bir yandan geçiş metallerinin oksidasyonu gerçekleşirken diğer yandan OH^- moleküllerinin oluşmasına imkân sağlayarak ROS yapılı moleküllerin meydana gelmesinde aracı rolü üstlenmektedir. Bu radikal grubun diğer bir özelliği ise vücutta sinyal molekülü olarak çalışmasıdır (Rhee, 1999; Sundaresan vd., 1995). Yapısında H atomu bulunduran bu peroksitler O_2 'ye bir çift elektron katılımı ile ya da O_2 'ye yalnız bir elektron eklenmesi ile direkt olarak oluşabilmektedir (Flora, 2007). Her iki farklı metotla üretilmekte olan H_2O_2 radikali glutatyon peroksidaz, peroksiredoksin ve katalaz (CAT) adı verilen antioksidan özellikteki enzim sistemleri tarafından parçalanır (Mates vd., 1999).

1.4.1.3. Hidroksil Radikal Oluşumu

Bu radikal grupları biyomoleküller ile kuvvetli reaksiyon gösterdiğinden dolayı canlı vücuduna başka radikal gruplara kıyasla daha çok olumsuz etki gösterebilir. Serbest radikallerden olan OH⁻ radikali bakır, demir (Fe) ya da farklı geçiş elementleri olan molibden, krom, çinko (Zn), kobalt, mangan ve nikel varlığında OH⁻'ye indirgenerek dönüşebilmektedir. Belirtildiği gibi gerçekleşen bu tür reaksiyonlara fenton reaksiyonları adı verilir ve O₂⁻ radikali bu reaksiyon ile kontak sağlayarak metal iyonlarının yeniden oluşup kullanılmasında önemli bir paya sahiptir. O₂⁻ radikalının varlığında, metal iyonlarının oluşup kullanılmasına kadar gerçekleşen bu iki reaksiyonun tamamına Haber-Weiss reaksiyonları denilmektedir (Betteridge, 2000; Halliwell, 1999).

1.4.2. Serbest Radikallerin Zararları

1.4.2.1. Proteinler Üzerine Etkileri

Serbest radikal grupları, protein yapıları direkt olarak hasara uğrattırırken etkilenme oranlarını ise amino asit içerikleri yada disülfid bağı miktarları belirlemektedir. Bu bağlamda içeriğinde sülfür ve tekli bağ bulunduran tirozin, metionin, sistein, histidin ve fenil alanin benzeri proteinler serbest radikaller ile çok yüksek reaktiviteye sahip olduğu için kolayca etkileşime girerler (Devasagayam ve vd., 2003). Serbest radikaller, birçok yapısal özelliğe sahip proteinlerin enzim aktivitesini ve bazı fonksiyonlarını bozarak hasarlanmalara yol açabilmektedirler. Çeşitli radikal grupları ile oksidasyonlara uğrayan protein yapılar, H₂O₂ gibi yüksek oranda reaktif ve kararlı yeni ürünler oluştururlar. Ayrıca elde edilen bu yeni ürünler ile metal iyonları da reaksiyona katılarak radikal oluşturabilmektedirler. Bir diğer husus doğada oksitlenmiş biçimde bulunan proteinlerin çoğu aktif özelliğe sahip değildir ve süratle uzaklaşma eğilimindedirler. Ancak belirli bir süreden sonra kademeli şekilde birikebilme özelliğine sahip olup birçok hastalığın oluşmasına ve yaşlılıkla alakalı bozulmalara yol açabilmektedir (Sarma vd., 2010).

1.4.2.2. Lipitler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller, hücre içerisinde bulunmakta olan organellerin membran yapısı içinde var olan lipitlere karşı oldukça hassastır. Lipitler, serbest radikal grupları ile etkileşime girmesi nedeni ile ivme kazanır. Bu bağlamda lipit peroksidasyonunu çoğaltıp canlı için olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. Peroksidasyona uğrayan lipitler, toksik özelliğe sahip fazlaca yan ürünlerin oluşumuna neden olur ve yeni

oluşmuş yan ürünlerde ikincil haberci gibi davranarak etkilerini üretildikleri alandan uzak yerlerde gösterirler (Devasagayam vd., 2003). Peroksidasyon sonucu yapısı değişmekte olan lipitlerde hücre membranlarının geçirgenliğini ve akışkanlığını bozarak zar yapısına zarar verebilirler. Ayrıca peroksidasyonu devam etmekte olan lipitlerin metilen grubundan tek hidrojen atomunun ayrılması sonucu C atomu üzerinde eşlenmemiş halde elektron kalır ve radikal oluşması ile sonuçlanır. Yapı içerisindeki moleküllerin yeniden düzenlenmesi ile yeni oluşmuş C radikali konjuge dien'e sabit hale getirilmektedir. İlerleyen aşamada sabit haldeki C radikali O₂ ile tepkimeye katılarak lipit peroksil (LOOH) radikal gruplarını meydana getirirler. Diğer yandan da serbest radikaller C iskeletinden daha fazla H'in uzaklaşması sonucu başka lipit molekülleri ile reaksiyona katılarak LOOH daha belirgin hale getirmektedir (Devasagayam vd., 2003; Fang vd., 2002; Valko vd. 2007) .

1.4.2.3. DNA Üzerine Etkileri

Nükleer ve mitokondrial DNA, serbest radikaller ile reaksiyon oluşturarak ciddi boyutlarda oksidatif hasarlara yol açabilmektedir. Bu hasarlar genellikle OH[•] radikal grupları tarafından gerçekleşmektedir. Genellikle OH[•] radikalleri etkinliklerini primidin yapı üzerindeki C₄-C₅ çift bağı üzerinden gerçekleştirmektedir. DNA ile reaksiyon veren serbest radikaller etkinliklerini şeker kısmındaki H atomlarını koparılmasına veya ilave edilmesine neden olarak gerçekleştirmektedir. Serbest radikallerin DNA üzerine bu tür saldırıları sonucu üre kalıntısı, timin glikol, 5-hidroksi-2'-deoksiüridin, urasil glikol, hidantoin ve 5-hidroksi-2'-deoksitidin benzeri oksidatif özelliğe sahip hasarlı ürünler oluşturmaya neden olmaktadır. OH[•] kökenli radikal grupları pirimidinlerden ziyade pürinlere karşı olumsuz etkiler gösterebilmektedir. Radikal saldırıları sonucu 8-hidroksi deoksiadenozin formamidopirimidin ve 8-hidroksi deoksiguanozin gruplarının meydana gelmesine neden olmaktadır. Ayrıca serbest radikal grupları poli sentetaz enziminin aktivite kazanmasına neden olarak DNA'nın dağılmasına ve apoptik hücre ölümüne sebep olmaktadır (Devasagayam vd., 2004; Fang vd., 2002; Sarma vd., 2010).

1.4.3. Serbest Radikallerin Yararları

Reaktif oksijen ve nitrik oksit radikallerinin (NOR) düşük konsantrasyonlarda olumlu etkiler gösterdiği bilinmektedir. Fonksiyonel olarak vücudun birçok hücresinde hücrel cevaba karşılık H₂O₂, NO ve O₂ radikallerinin oluşumundan söz etmek mümkündür. Diğer bir olumlu özellik olarak ise hücreler etkilerini bazı serbest radikallerin salınım mekanizmasını tetikleyerek göstermektedir. Reaktif özellikteki

nitrik ve O₂ kökenli radikallerin bir diğer yararlı özellikleri arasında makrofaj ve sitotoksik lenfositlerce kanserli doku hücrelerini yok etme, sitokrom p450' nin izoenzim özellik kazanarak ksenobiyotikleri etkisiz hale getirmesinde rol alır. Hücrelerin büyümesi ve mitokondri üzerinden ATP sentezine de neden olmak gibi birçok özellikleri bilinmektedir. Yine konsantrasyonun minimum olduğu ortamlarda reaktif özellikteki nitrik ve O₂ kökenli radikalleri, hücre içerisindeki mevcut depolardan kalsiyum (Ca) salınımı, amino asit grubu içerisinde bulunan tirozin yapıların fosfatlanması ve birçok sitokinlerin aktivite kazanması gibi sinyal mekanizmaları üzerinde etkilerinin de olduğu bilinmektedir. SOR, prostaglandin gibi moleküler yapıların sentezinde rol alarak gelişimlerini uyarmaktadır. Diğer taraftan hücrelerde mevcut O₂ radikalleri çözünmeye uğrayarak guanilat siklaz adındaki enzimin aktivite mekanizmasının oluşumunda etkili olmaktadır. Reaktif O₂'lerin haricinde NO'lerinde birçok spesifik özellikleri bulunmaktadır. Üretiminde nöronların sorumlu olduğu ve transmitter madde özelliğine sahip NO'ler, nöral plastisite oluşumunda en etkili maddelerdendir. NO'lerin bir diğer üretim merkezleri makrofajlar olup bunlarda doğal bağışıklığın oluşumuna aracılık eden kimyasallardır. Son olarak H₂O₂ ve süperoksit radikallerinin ikincil haberciler gibi davrandığı bilinmektedir. Ancak bu radikallerin hücre içerisinde miktarı eşik seviyeyi geçtikten sonra zararlı olma ihtimali de söz konusu olabilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

1.5. Over

1.5.1.Over Anatomisi

Uterusun her iki tarafında yerleşmiş halde bulunan ve badem şekline benzeyen yapılara over denilmektedir. Konum olarak pelvik duvara yakın oluşumlu olup erkek üreme sistemi içerisindeki testislere karşılık gelen organdır. Uterusun kenarlarında bulunan bu yapılar oosit üretimi ve gelişimi ile progesteron ve östrojen hormonlarının oluşturulmasından sorumludur. Ayrıca üretilen bu hormonlar ise gebeliğin oluşumunda ve ikincil seks karakterlerinin gelişimlerinde rol oynamaktadır (Şalcı, 2017).

Yetişkinliğe ulaşmış dişilerde bulunan overler, ovoid görümlü olup ortalama kalınlıkları 1cm, genişlikleri 2 cm ve uzunlukları ise 4 cm kadar olabilmektedir. Yetişkin overler ağırlık olarak 40- 45 gr kadar büyüyebilirken atrofi gibi çeşitli nedenlerle küçülmeye maruz kalmaları durumunda ağırlıklarından 20 gr kadar kaybedebilmektedir (Eşrefoğlu, 2004).

Pelvik boşluğa konumlanmış olan overler infundibulo-pelvik ve suspensoriyum ligamentlerle yerine sabitlenmektedirler. Ovaryumların besin ihtiyacı infundibulo-pelvik bağlarla gerçekleşirken uterusu bağlanması ise suspensoriyum bağlarla sağlanmaktadır (Liu ve ark., 2010).

Overlerin arka (serbest) ve ön (mezoovaryan) olmak üzere iki kenarı, dış ve iç olmak üzere iki yüzü bulunmaktadır. Ayrıca overlerin alt (uterin) ve üst (tubal) olmak üzere iki ucu olup beyaz-pembe rengini de tunika albugineadan almaktadırlar (Gökmen, 2003).

1.5.2.Over Histolojisi

Histolojik olarak overler; kübik, tek katlı ve yassı olarak farklılık gösterebilen yüzey epiteli ile kaplıdır. Bu epitelin iç kısmında bulunan tunika albuginea overi tamamen sarmaktadır (Auersperg ve ark., 2001). Overler iç kısımda medulla, dış kısımda ise korteks bölümlerinden meydana gelmektedir. Medulla ve korteks kısımlarını birbirinden ayıran belirgin bir çizgi bulunmamakla birlikte medulla bölgesi fibroelastik bağ dokudan oluşmuş olup birçok damarı içinde barındıran kısımdır. Korteks kısmı ise folikül barındıran hücrelerce zengin olup hücresel özellikte olmayan kollajenöz bağ dokudan oluşmaktadır. Diğer yandan bu kısım medullayı tamamen çevrelemektedir (Junqueira, 1995; Ross, 1995). Ayrıca folikül hücrelerin beslenimi sinyal iletim özelliğine sahip gap-junctionlar üzerinden granüloza hücreler tarafından sağlanmaktadır (Nishida ve Nishida, 2006). Granüloza hücreleri ise overin farklı yapılarına sahip parankim hücrelerine denilmektedir (Liu ve Li, 2010).

1.5.3.Adneksiyal Torsiyon

Fallop tüplerinin veya overin çeşitli nedenlerle tuboovaryen ve infundibulopelvik ligamanın etrafında ortalama bir tam tur veya bir tam tura yakın dönmesi sonucu kan akımının kesilmesi ya da yavaşlamasına denilmektedir (Breech ve Hillard, 2005).

Adneksiyal torsiyon olayı çok yaygın görülmemekle beraber ciddi morbiditeye ve ani gelişebilen abdominal ağrılara sebep olabilmektedir (Bayer ve Wiskind, 1994). Bayanlarda ilk adet başlamasının hemen öncesi ile reproduktif dönemlerde yaygın olarak görülürken herhangi bir yaşta görülme ihtimali vardır. Fallop tüplerinde yada overlerde meydana gelen torsiyonun, eşik değeri süresini aşması bu üreme organı elemanında sırası ile ödem, renk değişimi ve nekroz sürecine girerek organ kaybına kadar uzayabilmektedir (Nissen ve ark., 1977; Cass, 2005)

Adneksiyal torsiyonun nedeni tam olarak bilinmemekle beraber vakaların çoğunun overlerinde kitle oluşumu görülmektedir. Overlerde torsiyon olayına az rastlanılıyor olsa dahi benign kistik adlı tümör gibi ovaryen kitleleri içinde bulunduran overlerin torsiyona daha yatkın olduğu belirtilmektedir (Junqueira, 1995; Antoniou vd., 2004).

1.6. Antioksidanlar

Serbest radikaller tarafından canlı vücudunda meydana gelen oksidatif stresi bertaraf etme amacı ile kullanılan en etkili savunma silahı antioksidanlardır. Genel özellikleri arasında hücrelerde oluşabilecek hasarlarını durdurabilme ya da engelleyebilme ve serbest radikal gruplarını ortadan kaldırma gibi aktivitelere sahiptir. Antioksidanların üretimi vücut tarafından sentezlenebildiği gibi dışarıdan da alınabildiği görülmüştür. Bu bağlamda canlı savunma mekanizmaları güçlü antioksidanlar varlığında hastalıklara yakalanma ihtimali minimum seviyede seyretmektedir (McCormack ve McFadden 2013; Shinde vd., 2012). Koruyucu özelliklerini ise canlı hücrelerde metabolizma gerçekleşirken son ürün ya da toksik özellikteki ürün oluşumu sırasında üretilmekte olan serbest radikal gruplarını parçalayarak göstermektedir. Antioksidan molekülleri genel olarak hücre içerisinde toksik özellikteki son veya ara ürünlerden oluşan serbest radikal gruplarını bertaraf ederek koruyucu rolde sergileyebilirler (Oikonomidis et al. 2017).

Antioksidanlar, eksojen ve endojen kökenli olup endojen antioksidanlar da enzimatik ve non enzimatik olarak iki gruba ayrılmaktadır. Genel olarak antioksidan yapılar, canlılarda dört farklı şekilde etki oluşturmaktadırlar.

Bastırıcı etki: Oluşumu tamamlanmış oksijen radikalleri ile reaksiyon gösterebilen antioksidanlar bu radikal gruplarına bir hidrojen vererek aktivitelerini yavaşlatması veya durdurabilmesi olayına denilmektedir (Beckman vd., 1994).

Toplayıcı etki: Antioksidan yapıların serbest özellikteki oksijen radikallerini daha zayıf molekül gruplarına çevirebilme özelliklerini kapsamaktadır (Collard ve Gelman, 2001)

Onarıcı etki: Genellikle DNA hasarı sonrası zincir tamirinde görevli enzimlerin özellikleri olarak bilinmektedir (Burkitt ve Duncan, 2000).

Zincir kırıcı etki: Bu özellikteki antioksidan yapılar serbest haldeki O₂ radikal gruplarıyla etkileşerek oksidan yapı içerisindeki bağları kırmaktadırlar (Ozkan vd., 2009).

1.6.1.Endojen Antioksidanlar

1.6.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Enzimsel savunma sistemini oluşturan antioksidanlara CAT, SOD, glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GP_x) örnek olarak gösterilebilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

1.6.1.1.1. Katalaz Enzimi

Dört alt birimden oluşumlu protein yapılar olup bu alt birimlerin hepsinde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) molekülü ve hem grubu bulunmaktadır (Is ve Woodside, 2001; Kirkman,1987). Çoğu CAT enziminde mevcut NADPH molekülü yüzeye yakın mesafeli konumlanmaktadır (Zámocký, 1999). Bu enzimler, genellikle hücre içerisinde aktif organellerde bulunmakta olup küçük moleküler yapıları H₂O₂ radikal bileşenlerin, O₂ ve H₂O'ya dönüşümünden sorumludur (Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009). Ancak bu enzim aktivitesini büyük moleküler yapıları lipid peroksitlerine karşı gösterememektedir. Vücutta yüksek oranda bulundukları yerler genellikle böbrek, kan, karaciğer ve kemik iliğidir. Ayrıca bu enzim bulunduğu hücreyi, respiratuar dağılmaya yönelik korumaktadır (Collard ve Gelman, 2001).

1.6.1.1.2. Süperoksit Dismutaz Enzimi

O₂⁻ radikalini, O₂ ve H₂O₂'e dönüştürebilme özelliğine sahip ve O₂ kökenli radikallere karşı savunma direniş mekanizmasını oluşturan enzimatik özellikteki antioksidandır. O₂⁻ katalizlenmesi sonucu oluşan ürünlerden H₂O₂, GP_x ya da CAT enzimi ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır. İnsan vücudunda üç farklı formda SOD bulunmakta olup yapısına Zn ve Cu dimerik maddelerini bağlayan bakır-çinko süperoksit dismutaz (Cu-Zn-SOD) enzimi sitozolde, ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC-SOD) hücrelerin ekstrasellüler kısmında aktiftirler. Son olarak ise SOD enziminin üçüncü formu mitokondrilerde bulunmakta olan Mn-SOD enzimidir (Sen vd., 2010; Sen ve Chakraborty, 2011; Nordberg ve Arnér 2001). Genel olarak SOD enzimlerinin bütün formları O₂⁻ oluşumlarının etkisiz hale getirilmesinde etkili olabilirler (Zelko vd., 2002).

Yapısal olarak bakıldıklarında sitozolde bulunan sitozolik dimerik Cu-Zn SOD izoenzimi 32 kDa ağırlığında olup eşit iki subuniteli ve hücrelerde en çok bulunan formudur (Mruk, 2002; Nordberg ve Arnér 2001). Bir başka forma sahip mangan (Mn) süperoksit dismutaz Mn-SOD izoenzimi 80 kDa ağırlığında ve aktif bölgelerinde Mn⁺³ atomuna sahiptir. Cu-ZnSOD ile farklı özellikte olmasına rağmen aynı reaksiyonları

katalizlediği görülmüştür (Fridovich, 1995; Orbea, 2001). Üçüncü olarak da EC-SOD izoenzimi 135 kDa ağırlığında olup vücutta genellikle homotetramer yapıdadır ancak multimer, dimer ve tetramer formlara da sahiptir. Alt birimlerinde enzimatik reaksiyonlar için Zn ve Cu atomlarından bulunduran EC-SOD bulunduğu yer genellikle hücre yüzeyleri ve ekstrasellüler matrikstir. Bu iki yer haricinde plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu izoenzimin sentezi ve salgılanımı; fibroblast hücreler, endotel hücreler ve glia hücreleri tarafından sağlanmaktadır. Ekstrasellüler düzeyde O_2^- radikallerini enzimatik olarak parçalayabilen benzersiz bir antioksidan olma özelliği nedeniyle yangı, fibrozis ve oksidan hasarları gibi çokça akciğer rahatsızlıklarından korunmada önemli bir paya sahiptir (Gao vd., 2008).

1.6.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz Enzimi

Oksidatif hasar oluşumuna karşı antioksidan özellik göstermekte olan GP_x hücrelerin sitoplazmasında bulunmaktadır. Genellikle mitokondri ve sitozoldeki yağ asidi veya H_2O_2 kökenli radikal oluşumunda koruyucu etkisini göstermektedir. Yapısal olarak bu enzim protein yapılı dört subuniteden meydana gelmektedir ve genellikle düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında çalışmaktadır. Alt birimlerinde birer selenyum (Se) atomu içermekte olan bu enzim, glutasyonu elektron kaynağı olarak kullanarak DNA, H_2O_2 , lipid hidroperoksitler gibi hidroperoksitleri de metabolize etmektedir. İki farklı forma sahip GP_x enzimi bulunmaktadır. İşlevsel bölgesinde selenyum molekülü barındıran ve selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz ($Se-GP_x$) adındaki enzim bunlardan ilkidir (Sen ve Chakraborty, 2001).

Diğer bir GP_x formu ise aktif alanında selenyum bulundurmayan selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST)'dir. İşlevsel olarak genellikle organik H_2O_2 radikallerinin yok edilmesinde etkili olmaktadır (Cnubben vd., 2001). Bu radikal gruplarının parçalanması gerçekleşirken GSH, H verici özellik göstermekte olup hidroperoksitler veya H_2O_2 'de indirgenmeye uğrarken GSH enzimi de okside olmaktadır. İndirgenme sonucu okside özellik kazanmış olan GSH ayrıca glutasyon disülfid olup ayrıca okside olmuş GSH, glutasyon redüktaz (GR) enzimi aracılığı ile redükte formuna tekrar indirgenebilmektedir. İndirgenme reaksiyonları gerçekleşirken GR, NADPH'yi elektron vericisi olarak kullanmaktadır (Sen ve Chakraborty, 2001; Reiter vd., 1995).

1.6.1.1.4. Glutasyon Redüktaz Enzimi

GR enzimi, okside formdaki GSH'ın disülfid bağlarına NADPH'nin bir elektron aktarmasına yardımcı olarak tekrardan GSH oluşumuna imkân sağlamaktadır. GP_x enzimi aracılığı ile lipit ve H₂O₂'lerin yükseltgenmesi gerçekleşirken GSH molekülü form değiştirerek okside GSH dönüşmektedir. Okside haldeki GSH'ın tekrardan eski haline dönüşümünden sorumlu olan enzim ise GP_x' dir. Yapısal olarak bu enzim flavoproteinlerden flavin adenin dinükleotid (FAD) molekülünü içerir ve kaynak olarak genellikle heksoz monofosfat yolunu kullanmaktadır. Vücut içerisindeki etkilerine bakıldığında GSH oluşumuna imkân sağladığı için NADPH kaynaklı hasar oluşumunu minimuma indirmek için önemlidir (Sen ve Chakraborty, 2001; Özkan ve Fışkın, 2004).

1.6.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Antioksidan aktiviteye sahip olup ancak enzimatik özellik göstermeyen antioksidanlar arasında melatonin, transferrin, α -lipoik asit, ürik asit, bilirubin, koenzim Q10, selenyum, glutasyon ve selenyum sayılabilmektedir (Volka vd., 2007).

1.6.1.2.1. Melatonin

Genellikle pineal bez üzerinden sentezlenip salgılanmakta olan N-asetil-5-metoksi-triptamin (melatonin) birçok farklı noktada da üretilmektedir. Diğer yandan ışığın olmadığı ortamlarda ise triptofan üzerinden sentezlenmektedir (Hevia vd., 2014).

Vücut içerisinde birçok aktiviteye sahip olan melatoninin antioksidan özellikleri arasında zararlı serbest radikal oluşumuna veya etkilerinin azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Hücrelerde bulunmakta olan makromolekülleri oksidatif hasara karşı korumakla da görevli olan melatonin ayrıca lipit veya proteinlerle beraber çekirdek ve mitokondriyel DNA'da oluşabilecek hasarları da bertaraf etmektedir. Antioksidan ve radikal süpürücü aktiviteler gibi birçok farklı özelliklere sahip olan melatonin vücuda geniş çapta yarar sağlamaktadır. Bu bağlamda H₂O₂, OH⁻ radikali, NO, peroksinitrik asit, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonu gibi farklı özelliklere sahip serbest radikaller formlarını ve oluşmuş reaktif ürünleri bertaraf etmektedir. Ayrıca yapısında GP_x, GR, SOD ve CAT bulunan enzim yapılı bazı antioksidanların uyarılmasını tetikler. Bilimsel amaçlı deneysel çalışmalarda γ -glutamilsistein sentetaz enziminin aktivite kazandırılması ile GSH seviyesinin hücre içinde yükselimi sağlanmaktadır. Melatoninin diğer bir özelliği de birçok prooksidatif enzimlerin aktivitelerini de baskılayabilmesidir. Melatoninin farklı bir özelliği ise hücrelerin oksidatif hasara karşı koymasında hücresel zararları sağlamlaştırarak destek olmasıdır. Son olarak da elektron kaçağı ve serbest

radikal oluşumunu minimuma indirmek için elektron taşıma sisteminin aktivitesini yükseltmektedir (Reiter vd., 2001).

1.6.1.2.2. Glutasyon

Genellikle bütün ökaryotik yapıları hücre metabolizmalarında üretimleri gerçekleştiği için vücutta yüksek konsantrasyonlarda bulunan bir antioksidandır. Büyük bir kısmı stoplazma içerisinde bulunsada dahi üretimi tamamlandıktan sonra çekirdek, endoplazmik retikulum, mitokondri ve peroksizomlarda da görülebilmektedirler (Kalinina vd., 2014; Lagman vd., 2015). GSH üretimi için ilk gerçekleşen olay γ -glutamilsistein oluşumudur. γ -glutamilsistein, sistein ve GSH moleküllerinin glutamin-sistein ligaz (GCL) enzimi varlığında birbirlerine bağlanması ile gerçekleşmektedir. Son olarak ise glisin ile γ -glutamilsisteinin GP_x enzimi varlığında birbirlerine bağlanarak GSH oluşumu gerçekleşmektedir (Lagman vd., 2015; Pei vd., 2013). GSH oluşumunda etkili olan Glutamin-sistein ligaz enzimi yapısal olarak katalitik ve düzenleyici rolleri iki subuniteden meydana gelmektedir. Bunlardan ilki glutamin ve sisteinin moleküllerinin birbirlerine bağlanmasında etkili olan katalitik (GCLC) alt birimdir. Diğer alt birimi ise katalitik alt birimin etkinliğini artırmada etkili düzenleyici (GCLM) alt birimdir (Sen ve Chakraborty, 2015).

Tipik bir antioksidan olarak davranmakta olan tripeptit yapıya sahip GSH, canlı sistemler üzerinde birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Bu bağlamda canlıların toksik yapıları maddelerden arınma işleminde H₂O₂ ve lipid peroksitleri GP_x enziminin katalitik etkisi ile parçalar ya da OH ve singlet yapıları O₂ moleküllerini hücreden uzaklaştırır. Diğer spesifik özellikleri ise bazı antioksidan moleküllerinin tekrardan üretilmesinde, hücrelerin redoks konumunu sürdürmesinde, gen ifadesinde, apoptoz üzerinden hücre ölümünde ve eikozonoid yapıları hormonların üretiminde etkili olmaktadır (Sen ve Chakraborty, 2015; Townsend vd., 2003).

1.6.1.2.3. Ürik Asit

Atık bir organik madde olan ve yüksek konsantrasyonlara ulaştığı zaman kristalize forma bürünebilen ürik asit canlı vücudunda provoke gut artritis ve böbrek taşı oluşumuna sebep olan bir bileşiktir. Kanda bulunan toplam antioksidan maddenin yarısına yakını oluşturduğu düşünülen ürik asit geçiş metallerinin bir substrata bağlanması veya komplekslenmesinde görev aldığı belirtilmektedir. Fonksiyonel olarak bir diğer özelliği peroksinitrit anyonunu, H₂O₂, singlet yapıları O₂ ve OH⁻ moleküllerini etkisiz hale getirmesidir. Kuvvetli serbest radikal temizleyici özelliğinin yanı sıra lipid

peroksidasyonlarının engellenmesinde koruyucu özelliğe ve demir benzeri iyonların şelatlanmasında rol aldığı bilinmektedir (Kumar vd., 2015; Waring, 2002). İnsan vücudu üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde pürin moleküllerinin daha küçük yapılara parçalanması sonucu son oksidasyon ürünü olan ürik asit oluşmaktadır. Ksantin oksidoredüktaz enzimi ile hipoksantin molekülünün ürik asite dönüştürüldüğü son metabolik olayda bu dönüşüm işleminin bir parçası olarak ROS oluşmaktadır. Bu katabolik reaksiyonlarda etkili olan ksantin oksidoredüktaz enzimi için en önemli üretim merkezleri bağırsaklar ve karaciğer organları olduğu da bilinmektedir (Iliesiu vd., 2010).

1.6.1.2.4. Albümin

Yüksek oranda çözünebilme potansiyeline sahip albümin proteini 66 kDa ağırlığında bir molekül olup 585 aminoasit içermektedir. Kan plazmasında yaklaşık 35-50 mg/ml arasında değişmekte olup canlı için bazı farmakolojik ve fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Canlı vücudunda en etkili ve en önemli antioksidan olma özelliği ile beraber vücudun farklı kısımları arasında ozmotik basınç ve sıvı dağılımının dengelenmesinde çok önemli bir paya sahiptir. Gelişimini tamamlamış ve herhangi bir sağlık problemi bulunmayan yetişkinlerde albümin içerisindeki sistein 34 molekülünün birçok işlevi bulunmaktadır. Yapısal olarak albümin içerisinde bulunan sistein 34 molekülünün ortalama %75'i serbest halde sülfidril gruplarından oluşmaktadır. Kalan sistein molekülleri ise GSH benzeri farklı bileşik yapılar ile disülfid bağları meydana getirirken ayrıca indirgenmeye uğramış sistein 34 molekülü de ortamdaki mevcut OH⁻'yi temizleme özelliğine sahiptir. Aktif haldeki fagositler tarafından salınan myeloperoksidaz adındaki enzimler, oksidan özelliğe sahip HOCl üretimini gerçekleştirmektedir. Albümin proteini diğer bir fonksiyonu ise oksidan özellikteki HOCl'i temizleyerek bu asitin, α -antiproteaz enziminin biyolojik hedefi olmamasını sağlamaktadır (Roche vd., 2008).

1.6.1.2.5. Bilürubin

Bu molekül başlıca normal ömrünü tamamlamış kırmızı alyuvar hücrelerinden olan eritrosit yapıların parçalanması ile bu eritrositlerin içerisinde bulunan hem yapılı proteinlerin bozulması sonucu oluşmaktadır. Dışarıya atılımı idrar ve safra üzerinden biyotransformasyona uğrayarak gerçekleşirken hücre içerisine ise bazı aktivitelerini gerçekleştirmek için karaciğer organı tarafından dolaşım esnasında gerçekleşmektedir. Hücre içerisinde birçok fonksiyona sahip ve aynı zamanda kuvvetli bir antioksidan

özellik gösterebilen bilirubin zararlı etkilere sahip peroksil gruplarının yapısında değişimlere neden olarak zincir kırıcı aktivitelere sahip protein yapılı bir moleküldür (Kasnak ve Pamukoğlu, 2015).

1.6.1.2.6. α -Lipoik asit

İndirgenmesi sonucu dihidrolipoik asit (DHIA) olarak adlandırılan 1,2-ditiolan-3-pentanoik asit (α -Lipoik) asitler her iki formda da kuvvetli antioksidan özellik göstermektedirler. Oksidan süpürücü özelliğe sahip α -Lipoik asit, HOCl ve OH⁻ gibi birçok serbest radikalleri temizleme özelliğine sahiptirler. Ayrıca α -Lipoik asitlerin bir başka formu olan dihidrolipoik asit peroksil ve O⁻ radikallerine karşı da süpürücü özelliğe sahiptir. Genel olarak dihidrolipoik asit ve α -Lipoik asit türleri reaktif nitrojen yada O₂ türlerinin bazılarına karşı süpürücü etki göstermektedir (Packer vd., 2001).

1.6.1.2.7. Koenzim Q₁₀

Benzokinon bileşiklerinden olan ve üretimi insan vücudunda gerçekleşmekte olan Koenzim Q₁₀, vitamin benzeri yapıda olup yağda çözünebilen maddelerdir. Fonksiyonel olarak hücre solunum mekanizmalarında veya aerobik metabolizmalarda enerji üretimi için çok önemli rollere sahip protein yapılarıdır. Ubikinon olarak adlandırılan koenzim Q₁₀' un vitaminlere birçok bakımdan benzese de vitamin olarak kabul görmeme nedeni hayvan veya insan vücudunda sentezlenmesidir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Ubikinon bileşiklerinden olan koenzim Q₁₀, insan hücreleri tarafından tirozinden üretilmekte olup ve lipoprotein yapılar haricinde birçok hücre membran yapılarında bulunmaktadır. Bir diğer özellikleri ise mitokondri iç membranında bulunan kompleks I, II, III enzimleri dahil birçok enzim için kofaktör olarak görev yaparak oksidatif fosforilasyon sürecinde etkili olmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Fonksiyonel olarak canlı vücudunda protein ve lipid peroksidasyonlarının baskılanmasında ve serbest radikal gruplarının parçalanmasında standart bir antioksidan olarak iş görmektedirler. İndirgenmeye uğradığında ubikinol (CoQH₂) forma dönüşerek lipofilik yapılı bir antioksidan olarak davranıp ayrıca elektron taşıma zincirlerinde proton ve elektronların taşınmasında rol almaktadırlar. Oksidanları etkisiz hale getirmek için elektron verme potansiyeline sahip ubikinol bu işlevi gerçekleştirirken çok yüksek antioksidan etki göstermektedir. Bu olaylar doğrultusunda koenzim Q₁₀, H₂O₂ gibi reaktif oksijen türlerine karşı kayda değer koruyucu özellik göstermektedir. Birçok fonksiyonel özelliklerinin yanı sıra sinerjik olarak α - tokoferol ile uyumlu şekilde

çalışma ve tekrardan aktif özellik kazanabilme aktivitelerine sahiptirler (Gürkan ve Bozdağ, 2005).

1.6.1.2.8. Selenyum

Fonksiyonel olarak bağışıklık düzenleyici ve antioksidan özellik gösterebilen kimyasal özellikte bir elementtir. Fonksiyonel olarak aminoasit sentezinde kullanılmakta olan selenyum ayrıca selenoproteinlerin işlevlerinin düzenlenmesinde etkili olmaktadır. Yaklaşık olarak vücutta 25 selenoprotein türünün varlığı bilinirken sınıflandırılması ise antioksidan proteinler, antioksidan enzimler ve birçok metabolik reaksiyonlarda görev alan enzimlerin fonksiyonlarına göre yapılmaktadır. ROS'lara karşı selenyum elementi, GP_x aktivitesini artırarak radikal oluşumlarının durdurulmasında etkili olmaktadır (Kim vd., 2014).

1.6.1.2.9. Seruloplazmin ve Transferrin

Antioksidan özelliğe sahip seruloplazmin ve transferrin beyin dahil çoğu dokuda üretilmekte olan proteinlerdir. Seruplazmin kanda bulunmakta olan bakırın tamamına yakını taşımaktan sorumlu a₂ serum glikoproteindir. Cu metabolizmasında seruloplazmin taşıma işlemini bakıra geri dönüşümlü bağlanarak gerçekleştirmektedir. Fonksiyonel olarak eritrosit membranlarında var olan doymamış yağ asitlerini aktif haldeki O₂ moleküllerinin olumsuz etkilerinden korumaktadır. Transferrin taşıyıcı proteini ise genel olarak ferritin (Fe⁺³) elementlerinin dokulara aktarımında görev alan ve hücreler için önemli büyüme faktörü sayılmakta olan proteinlerdir. Yoğun olarak serum üzerinde bulunmakta olan transferrin molekülleri düşük konsantrasyonlarda dahi olsa vücudun diğer kısımlarında da bulunur. Fenton tepkimeleri ile ferröz iyon (Fe⁺²) molekülleri, H₂O₂ bileşiklerini daha fazla toksik özellikteki OH moleküllerine dönüşümünü sağlayarak oksidatif hasarlanmalara kadar uzayabilecek bir takım problemlere neden olabilmektedir. Bu bağlamda transferrin proteinleri ise ferröz iyon yoğunluğunu düşürerek antioksidan özellik göstermektedir (Chauhan vd., 2004).

1.6.2. Eksojen Antioksidanlar

İlaç ve eksojen kökenli antioksidanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadırlar.

1.6.2.1. E Vitamini

E Vitamini, yağda çözünebilme özelliğine sahip olmakla beraber iyi bir antioksidan kapasiteye sahip bir vitamin grubudur. Yapısal olarak asimetric özellikteki

sekiz stereoizomeri olan bir bileşiktir. Bu sekiz stereoizomer formlar α , β , γ , δ tokotrienol ve α , β , γ , δ tokoferol olarak adlandırılmaktadırlar. İnsan vücudunda biyoaktif özellikteki en etkili stereoizomer grup α -tokoferol yapılarıdır. Canlı vücudunda fonksiyonel olarak birçok fonksiyona sahip α -tokoferol, hücre zarlarını serbest radikal moleküllerinin oluşturabileceği tahribatlardan ve lipid peroksidasyonlarından korumaktadır. E vitamini genel olarak prostat, kardiyovasküler rahatsızlık, göğüs kanseri, artrit, iskemi, kolon ve bazı nörolojik rahatsızlık oluşumlarına karşı koruyucu özellik gösterebilmektedir (Pham-Huy vd., 2008).

E vitamini, serbest radikaller üzerinde etkilerini peroksidasyon mekanizmasını parçalayarak O_2 moleküllerinin genellikle O_2^- ya da $OH^\cdot$ ye indirgeyerek sağlamaktadır. Genel olarak bu vitamin oluşan radikal moleküllerini parçalama, zincir kırma, endojen kaynaklı koruyucu özellikteki mekanizmaların kuvvetlendirilmesi ve mekanizması bozulan yapıların onarılması gibi birçok hücresel olayda etkili olduğu için antioksidan etkisi fazla ve geniştir. Ancak bu vitaminin hücre zarında gösterdiği etkiyi hücre dışında çoğunlukla GP_x enzimi üstlenmektedir (Dündar ve Aslan, 1999).

1.6.2.2. C Vitamini

C Vitamini, suda çözünebilme potansiyeline sahip olan ve askorbik asit olarak da isimlendirilen bir vitamindir. Karnitin, nörotransmitter ve kollojen gibi protein içerikli yapıların biyosentezinde önemli bir yere sahiptir (Li ve Schellhorn, 2007). Oksidatif hasarlara karşı $HOCl$, peroksinitrit, singlet oksijen, hidroperoksil gibi reaktif haldeki nitrojen ve O_2 formlarını etkisiz hale getirerek oluşabilecek hücresel hasarlara karşı koruyucu rol üstlenmektedir. Ayrıca C vitamini, lipid türevleri içerisinde çözünme potansiyeline sahip radikal grupların parçalanması nedeniyle oluşmakta olan α -tokoferoksil radikal gruplarından α -tokoferol bileşiklerini meydana getirerek bir koantioksidan gibi davrandığı gözlemlenmiştir (Carr ve Frei, 1999). Diğer yandan Fe^{+3} molekülünü lipid peroksidasyonunu hızlandırabilen Fe^{+2} molekülüne dönüşümünü sağlayarak oksidan özelliğe de sahip olduğu gözlemlenmiştir (Dündar ve Aslan, 1999).

1.6.2.3. Folik Asit

Diğer adları sırası ile M Vitamini, B_9 vitamini, pteroilglutamik asit olan ve B vitamini ailesi içerisinde yer alan folik asit, alyuvar ve DNA sentezi için oldukça önemli bir yere sahip vitamin grubudur. İnsan üreme sistemi üzerinde birçok fonksiyona sahip olan bu asit çocukluk ve gebelik gibi zaman dilimlerinde oldukça önemlidir. Ayrıca erkek bireylerde spermatogenezis ve normal hücre bölünme aşamalarında da rol

almaktadır. Diğer yandan folik asit gerek yalnız gerekse birçok B vitamini ile beraber plazmada bulunan aminoasit içerikli homosistein seviyesinin azalmasında etkili olmaktadır. Bunlara ilaveten folik asit ROS'ların temizlenmesinde oldukça önemlidir (Ebaid vd., 2013; Title vd., 2000).

1.6.2.4. β -karoten

Karotenoid ailesinin yağda çözünme potansiyeline sahip bir elemanı olan β -karoten, aktif A vitamini formuna dönüşebilme özelliği gösterebildiği için provitamin olarak kabul edilmektedir. Göz organı karanlıkta görme işlevini retinada β -karotenin retinole dönüşüme uğraması sonucu gerçekleştirir. Ayrıca iyi bir antioksidan olan β -karoten çok iyi bir O_2 molekülü temizleme özelliğine sahiptir (Pham-Huy, 2008).



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Çalışmanın materyalini 3 aylık yaşta ve yaklaşık 250 gr ağırlığında bulunan 40 adet Wistar albino ırkı dişi rat oluşturdu. Aronya ekstraktı (Dr. Aronia®, Aronya Gıda, Türkiye) yerel bir firmadan alındı. Aronya bitkisinin toplam fenolik içeriği Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde bakıldı. Fenolik içerik aşağıdaki tablo içerisinde gösterilmiştir;

Tablo 1. Fenolik madde profili (µg/mL)*

Protokatekuik asit	229.8
Klorojenik asit	149.48
Kafeik asit	245.2
Rutin	73.54
Kumarik asit	24.84

*Fenolik madde profilinde (1)Gallik asit, (2)Protokatekuik asit, (3)Klorojenik asit, (4)p-OH benzoik asit, (5)Epikateşin, (6)Kafeik Asit, (7)Şiringik Asit, (8)m-OH benzoik asit, (9)Rutin, (10)Ellagik Asit, (11)p Kumarik Asit, (12)Ferulik Asit, (13)Mirisetin, (14)Resveratrol, (15)Daidzein, (16)Luteolin, (17)Kuersetin, (18)t-Sinamik asit, (19)Apigenin, (20)Hesperetin, (21)Ramnetin, (22)Krisin, (23)Pinosembrin, (24)CAPE, (25)Kurkumin standartları ile çalışılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan izin alındı (16.6.2021 tarih ve 02 sayılı karar).

2.2. Bakım, Besleme ve Barınak

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Adaptasyon amacıyla deneye başlamadan bir hafta önce ratlar kafeslere alındı. Ratlar, polikarbonat malzemeden yapılmış şeffaf kafeslerde barındırıldı. Yem ve suları ad libitum olarak verildi. Altlık olarak talaş kullanıldı. Hayvanlar, oda sıcaklığında (22±2 °C) ve günlük 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık bir ortamda tutuldu.



Şekil 1. Ratların barındırıldığı kafesler

2.3. Yöntem

Ratlar rastgele 5 gruba ayrıldı. Her grup 8 tane hayvandan oluştu. Gruplardaki ratlara aşağıda belirtilen doz ve sürelerde uygulama yapıldı.

1- Kontrol (Sham) grubudur (n=8): Bu gruptaki hayvanlar, herhangi bir uygulama yapılmadan anestezi edildikten sonra sakrifiye edildi ve daha sonra kan ve ovaryum dokuları alındı.

2- İskemi-reperfüzyon (IR) grubu (n=8): Anestezi edilen hayvanların ovaryum bölgesi açılarak ovaryumlarda iskemi oluşturuldu. Overde 60 dakika iskemiye takiben yeniden kan akımına izin verilerek 24 saat reperfüzyon uygulandı. Daha sonra sakrifiye edilen ratlardan kan ve doku örnekleri alındı.

3- Ary1 grubu (n=8): Ovaryuma 60 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Aronya ekstraktı günlük 2.5 ml/kg dozda deneyden bir hafta önce başlanarak gavaj yoluyla 7 gün boyunca verildi.

4- Ary2 grubu (n=8): Bu grupta da aynı şekilde 60 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı ve aronya ekstraktı (5 ml/kg) deneyden bir hafta önce başlanarak gavaj yoluyla 7 gün boyunca verildi.

5- Ary3 grubu (n=8): Sonuncu olan bu grupta 60 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulanmış olup 10 ml/kg dozda aronya ekstraktı deneyden bir hafta önce başlanarak gavaj yoluyla 7 gün boyunca verildi.

Yukarıdaki dozlar ve uygulama sürelerinin belirlenmesinde daha önceden yapılmış çalışmalar esas alındı (Valcheva-Kuzmanova ve ark., 2005; Valcheva-Kuzmanova ve Zhelyazkova-Savova, 2009; Valcheva-Kuzmanova ve ark., 2014).

Gruplarda genel anestezi altında laparotomi ve IR deneyleri yapıldı. Bütün gruplarda laparotomi operasyonu öncesi ksilazin (5 mg/kg) ve ketamin (60 mg/kg) protokolü kullanılarak anestezi sağlandı. Ratlarda ensizyonlar abdominal bölgenin dorsalinden yapıldı. Ensize edilen bölgeden ovaryumun damarlarına klemp uygulanarak iskemi oluşturuldu. Açıkta kalan bölge serum fizyolojikle ıslatılmış steril gazlı bezlerle örtüldü (Şebin, 2019). Deney süresinin sonunda anestezi etkisindeki ratlardan örnekler alındıktan sonra eksanguinasyon ile sakrifiye edildi. Biyokimyasal analizler için alınan ovaryum dokusu ve serum örnekleri analiz yapılncaya kadar -20°C’de saklandı. Hayvanlardan alınan kan ve ovaryum dokusu örneklerinde SOD, CAT ve MDA düzeyleri belirlendi. Hayvanlardan alınan ovaryum doku örnekleri histopatolojik değerlendirme için %10'luk formol çözeltisine konulup +4°C de muhafaza edildi. İmmünohistokimya tekniğiyle Interlökin -1 beta, Interlökin 6 ve Tümör nekrozis faktör alfa immünreaktivitesi belirlendi.



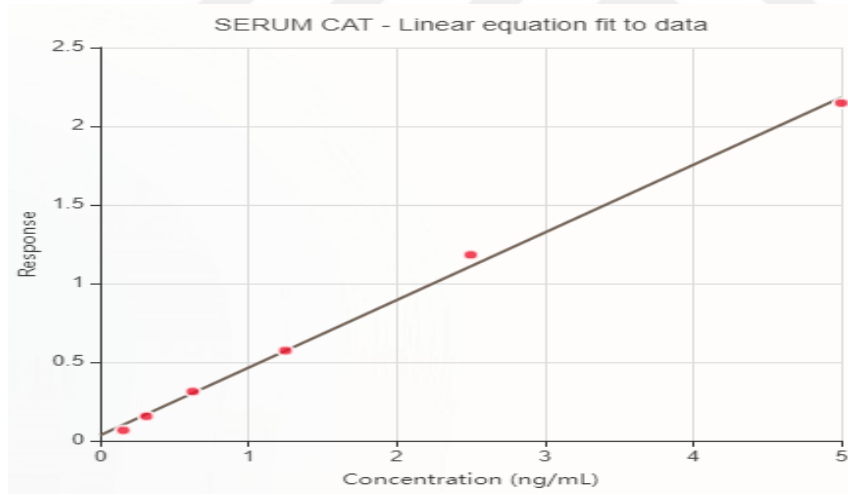
Şekil 2. Operasyonların yapıldığı ameliyathane

2.3.1. Doku Homojenatının Hazırlanması

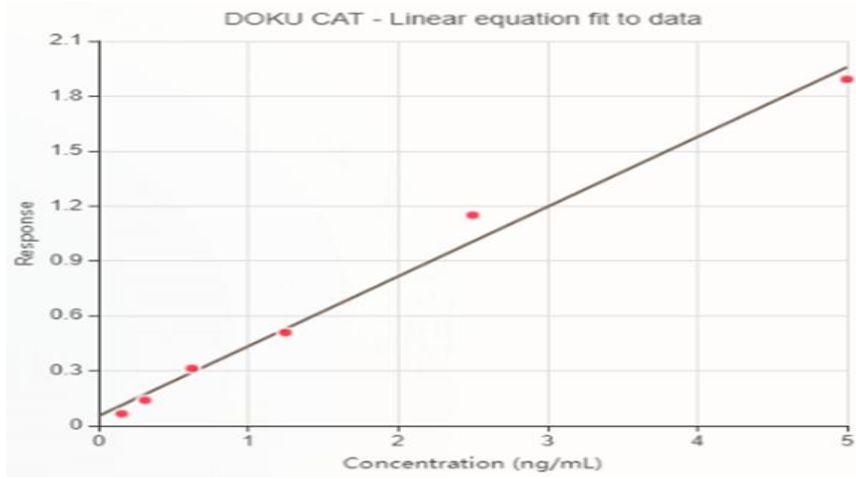
Her bir örnek hassas terazide 1 g olacak şekilde tartılarak 2 ml'lik ependorflara alındı. Örneklerin üzerine 1 ml PBS eklendi. Örnekler homojenizatörde (Next Advance, Inc., Averill Park, NY, USA) Next Advance marka zirkonyum oksit boncuklar kullanılarak 3 dakika boyunca parçalandı. Ardından homojenatlar 5000x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı testlerde kullanılmak üzere 1,5 ml'lik ependorflara alındı.

2.3.2. Katalaz Düzeylerinin Ölçümü

Serum ve dokuda katalaz (CAT) ölçümü USCN marka Rat CAT ELISA ölçüm kiti (Catalogue No: SEC418Ra) ile yapıldı (Wuhan USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China). Absorbans okuması Chromate 4300 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Ölçüm 450 nm'de yapıldı. Veriler lineer regresyon analizi kullanılarak hesaplandı (Şekil 3 ve 4). Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



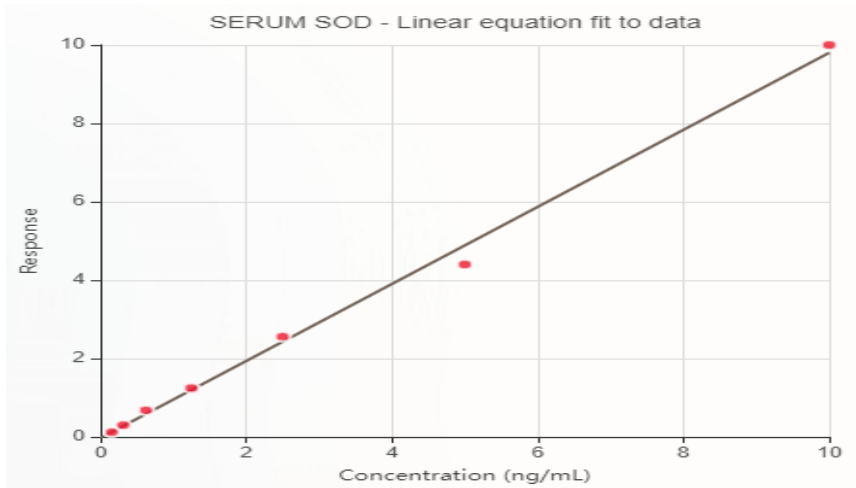
Şekil 3. Serum CAT sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.994)



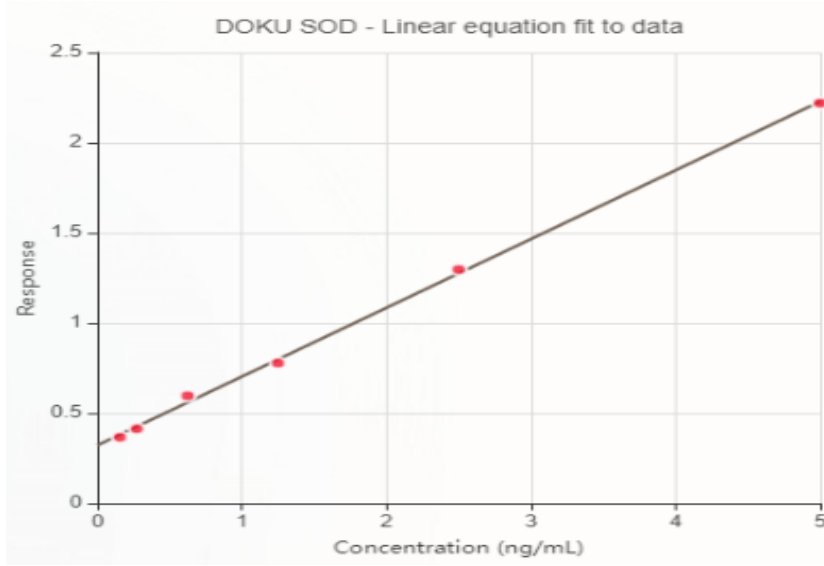
Şekil 4. Doku CAT sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.982)

2.3.3. Superoksit Dismutaz Düzeylerinin Ölçümü

Serum ve dokuda Superoxide Dismutase (SOD) ölçümü USCN marka Rat SOD ELISA ölçüm kiti (Catalogue No: SES134Ra) ile yapıldı (Wuhan USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China). Absorbans okuması Chromate 4300 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Ölçüm 450 nm’de yapıldı. Veriler lineer regresyon analizi kullanılarak hesaplandı (Şekil 5 ve 6). Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



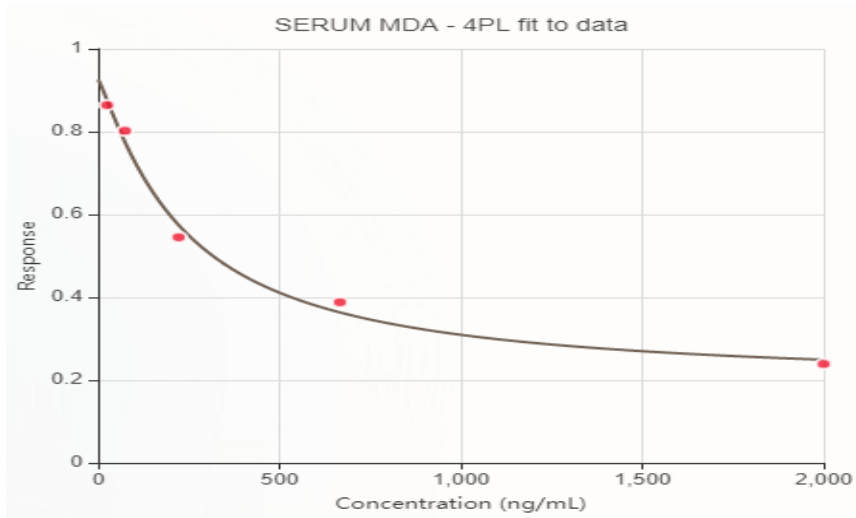
Şekil 5. Serum SOD sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.982)



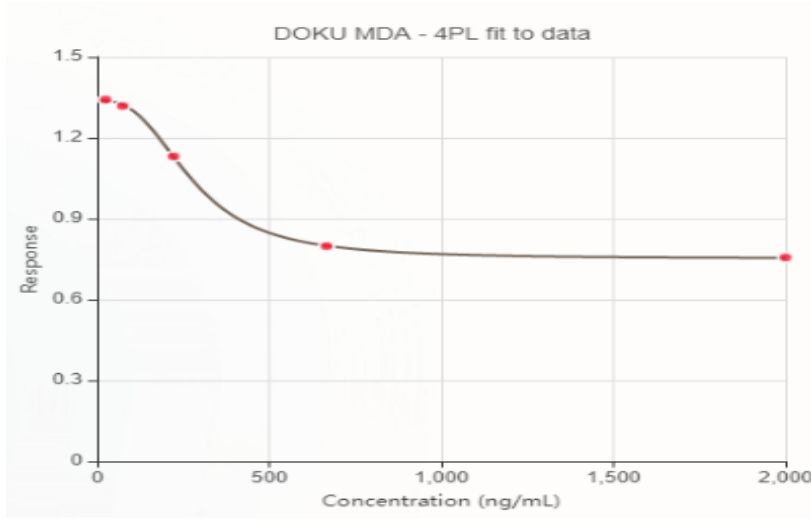
Şekil 6. Doku SOD sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.998)

2.3.4. MDA Düzeylerinin Ölçümü

Serum ve dokuda Malondialdehit (MDA) ölçümü USCN marka Rat MDA ELISA ölçüm kiti (Catalogue No: CEA597Ge) ile yapıldı (Wuhan USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China). Absorbans okuması Chromate 4300 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Ölçüm 450 nm'de yapıldı. Veriler 4- parametrelili lojistik regresyon analizi kullanılarak hesaplandı (Şekil 7 ve 8). Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



Şekil 7. Serum MDA sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.987)



Şekil 8. Doku MDA sonuç grafiği (R^2 değeri: 0.998)

2.3.5. Histopatolojik Analizler

Tespit edilen doku örneklerini formalinden uzaklaştırmak amacıyla akarsuda bir gece yıkandı. Ardında rutin patolojik doku takibine alınarak dereceli alkol (50%, 75%, 96%, 100%) ve ksilol serilerinden geçirildi ve parafinde bloklandı. Hazırlanan bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler Leica RM 2125 RT ile ilk üç kesit ve her onuncu kesitler lamlara alındı. Hazırlanan preparatlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Tüm örnekler yüksek çözünürlüklü ışık mikroskopunda deneyimli bir veteriner patolog tarafından (Olympus DP-73 camera, Olympus BX53-DIC microscope; Tokyo, Japan) incelendi. Doku yapılarında tespit edilen tüm değişiklikler, bulgunun varlığına ve durumuna göre not edildi ve derecelendirildi (0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli).

2.3.6. İmmunohistokimyasal Analizler

Daha önce hazırlanmış olan parafin bloklardan Poly-L-lysine kaplı cam lamlara 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak rutin deparafinizasyon ve rehidrasyon yöntemlerinden sonra streptavidin-biotin- peroxidase complex (ABC) tekniğine göre boyandı (Zymed, Histostain Plus Kit, California, USA). Dokulardaki antijen retrieval amacıyla citrate buffer (pH 6.0) ile mikrodalgada 20 dakika ısıtma işlemi uygulandı. Endojen peroksidaz aktivasyonu 10 dakika 0.01M PBS içindeki metanolde %0.3 hydrogen peroxide ile bloklandı. Dokular primer antikordan önce 30 dakika %5 normal goat serum ile inkübe edilerek protein bloking yapıldı. Kesitler TNF alpha (1:50, ab6671; Abcam, Cambridge, USA), IL-1β (1:200, sc-52012, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Texas, U.S.A.) ve IL-6 (10 µg/mL, RPA079Ga01-Recombinant Interleukin 6; Cloud-Clone Corp. (CCC, USA)) primer antikorları ile oda sıcaklığında 60 dakika

inkübasyonda bırakılarak işaretlendi. Dokular rabbit anti-mouse biotinylated seconder antikorunda 30 dakika inkübe edildikten sonra streptavidin-peroxidase conjugate ile 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonu görünür yapmak amacıyla kesitlere diaminobenzidine (DAB, Dako/Denmark) kromojeni damlatılarak 10 dakika bekletildi. Son olarak kesitler arka boyama için hematoksilin ile 1-2 dakika boyandıktan sonra akarsuda yıkandı. Dokular dereceli alkol ve ksilol serlerinden geçirilerek entellan ile yapıştırıldı. Bütün boyama prosedürü oda sıcaklığında ve nemli kameralarda gerçekleştirildi. Boyama aşamalarında kesitleri yıkama amacıyla phosphate buffered saline (PBS) solüsyonu kullanıldı. Elde edilen veriler yüksek çözünürlükle (Olympus DP 73 camera, Olympus BX53-DIC microscope; Tokyo, Japan) mikroskop altında her örnek için X40 ve X100 büyütmelede belirlenen immunopozitif hücreler sayılarak kaydedilerek skorlandı. Boyama indeksleri aşağıdaki gibi hesaplandı. Negatif: 0 (< %1 pozitif); hafif: 1 (%1–25 pozitif); orta: 2 (>%25–75 pozitif); ve şiddetli: 3 (>%75 pozitif).

2.4. İstatistikî Analiz

Elde edilen değerler excel dosyasına tablo formatına uygun olarak girildi. Ölçümler SPSS programı (SPSS 20.0) kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi, farklılığı oluşturan grupların tespitinde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada 40 adet rat kullanıldı. Ancak IR grubundaki bir hayvan, operasyondan hemen önce bilinmeyen bir sebeple öldü. Bundan dolayı 7 hayvanın örneği değerlendirildi.

3.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Kandaki antioksidan ve oksidan seviyenin karşılaştırılması için serumda SOD, CAT ve MDA düzeyleri belirlendi (Tablo 2). Grupların kanlarındaki enzim düzeyleri Kruskal-wallis testi ile karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki farklılığın istatistikî olarak önemli olduğu tespit edildi ($P<0.05$). IR grubu ile kıyaslandığında MDA seviyesi Ary1 grubunda anlamlı bir şekilde daha yüksekti ($p<0.05$). Yine IR grubu ile karşılaştırıldığında CAT düzeyi Ary2 ($p<0.001$) ve Ary3 gruplarında daha düşüktü ($p<0.01$). SOD seviyesi de IR grubuna kıyasla Ary1 ($p<0.01$) ve Ary3 gruplarında anlamlı bir şekilde daha yüksekti ($p<0.05$).

Tablo 2. Serumda MDA, CAT ve SOD düzeyleri (ng/ml)

Gruplar	n	MDA	CAT	SOD
Kontrol	8	425.6 $\pm$ 37.29	2.62 $\pm$ 0.43*	1969 $\pm$ 0.11*
IR	7	508.7 $\pm$ 35.22	4.81 $\pm$ 0.34	1493 $\pm$ 0.05
Ary1	8	676.5 $\pm$ 33.02*	3.75 $\pm$ 0.70	1819 $\pm$ 0.06*
Ary2	8	604.9 $\pm$ 46.20	1.68 $\pm$ 0.23*	1688 $\pm$ 0.18
Ary3	8	583.2 $\pm$ 84.87	1.87 $\pm$ 0.40*	1919 $\pm$ 0.15*

Grupların parametreleri ortalama $\pm$ std hata olarak verildi.

* İşareti ile gösterilen aynı sütundaki ortalamalar IR grubundan önemli bir şekilde farklıdır ($p<0.05$).

Ovaryum dokusundaki antioksidan ve oksidan seviyenin karşılaştırılması için doku homojenatlarında SOD, CAT ve MDA düzeyleri belirlendi (Tablo 3). Grupların enzim düzeyleri Kruskal-wallis testi ile karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki farklılığın istatistikî olarak önemsiz olduğu tespit edildi ($P>0.05$).

Tablo 3. Ovaryumda MDA, CAT ve SOD düzeyleri (ng/ml)

Gruplar	n	MDA	CAT	SOD
Kontrol	8	655.2 $\pm$ 55.37	16.24 $\pm$ 0.77	161.24 $\pm$ 6.95
IR	7	720.1 $\pm$ 66.35	16.81 $\pm$ 1.04	161.9 $\pm$ 5.71
Ary1	8	749.5 $\pm$ 84.18	14.79 $\pm$ 1.41	176.1 $\pm$ 13.45
Ary2	8	677.3 $\pm$ 39.53	15.06 $\pm$ 1.23	169.5 $\pm$ 9.52

Tablo 3. (Devamı)

Gruplar	n	MDA	CAT	SOD
Ary3	8	553.4 ± 55.66	16.08 ± 1.12	175.3± 10.59
P değeri	-	-	-	-

Grupların parametreleri ortalama ± std hata olarak verildi. P değeri 0.05 kabul edildi.

3.1. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarında ödem, dilatasyon, konjesyon, hemoraji, nekroz, dejenerasyon ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu (PMN) histopatolojik olarak belirlendi (Tablo 4, 5, 6, 7 ve 8).

Tablo 4. Kontrol grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması

Skor	Ödem	Dilatasyon	Konjesyon	Hemoraji	Nekroz	Dejenerasyon	PMN
0	7	8	7	8	8	8	8
1	1	0	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0

Tablo 5. IR grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması

Skor	Ödem	Dilatasyon	Konjesyon	Hemoraji	Nekroz	Dejenerasyon	PMN
0	0	1	0	0	1	1	1
1	1	0	1	1	0	0	0
2	1	5	0	0	3	0	6
3	5	1	6	6	3	6	0

Tablo 6. Ary1 grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması

Skor	Ödem	Dilatasyon	Konjesyon	Hemoraji	Nekroz	Dejenerasyon	PMN
0	0	1	0	0	2	1	2
1	2	1	1	1	0	1	0
2	4	6	5	6	6	5	6
3	2	0	2	1	0	1	0

Tablo 7. Ary2 grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması

Skor	Ödem	Dilatasyon	Konjesyon	Hemoraji	Nekroz	Dejenerasyon	PMN
0	1	6	1	4	7	7	7
1	6	2	6	3	0	0	1
2	1	0	1	1	1	1	0
3	0	0	0	0	0	0	0

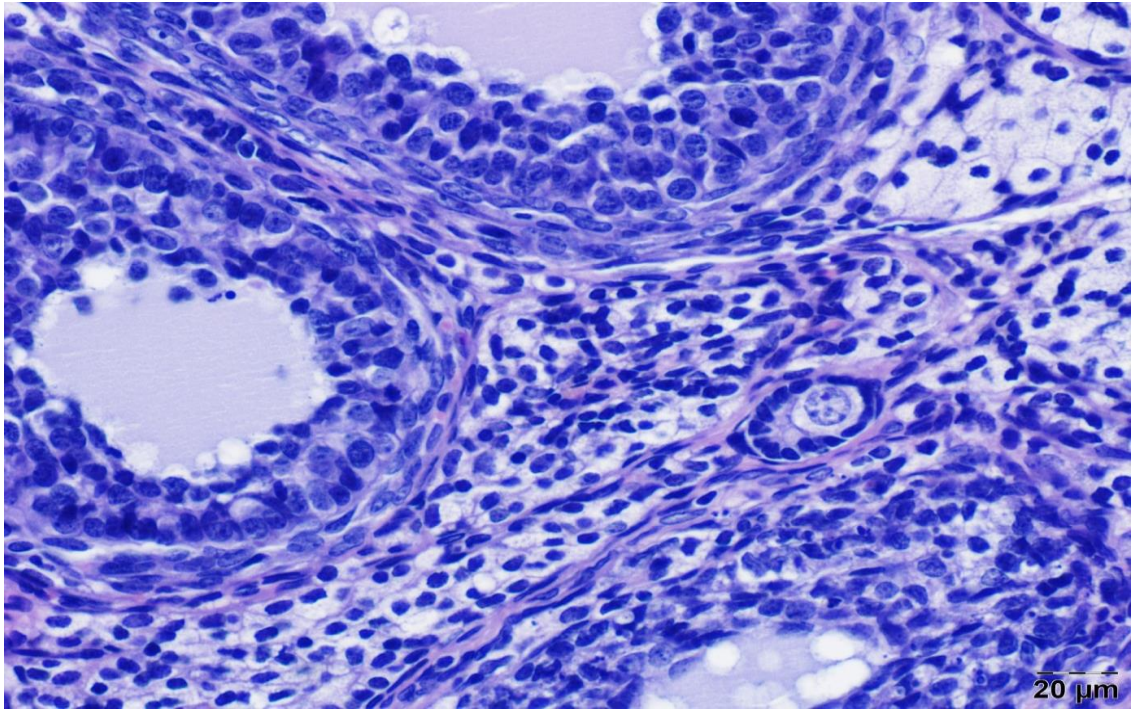
Tablo 8. Ary3 grubunda ovaryumların histopatolojik skorlanması

Skor	Ödem	Dilatasyon	Konjesyon	Hemoraji	Nekroz	Dejenerasyon	PMN
0	1	5	3	6	5	7	4

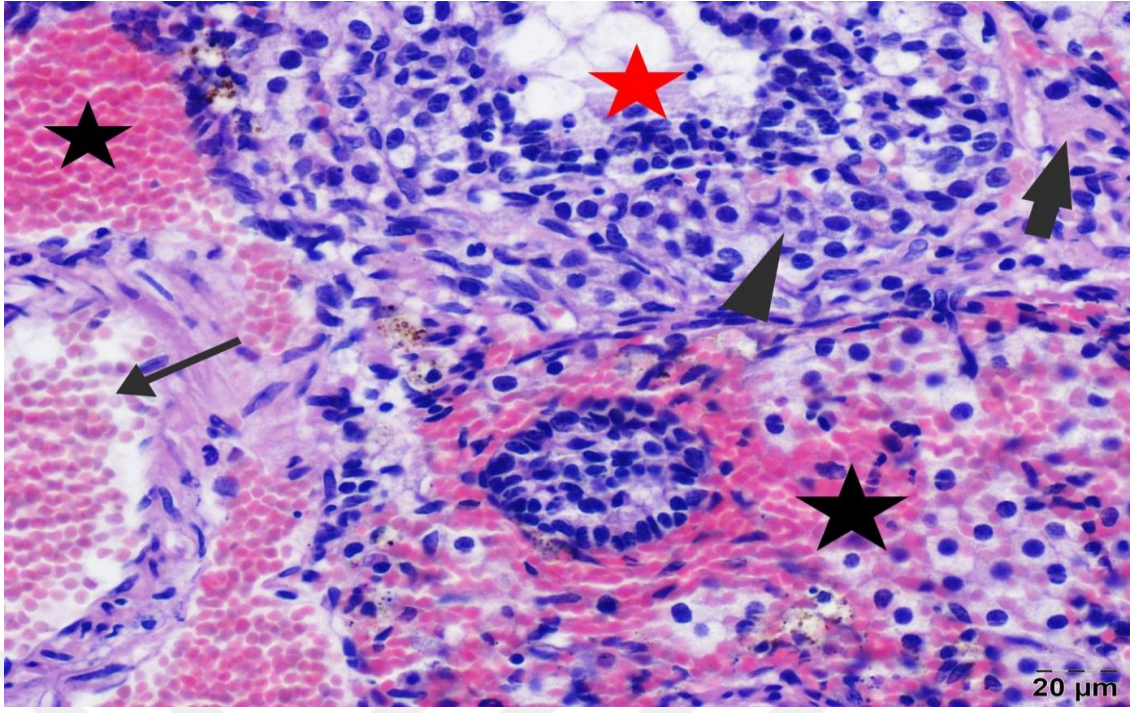
Tablo 8. (Devamı)

Skor	Ödem	Dilatasyon	Konjesyon	Hemoraji	Nekroz	Dejenerasyon	PMN
1	6	3	3	2	3	1	4
2	1	0	2	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0

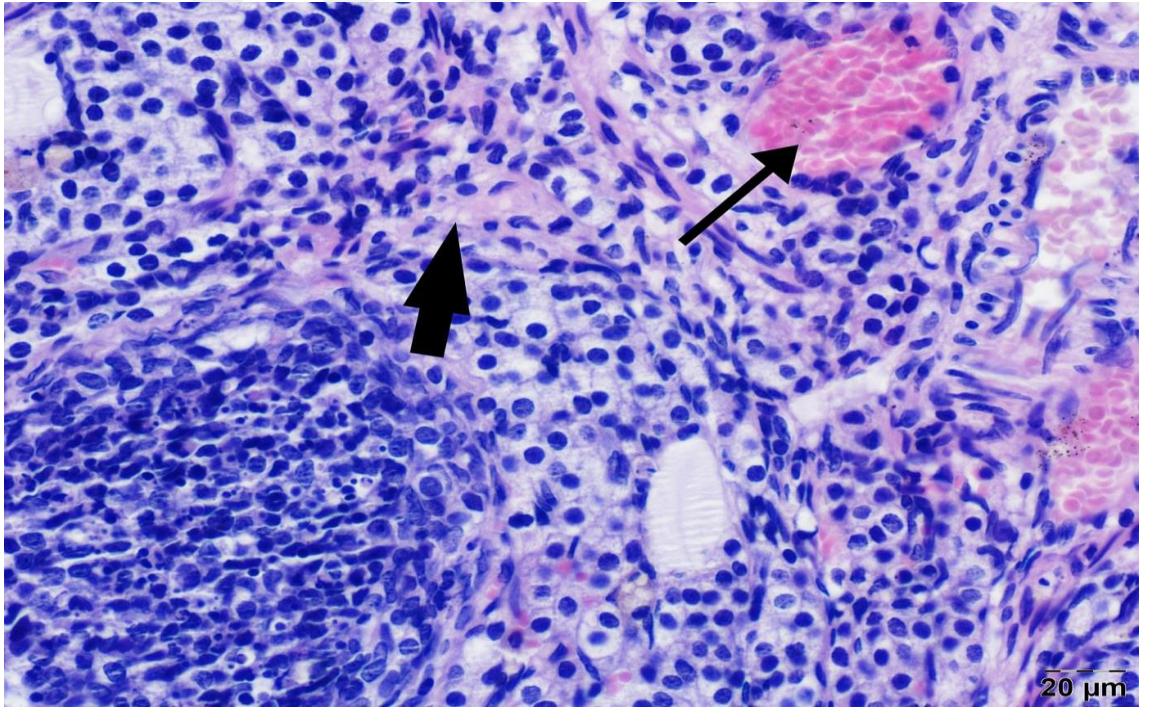
Aşağıdaki fotoğraflarda over dokusuna ait kesitlerin ışık mikroskopundaki görüntüleri bulunmaktadır. Kontrol grubunda ovaryumların normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 9). IR grubunda şiddetli nekrotik ve dejeneratif değişikliklerin olduğu tespit edildi (Şekil 10). Aronya ekstraktı verilen gruplarda ise çok hafif ödem ve konjesyon tespit edildi (Şekil 11, 12 ve 13).



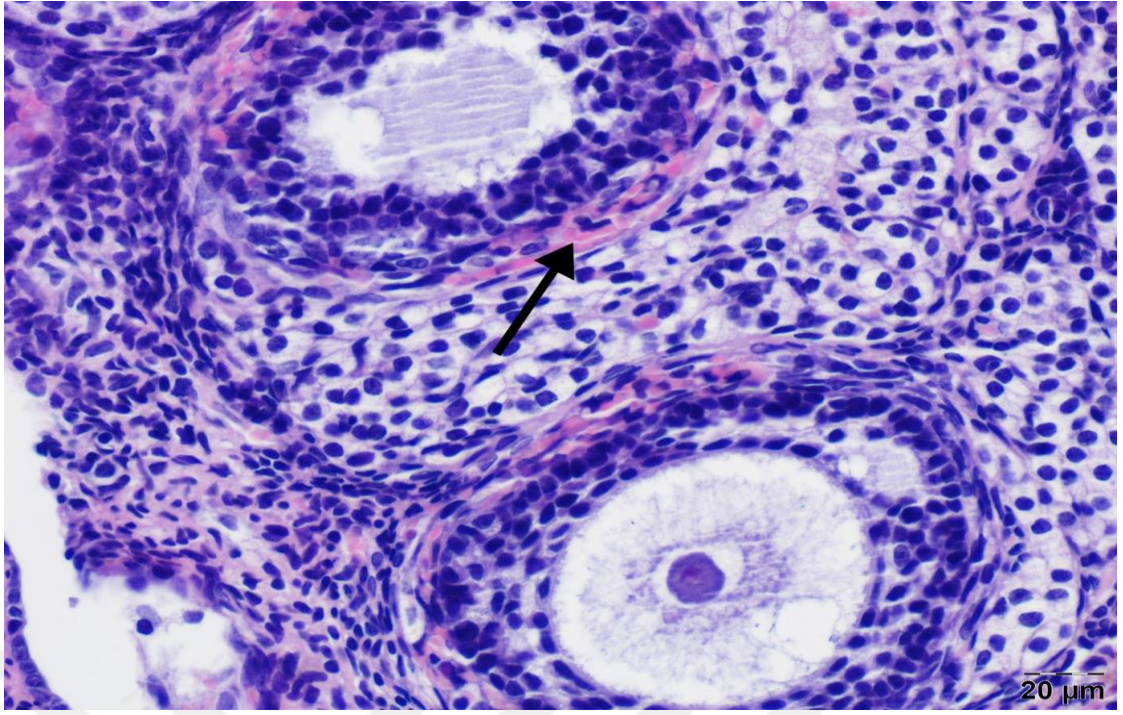
Şekil 9. Kontrol grubundaki ratlara ait normal yapıda ovaryum dokusu



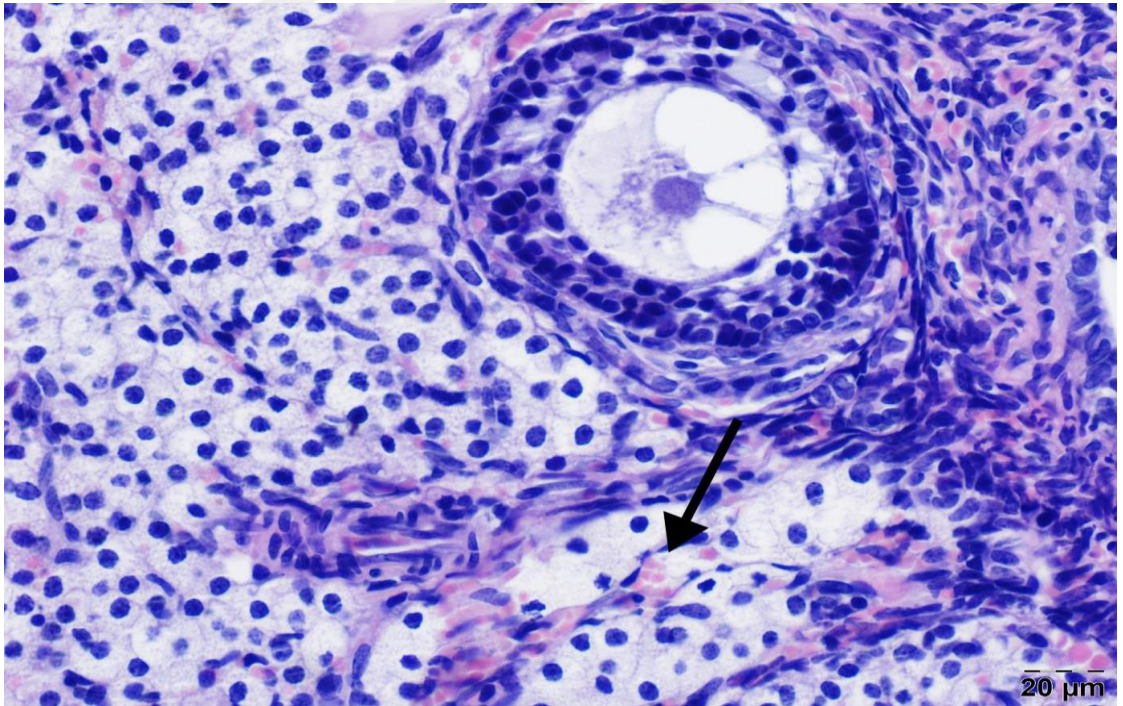
Şekil 10. IR grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Siyah yıldız: şiddetli kanama, Kırmızı yıldız: dejeneratif folikül, Kalın ok: şiddetli ödem, İnce ok: şiddetli konjesyon, Ok başı: dejeneratif hücreler)



Şekil 11. Ary1 grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Kalın ok: ödem, İnce ok: konjesyon)



Şekil 12. Ary2 grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Ok: konjesyon)



Şekil 13. Ary3 grubundaki ratlara ait ovaryum dokusu (Ok: konjesyon)

3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

İnflamasyonun önemli bir belirteci olan proinflamatuvar sitokinlerin kontrol grubu ovaryumlarında immunnegatif olduğu gözlemlendi (Şekil 14, Tablo 8). IR grubunda ise bu sitokinlerin şiddetli bir şekilde pozitif olduğu gözlemlendi (Şekil 15, Tablo 8). Düşük

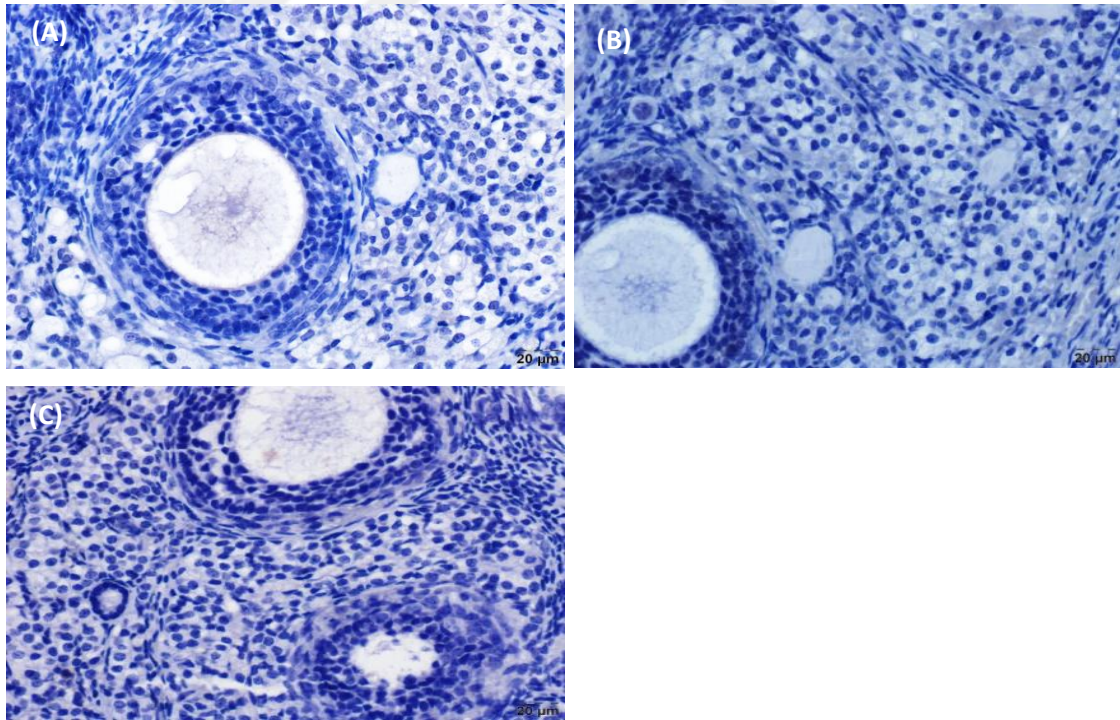
doz aronya ekstraktı verilenlerde hafif, orta ve yüksek doz verilenlerde ise çok az bir immünpozitiflik saptandı (Şekil 16, 17 ve 18, Tablo 9).

Tablo 9. Kontrol ve IR grubunda IL-1 β , IL-6 ve TNF alfa immünreaktivitesi

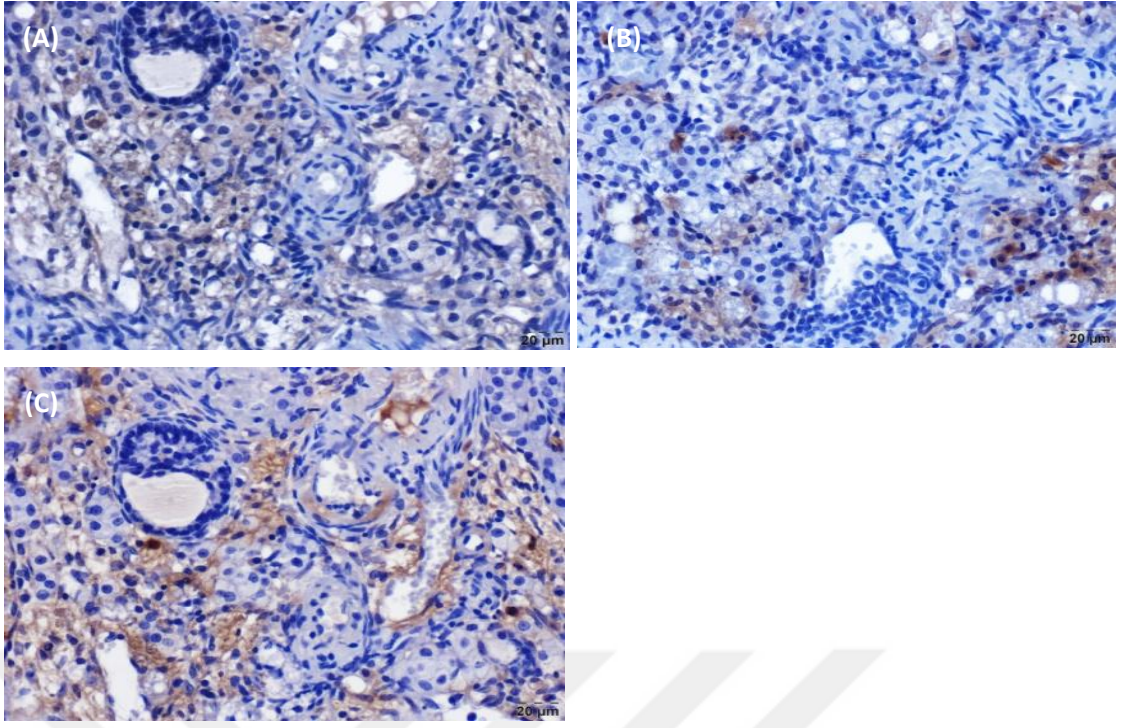
Skor	Kontrol			IR		
	IL-1 β	IL-6	TNF alfa	IL-1 β	IL-6	TNF alfa
0	8	8	8	0	1	0
1	0	0	0	1	0	1
2	0	0	0	2	2	0
3	0	0	0	4	4	6

Tablo 10. Tedavi gruplarında IL-1 β , IL-6 ve TNF alfa immünreaktivitesi

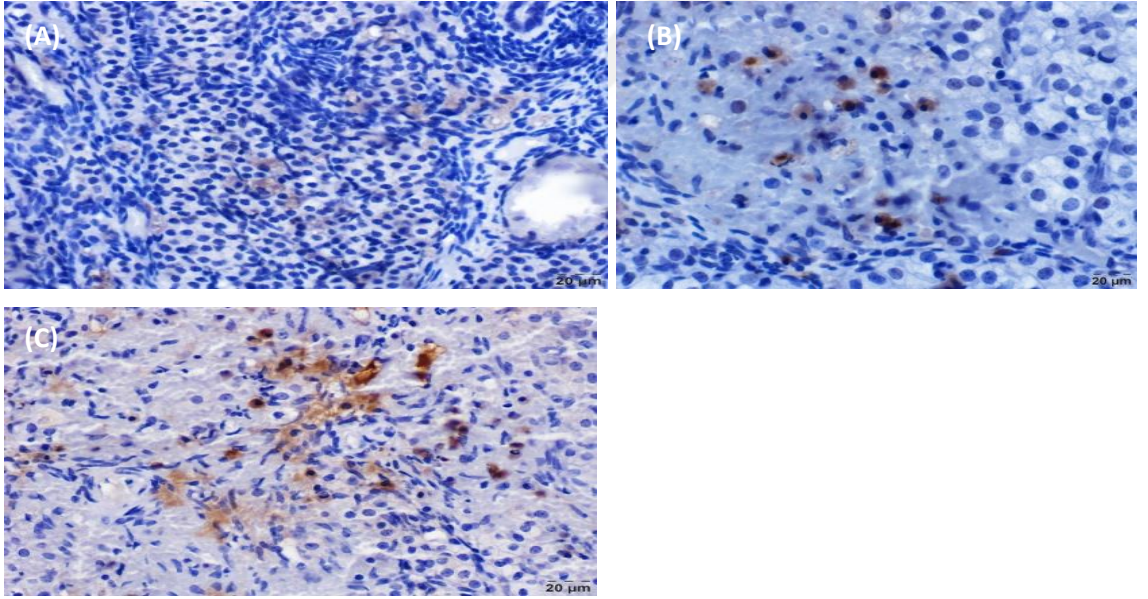
Skor	Ary1			Ary2			Ary3		
	IL-1 β	IL-6	TNF alfa	IL-1 β	IL-6	TNF alfa	IL-1 β	IL-6	TNF alfa
0	0	0	0	1	4	2	3	4	2
1	2	1	1	5	3	5	4	3	5
2	4	3	4	2	1	1	1	1	1
3	2	4	3	0	0	0	0	0	0



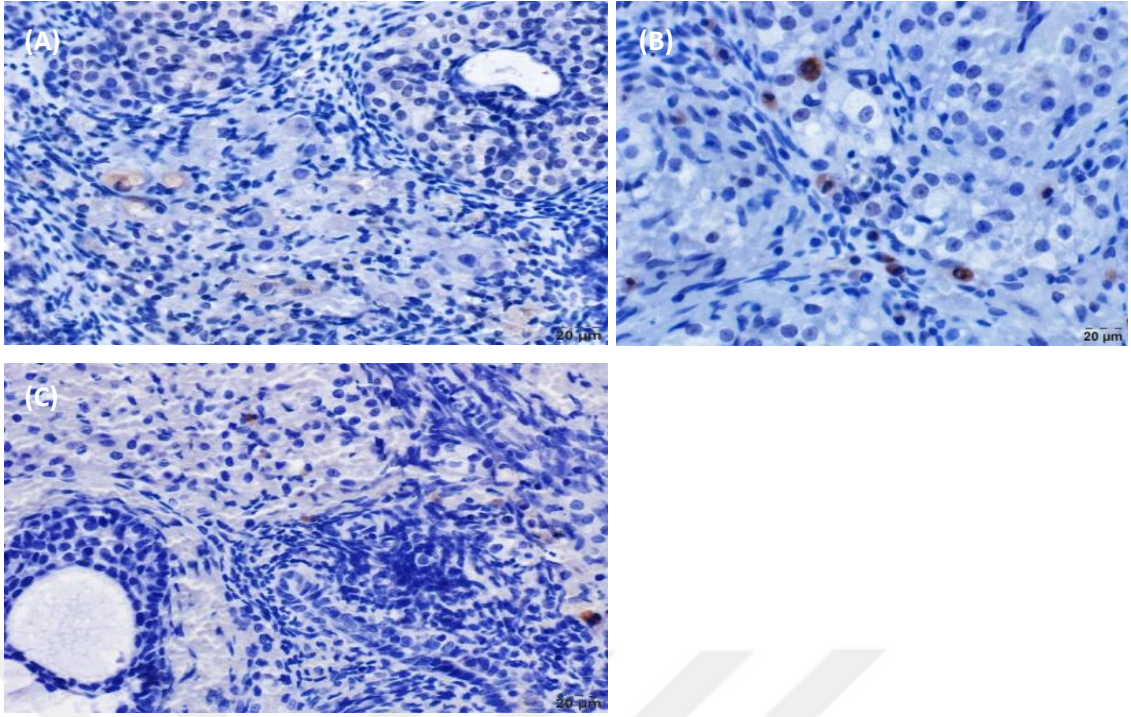
Şekil 14. Kontrol grubunda IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfa (C) immünnegatifliği



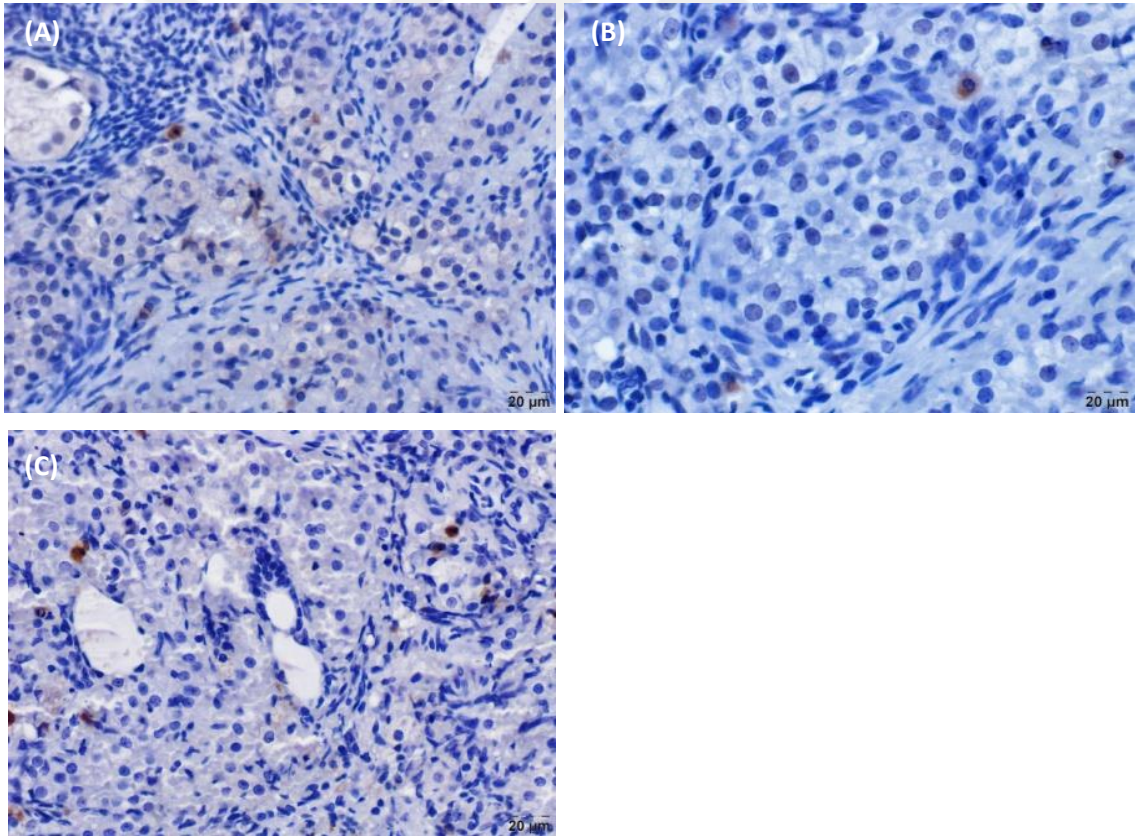
Şekil 15. IR grubunda IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi



Şekil 16. Ary1 grubundaki IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi.



Şekil 17. Ary2 grubundaki IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi



Şekil 18. Ary3 grubundaki IL-1 β (A), IL-6 (B) ve TNF-alfanın (C) immünreaktivitesi

Bilim dünyası genellikle son dönemlerde iskemi ve reperfüzyona karşı antioksidanların etkisini ve sonrasında gerçekleşebilen doku tahribatında serbest radikallerin etkinliğini araştırmaya yönelmiştir (Bakan vd., 2009).

Adneksiyal torsiyon overlerin yapısal olarak kendi eksenini etrafında ortalama 450° dönmesinden sonra oluşmaktadır ve gerekli tedavinin yapılmadığı durumlarda ise üreme özelliğini kaybetmeye kadar gidebilmektedir. İskemi-reperfüzyon sonrasında bazı biyokimyasal olaylar sonucu üretimi artan ROS doku hasarının gelişiminde etkinlik göstermektedir. Doku hasarı oluşumunda bu reaktif gruplara ilaveten bazı sitokinler, TNF- α ve GSH etkinlik gösterebilmektedir (Saat vd., 2019).

İskemiye maruz kalmış dokuların belirli bir süreyi aşması durumunda bir takım metabolik değişikliklere maruz kalmaktadır. Bu değişiklikler sistematik olarak ilk başta hücrede oksijenin azalmasına bağlı ATP miktarı azalır ve bu azalmaya bağlı Na-K ATPaz enziminin işlevini kaybetmesine neden olmaktadır. Az önce bahsedilen enzimin işlevini kaybetmesine bağlı Ca^{+2} iyonu ile Na^{+} iyonlarının intraselüler alandaki artışına neden olur ve bu istenmeyen artış hücre için sitotoksik etki gösterebilmektedir. İskemiye maruz kalmış hücredeki bu iyon yoğunluklarındaki değişimler bazı sebep olmaktadır (Dorweiler vd., 2007; Orrenius vd., 1992).

Dokularda iskemi devam ettiği sürece ATP oranı azalır, ancak kullanımı halen devam eder ve bu süreç içerisinde ATP sırası ile AMP molekülüne ve devamında da adenosin yapıya farklılaşmaktadır. Hücrede adenosin oluşumu tamamlandıktan sonra bir parçalanma olayı daha gerçekleşir ve bu olay adenosin molekülünün ekstraselüler kısma geçerek inozin ve hipoksantin moleküllerini meydana getirir. Pürin metabolitlerinden olan hipoksantin molekülleri hücrede artmaya başlayınca KDH enziminin KO enzimine farklılaşmasına neden olmaktadır. İskemiye uğramamış dokularda hipoksantin enziminin ürik asit forma dönüşümünde NAD⁺ elektron alıcı olarak kullanılırken iskemi sürecinde durum biraz farklıdır. Eğer bir hücre iskemiye maruz kaldığı süre boyunca mevcut KDH enzimi KO enzimine farklılaşması nedeni ile oluşacak ürik asit molekülleri de haliyle KO enzimi tarafından gerçekleşir. İskemik dokularda KO enzimi işlevini gerçekleştirirken elektron alıcı olarak O₂ moleküllerinden yararlanmaktadır (Okabe, 1996 ; Yazan, 2015).

IR hasarının doku ve organlar üzerindeki zararlı etkileri bilinmektedir. Bu zarar, iskeminin süresine göre geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak meydana gelebilir. Geri dönüşümlü zarda mitokondride oksidatif fosforilasyon durur, ATP üretimi yavaşlar, Na birikimi neticesinde de hücrede akut şişme görülür. Sonrasında dokuda asidoz meydana gelir ve hücre içi pH düşmeye başlar. Hipoksi devam ederse hücre zarı geçirgenliği artar. Buraya kadar anlatılan bozukluklar O₂ gelirse tekrar eski haline döner. Ancak iskemi devam ederse mitokondride vakuol oluşumu, hücre zarında zedelenme, lizozomlarda şişme ve hücre içi kalsiyum birikimi oluşur. Lizozomal

enzimlerin serbest kalması ile de organeller ve çekirdek erimeye başlar. Böylece hücre ölümü gerçekleşir (Ay, 2001).

IR hasarı; over, beyin, çizgili kas, kalp, bağırsak, akciğer, karaciğer, böbrekler, over, retina, pankreas ve testis gibi farklı dokuları kapsayan çeşitli birçok klinik durumda ortaya çıkmaktadır (Kandilci ve Gümüşel, 2005; Kılıç ve ark., 2016; Ergün 2017). Bu hasarı önlemek için birçok antioksidan maddenin etkinliği bilim insanları tarafından farklı çalışmalarla araştırılmıştır. Yeşil çay, melatonin, kafeik asit, resveratrol, tadalafil, rosmarinik asit ve curcumin bu antioksidanlardan bazılarıdır. Bu maddelerin antioksidan özellikleri ile oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir (Paksoy, 2021).

Fitoterapi, uzun zamandan beri tüm dünyada kullanılan bir tedavi metodudur. Geleneksel tıp olarak da bilinen bu yöntem, bitkilerde bulunan tıbbi maddelerin tedavi edici etkilerinden faydalanarak vücudun iyileşmesini sağlayan doğal bir tedavi şeklidir. Fitoterapotiklerin, dünyada yaygın kullanılan tıbbi bir metot olduğu bildirilmektedir (Mat 2019). Son zamanlarda, önemli bir tıbbi bitki olan Aronya meyvesi üzerine yapılan araştırmaların sayısı artmıştır (Dufour ve ark 2022, Lee ve ark. 2022, Xing ve ark. 2021, Ahles ve ark. 2020, Denev ve ark. 2019, Mężyńska ve ark. 2018). İçinde önemli miktarda terapotik madde bulunduran ve Chokeberry adıyla da bilinen Aronyanın farklı kanser tiplerine karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (Şahin ve Erdoğan 2022). Bununla birlikte bu bitkinin IR hasarı üzerine olan etkilerini araştıran sadece iki çalışma bulunmaktadır (Jakasevic ve ark., 2011; Li ve ark., 2021). Bu çalışmalardan birisi renal diğeri ise intestinal iskemi üzerindeki etkilerini araştırmak için yapılmıştır.

Jakasevic ve ark. (2011) erkek fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada intestinal iskemi üzerinde aronyanın etkisini araştırmıştır. Önce aronya meyvesini toplamış, dondurmuş ve ezerek toz haline getirmişlerdir. Daha sonra bu tozdan fare başına 1,6 gr vermişlerdir. Hayvanlara 10 gün boyunca hergün aronya tozu verildikten sonra IR uygulanmıştır. Mezenterik arter, 30 dk boyunca klemp ile kapatılarak iskemi oluşturulmuş ve sonrasında 4 saat boyunca reperfüzyon uygulanmıştır. Bunu takiben hayvanlar sakrifiye edilerek intestinal doku örnekleri alınmıştır. Sonuç olarak, kolon dokusunda yapılan analizlerde MDA seviyesinin IR ve sham grubuna kıyasla aronya verilen grupta daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar antioksidan bileşenlere sahip olan bu bitkinin farelerde antioksidan aktivite göstermediğini rapor etmişlerdir. Bizim bulgularımız da yukarıdaki çalışma ile paralellik göstermektedir. Sunulan bu çalışmada, aronya ekstraktı ile tedavi edilen gruplarda serum MDA seviyesi yüksekken

CAT düzeyi ise daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte histopatoloji ve immünohistokimya sonuçlarına göre de aronyanın koruyucu etkiler gösterdiğini tespit ettik. Bu durum aronya ekstraktının etkisini antioksidanlar yoluyla değil de daha farklı mekanizmalar ile gösterdiği şeklinde yorumlanabilir.

Diğer bir çalışmada ise Li ve ark., (2021) erkek farelerde renal IR hasarı oluşturmuş ve hayvanlara aronyadan elde ettikleri antosiyaninleri vermişlerdir. Uygulama sonrası IR grubuna kıyasla antosiyanin tedavisi farelerde hem serumda hem de böbrekte TNF alfa, IL-1 β , IL-6 ve MCP-1 düzeylerini düşürmüştür. Ayrıca oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve apoptozu da azaltmıştır. Üstelik histopatolojik olarak grupları karşılaştırdıklarında IR grubundaki farelerin böbreklerinde tübüler hasar şiddetli iken antosiyanin verilenlerde tübüllerin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Böylece araştırmacılar farelerde akut böbrek hasarında aronya ekstraktının yangı, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu önlemek için kullanılabileceğini söylemiştir. Bizim çalışmamızla yukarıdaki çalışmanın bulguları paralellik göstermektedir. Bu çalışmada, aronya ekstraktının verildiği gruptaki ratların overlerinde doku hasarının daha az oluştuğunu gözlemledik. Proinflamatuvar sitokinlerin immünreaktivitesindeki azalma bu durumu kanıtlamaktadır.

4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Sonuç olarak, bu çalışma ile aronya ekstraktının dişi ratların ovaryumlarında IR hasarına karşı belirgin bir koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Aronya uygulanan ratların IR hasarlı ovaryumlarında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α nın daha az immünpozitifliğinin olması bu ekstraktın ovaryum dokusunu koruduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları dikkate alındığında bu ekstraktın dişi ratlarda IR hasarına karşı kullanılabileceği kanısına varılmıştır. Buna karşılık antioksidan mekanizmalar üzerindeki etkilerinin gelecek çalışmalarla ortaya konması gerekmektedir. Bizim çalışmamızın, yapılacak benzer araştırmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. Bu konu ile ilgili gelecekte araştırma yapmak isteyenlerin bu hususu göz önünde bulundurmaları faydalı olacaktır.

KAYNAKÇA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. ve Pillai, S. (2021). Cellular and molecular immunology E-book. *Elsevier Health Sciences*.
- Ağartan, E. S. (2017). *Sıçanlarda ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarı: 3', 4'-dihydroxyflavonol'un lipid peroksidasyonuna etkisi*. Yayınlanmamış Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya.
- Ahles, S., Stevens, Y. R., Joris, P. J., Vauzour, D., Adam, J., De Groot, E. ve Plat, J. (2020). The effect of long-term aronia melanocarpa extract supplementation on cognitive performance, mood, and vascular function: a randomized controlled trial in healthy, middle-aged individuals. *Nutrients*, 12(8), 2475.
- Anaya-Prado, R. ve Toledo-Pereyra, L. H. (2002). The molecular events underlying ischemia/reperfusion injury. *In Transplantation Proceedings*, 34 (7), 2518-2519.
- Antoniou, N., Varras, M., Akrivis, C., Kitsiou, E., Stefanaki, S. ve Salamalekis, E. (2004). Isolated torsion of the fallopian tube: a case report and review of the literature. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology*, 31(3), 235-238.
- Auersperg, N., Wong, A. S., Choi, K. C., Kang, S. K. ve Leung, P. C. (2001). Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology and pathology. *Endocrine Reviews*, 22(2), 255-288.
- Ay, G. (2001). *Over Iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine antioksidanların etkileri*. Yayınlanmamış uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Elazığ.
- Bakan, V., Çıralık, H., Tolun, F. İ., Atlı, Y., Mil, A. ve Öztürk, Ş. (2009). Protective effect of erythropoietin on torsion/detorsion injury in rat model. *Journal of Pediatric Surgery*, 44(10), 1988-1994.
- Bayer, A. I. ve Wiskind, A. K. (1994). Adnexal torsion: can the adnexa be saved. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 171(6), 1506-1511.
- Beckman, J. S., Chen, J., Ischiropoulos, H. ve Crow, J. P. (1994). Oxidative chemistry of peroxynitrite. *Methods in Enzymology*, 233, 229-240.
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism*, 49(2), 3-8.
- Biller-Takahashi, J. D. ve Urbinati, E. C. (2014). Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 1484-1506.
- Breech, L. L. ve Hillard, P. J. A. (2005). Adnexal torsion in pediatric and adolescent girls. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 17(5), 483-489.

- Burkitt, M. J. ve Duncan, J. (2000). Effects of trans-resveratrol on copper-dependent hydroxyl-radical formation and DNA damage: evidence for hydroxyl-radical scavenging and a novel, glutathione-sparing mechanism of action. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 381(2), 253-263.
- Cadenas, E. ve Sies, H. (1998). The lag phase. *Free Radical Research*, 28(6), 601-609.
- Cankurtaran, M. (2005). Yaşlılık, yaşlanma mekanizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri. 7. *Ulusal İç Hastalıkları Kongresi*. Antalya.
- Carden, D. L. ve Granger, D. N. (2000). Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of Pathology*, 190(3), 255-266.
- Carlson, N. G., Wiegand, W. A., Chen, J., Bacchi, A., Rogers, S. W. ve Gahring, L. C. (1999). Inflammatory cytokines IL-1 α , IL-1 β , IL-6, and TNF- α impart neuroprotection to an excitotoxin through distinct pathways. *The Journal of Immunology*, 163(7), 3963-3968.
- Carr, A. C. ve Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086-1107.
- Cass, D. L. (2005). Ovarian torsion. In *Seminars in Pediatric Surgery* 14(2), 86-92. WB Saunders.
- Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T. ve Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life Sciences*, 75(21), 2539-2549.
- Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., van Zanden, J. ve Van Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10(4), 141-152.
- Collard, C. D. ve Gelman, S. (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 94(6), 1133-1138.
- Collard, C. D., Lekowski, R., Jordan, J. E., Agah, A. ve Stahl, G. L. (1999). Complement activation following oxidative stress. *Molecular Immunology*, 36(13-14), 941-948.
- De Souza-Pinto, N. C., Eide, L., Hogue, B. A., Thybo, T., Stevnsner, T., Seeberg, E. ve Bohr, V. A. (2001). Repair of 8-oxodeoxyguanosine lesions in mitochondrial dna depends on the oxoguanine dna glycosylase (OGG1) gene and 8-oxoguanine accumulates in the mitochondrial dna of OGG1-defective mice. *Cancer Research*, 61(14), 5378-5381.

- Denev, P., Číž, M., Kratchanova, M. ve Blazheva, D. (2019). Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. *Food Chemistry*, 284, 108-117.
- Devasagayam, T. P. A., Bloor, K. K. ve Ramasarma, T. (2003). Methods for estimating lipid peroxidation, *An Analysis of Merits and Demerits*.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. ve Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52(794804), 4.
- Di Lisa, F., Canton, M., Menabò, R., Kaludercic, N. ve Bernardi, P. (2007). Mitochondria and cardioprotection. *Heart Failure Reviews*, 12(3-4), 249-260.
- Dorweiler, B., Pruefer, D., Andrasi, T. B., Maksan, S. M., Schmiedt, W., Neufang, A. and Vahl, C. F. (2007). Ischemia-reperfusion injury. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 33(6), 600-612.
- Dufour, C., Villa-Rodriguez, J. A., Furger, C., Lessard-Lord, J., Gironde, C., Rigal, M., Badr A., Desjardins Y. ve Guyonnet, D. (2022). Cellular Antioxidant Effect of an Aronia Extract and Its Polyphenolic Fractions Enriched in Proanthocyanidins, Phenolic Acids, and Anthocyanins. *Antioxidants*, 11(8), 1561.
- Dugan, L. L. ve Choi, D. W. (1994). Excitotoxicity, free radicals and cell membrane changes. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 35(S1), S17-S21.
- Dupont, Y., Cohen, J. B. ve Changeux, J. P. (1974). X-ray diffraction study of membrane fragments rich in acetylcholine receptor protein prepared from the electric organ of *Torpedo marmorata*. *FEBS Letters*, 40(1), 130-133.
- Dündar, Y. ve Aslan, R. (1999). Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1-2), 32-39.
- Ebaid, H., Bashandy, S. A., Alhazza, I. M., Rady, A. ve El-Shehry, S. (2013). Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition and Metabolism*, 10(1), 1-10.
- Eltzschig, H. K. ve Collard, C. D. (2004). Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British Medical Bulletin*, 70(1), 71-86.
- Ergün, Y. (2017). Deney hayvanlarındaki iskemi-reperfüzyon hasarı modellerinde yeşil çayın etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 12(2), 4-13.
- Ersoy, G. S., Eken, M., Tal, R., Oztekin, D., Devranoglu, B., Kaygusuz, E. I. ve Cevik, O. (2016). N-acetylcysteine leads to greater ovarian protection than enoxaparin

- sodium in a rat ovarian torsion model. *Reproductive Biomedicine Online*, 33(1), 93-101.
- Fang, Y. Z., Yang, S. ve Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidant and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Fidancı, A. (2015). Türkiye İçin Yeni Bir Minör Meyve: Aronia Bitkisi Ve Yetiştirme Teknikleri. *VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri, Bahçe (Özel Sayı)*, 1, 1177-1180.
- Flora, S. J. S. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cellular and Molecular Biology*, 53(1), 1-2.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 64(1), 97-112.
- Gao, F., Kinnula, V. L., Myllärniemi, M. ve Oury, T. D. (2008). Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10(2), 343-354.
- García-Villalón, A. L., Amezquita, Y. M., Monge, L., Fernández, N., Salcedo, A. ve Diéguez, G. (2008). Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia–reperfusion. *Vascular Pharmacology*, 48(2-3), 109-114.
- Gourdin, M. J., Bree, B. ve De Kock, M. (2009). The impact of ischaemia–reperfusion on the blood vessel. *European Journal of Anaesthesiology| EJA*, 26(7), 537-547.
- Gökmen G. (2003). *Sistemik Anatomi*, İzmir Güven Yayınevi.
- Grace, P. A. (1994). Ischaemia reperfusion injury. *British Journal of Surgery*, 81(5), 637-647.
- Green, C. J., Gower, J. D., Healing, G., Cotterill, L. A., Fuller, B. J. ve Simpkin, S. (1989). The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radical Research Communications*, 7(3-6), 255-264.
- Guner, I., Ozmen, D. ve Bayındır, O. S. (1997). *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*.
- Günel, E., Çağlayan, F., Çağlayan, O., Dilsiz, A., Duman, S. ve Aktan, M. (1998). Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *Journal of Pediatric Surgery*, 33(10), 1536-1539.
- Gürkan, A. S. ve Bozdağ Dünder, O. (2005). *Coenzyme Q10*.
- Halliwell, B. (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 59(5), 1609-1623.

- Halliwell, B. (1996). Commentary oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Research*, 25(1), 57-74.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261-272.
- Hannan, J. M. (2013). Aronia berries. *Agricultural Marketing Resource Center*.
- Hefti, A. F. (1993). Aspects of cell biology of the normal periodontium. *Periodontology* 2000, 3(1), 64-75.
- Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A. ve Sainz, R. M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *Plos One*, 9(10), e109257.
- Iliesiu, A., Campeanu, A. ve Dusceac, D. (2010). Serum uric acid and cardiovascular disease. *Maedica*, 5(3), 186.
- Is, Y. ve Woodside, J. V. (2001). Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, 54(3), 176-186.
- Jakesevic, M., Aaby, K., Borge, G. I. A., Jeppsson, B., Ahmé, S. ve Molin, G. (2011). Antioxidative protection of dietary bilberry, chokeberry and Lactobacillus plantarum HEAL19 in mice subjected to intestinal oxidative stress by ischemia-reperfusion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), 1-12.
- Jennings, R. B. ve Reimer, K. A. (1991). The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annual Review Of Medicine*, 42, 225-246.
- Junqueira, L. C. (1995). Arneiro j, Kelley RO. *Basic Histology*.
- Kalinina, E. V., Chernov, N. N. ve Novichkova, M. D. (2014). Role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13), 1562-1583.
- Kalp, E. T. (2004). Damar hastalıklarında iskemi-reperfüzyon hasarı. Duran E (Editör). *Kalp Ve Damar Cerrahisi*. I. Baskı. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi, 197-215.
- Kandilci, H.B. ve Gümüsel, B. (2005). Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 25(1), 35-49.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1), 65-76.
- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5), 226-234.

- Kavas, G. Ö. (1989). Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*, 9(1), 1-8.
- Kılınç, K. (1985). Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları, toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi*, 10, 60-89.
- Kilic, A., Uyanikoglu, H. ve Incebiyik, A. (2016). Rat Overinde Iskemi-Reperfüzyon Üzerine N-Asetil Sistein ve Resveratrol'ün Koruyucu Etkisi/Protective Effect of N-Acetylcystein and Resveratrol on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Ovary. *Dicle Tıp Dergisi*, 43(2), 229.
- Kim, Y., Kim, D. C., Cho, E. S., Ko, S. O., Kwon, W. Y., Suh, G. J. ve Shin, H. K. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation*, 11(1), 1-8.
- Kirkman, H. N., Galiano, S. ve Gaetani, G. F. (1987). The function of catalase-bound NADPH. *Journal of Biological Chemistry*, 262(2), 660-666.
- Koç, T. (2017). *Paklitaksel ve mirtazapinin A2780 hücrelerine etkilerinin proliferasyon ve apoptozis yönünden değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya.
- Kosieradzki, M. ve Rowiński, W. (2008). Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. *In Transplantation Proceedings*, 40(10), 3279-3288.
- Kovacic, P., Pozos, R. S., Somanathan, R., Shangari, N. ve O'Brien, P. J. (2005). Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors and toxins: focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. *Current Medicinal Chemistry*, 12(22), 2601-2623.
- Krivoruchko, E. V. ve Kovalev, V. N. (2011). Essential oil from Aronia melanocarpa flowers. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(4), 644-645.
- Kuby, J. (1992). *Immunology*, W.H. Freeman and Company, 245.
- Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R. ve Srivastava, A. K. (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(1), 19-40.
- Kumar, V., Cotran, R. S., Robbins, S. L. ve Crain, B. J. (1998). Basic pathology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 122, 660-660.
- Lagman, M., Ly, J., Saing, T., Kaur Singh, M., Vera Tudela, E., Morris, D. ve Venketaraman, V. (2015). Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *Plos One*, 10(3), e0118436.

- Lee, J., Kim, K. S. ve Na, K. (2022). Intranasal administration of an aronia extract and carrageenan nanocomposite for the prevention of influenza A H1N1 virus infection. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 52(6), 765-774.
- Li, C. ve Jackson, R. M. (2002). Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282(2), C227-C241.
- Li, L., Li, J., Xu, H., Zhu, F., Li, Z., Lu, H., Zhang J., Yang Z. ve Liu, Y. (2021). The protective effect of anthocyanins extracted from Aronia Melanocarpa berry in renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Mediators of Inflammation*, 1-15.
- Li, Y. ve Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of Nutrition*, 137(10), 2171-2184.
- Lieberthal, W. ve Nigam, S. K. (Eds.). (1998). Acute renal failure. I. Relative importance of proximal vs. distal tubular injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 275(5), F623-F632.
- Liu, C. F., Liu, C. ve Yao, H. H. C. (2010). Building pathways for ovary organogenesis in the mouse embryo. *Current Topics in Developmental Biology*, 90, 263-290.
- Liu, J. P. ve Li, H. (2010). Telomerase in the ovary. *Reproduction*, 140(2), 215-222.
- Mates, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104.
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C. ve De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595-603.
- McCormack, D. ve McFadden, D. (2013). A review of pterostilbene antioxidant activity and disease modification. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- Mężyńska, M., Brzóska, M. M., Rogalska, J. ve Piłat-Marcinkiewicz, B. (2018). Extract from Aronia melanocarpa L. berries prevents cadmium-induced oxidative stress in the liver: a study in a rat model of low-level and moderate lifetime human exposure to this toxic metal. *Nutrients*, 11(1), 21.
- Miller, D. M., Buettner, G. R. ve Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 95-108.
- Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M. Y. ve Cheng, C. Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase-a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305-311.

- Muller, F. L., Liu, Y. ve Van Remmen, H. (2004). Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 279(47), 49064-49073.
- Nakazawa, H., Genka, C. ve Fujishima, M. (1996). Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *The Japanese journal of Physiology*, 46(1), 15-32.
- Nishida, T. ve Nishida, N. (2006). Reinstatement of "germinal epithelium" of the ovary. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4(1), 1-2.
- Nissen, E. D., Kent, D. R., Nissen, S. E. ve Feldman, B. M. (1977). Unilateral tuboovarian autoamputation. *The Journal of Reproductive Medicine*, 19(3), 151-153.
- Nordberg, J. ve Arnér, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Oikonomidis, I. L., Kiosis, E. A., Brozos, C. N. ve Kritsepi-Konstantinou, M. G. (2017). Reference intervals for serum reactive oxygen metabolites, biological antioxidant potential, and oxidative stress index in adult rams. *American Journal of Veterinary Research*, 78(3), 274-278.
- Okabe, H. (1996). The role of xanthine dehydrogenase (xanthine oxidase) in ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*, 38(12), 577-584.
- Oostenbrug, G. S., Mensink, R. P., Hardeman, M. R., De Vries, T., Brouns, F. J. P. H. ve Hornstra, G. (1997). Exercise performance, red blood cell deformability and lipid peroxidation: effects of fish oil veandvz vitamin E. *Journal of Applied Physiology*, 83(3), 746-752.
- Orbea, A., Fahimi, H. D. ve Cajaraville, M. P. (2000). Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans an fish liver. *Histochemistry and Cell Biology*, 114(5), 393-404.
- Orrenius, S., Burkitt, M. J., Kass, G. E., Dypbukt, J. M. ve Nicotera, P. (1992). Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 32(S1), S33-S42.
- Orrenius, S., Burkitt, M. J., Kass, G. E., Dypbukt, J. M. ve Nicotera, P. (1992). Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 32(S1), S33-S42.

- Ozcan, O., Erdal, H. ve Yonden, Z. (2015). İskemi-reperfüzyon hasari ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakiş. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 6(23), 27-33.
- Ozkan, O. V., Yuzbasioglu, M. F., Ciralik, H., Kurutas, E. B., Yonden, Z., Aydin, M. ve Duran, N. (2009). Resveratrol, a natural antioxidant, attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 218(3), 251-258.
- Özkan, A. ve Fışkın, K. (2004). Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14, 52-60.
- Packer, L., Kraemer, K. ve Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17(10), 888-895.
- Page, R. C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 26(3), 230-242.
- Paksoy, Z. (2021). Melatonin ve İskemi-Reperfüzyon, In: Sağlık bilimleri alanında akademik araştırmalar,. *İksad Publishing House*, 208-236.
- Panés, J., Perry, M. ve Granger, D. N. (1999). Leukocyte endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. *British Journal of Pharmacology*, 126(3), 537-550.
- Parks, D. A., Williams, T. K. ve Beckman, J. S. (1988). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 254(5), G768-G774.
- Pei, S., Minhajuddin, M., Callahan, K. P., Balys, M., Ashton, J. M., Neering, S. J. ve Jordan, C. T. (2013). Targeting aberrant glutathione metabolism to eradicate human acute myelogenous leukemia cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288(47), 33542-33558
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 4(2), 89.
- Phillips, L., Toledo, A. H., Lopez-Neblina, F., Anaya-Prado, R. ve Toledo-Pereyra, L. H. (2009). Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *Journal of Investigative Surgery*, 22(1), 46-55.
- Poyraz Engin, S. (2018). Aronya Meyve Türünün Bitkisel Özellikleri ve Adaptasyonuna İlişkin Gözlemler. *Bahçe Haber*, 7(1), 8-11.
- Reiter, R. J., Acuña-Castroviejo, Dario., Tan., D. X. ve Burkhardt, S. (2001). Free radical mediated molecular damage: mechanisms for the protective actions of

- melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 939(1), 200-215.
- Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow Walden, L., Chuang, J. ve AcuñaCastroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of Pineal Research*, 18(1), 1-11.
- Rhee, S. G. (1999). Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Experimental and Molecular Medicine*, 31(2), 53-59.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E. ve Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*, 582(13), 1783-1787.
- Ross, M. H. (1995). Endocrine Organs In:(eds.: Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI) *Histology: A Text and Atlas*.
- Saat, N., Risvanli, A., Dogan, H., Onalan, E., Akpolat, N., Seker, I. ve Sahna, E. (2019). *Effect Of Melatonin On Torsion and Reperfusion Induced Pathogenesis Of*.
- Santos, CHMD, Gomes, OM, Pontes, JCDV, Miji, LNO ve Bispo, MAF (2008). Mezenterik iskemi / reperfüzyon prosedürüne giren sıçanların bağırsak mukozası üzerindeki iskemik ön koşullandırma ve son koşullandırma etkisi. *Acta Cirurgica Brasileira* , 23 (1), 22-28.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R. ve Ghosh, A. K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3), 185-192.
- Semenza, G. L. (2000). Cellular and molecular dissection of reperfusion injury: ROS within and without. *Circulation Research*, 86(2), 117-118.
- Sen, S. ve Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In Oxidative stress: diagnostics, prevention and therapy (pp. 1-37). *American Chemical Society*.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R. ve De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.
- Senatorski, G., Paczek, L., Kropiewnicka, E. ve Bartłomiejczyk, I. (2002). Cytokines in noninvasive diagnostics of diabetic nephropathy progression. *Polski Merkurusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 13, 28-32.
- Shinde, A., Ganu, J. ve Naik, P. (2012). Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.

- Siemionow, M. ve Arslan, E. (2004). Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery: Official Journal of the International Microsurgical Society and the European Federation of Societies for Microsurgery*, 24(6), 468-475.
- Šnebergrová, J., Čížková, H., Neradova, E., Kapci, B., Rajchl, A. ve Voldřich, M. (2014). Variability of characteristic components of aronia. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(1), 25-30.
- Southard, J. H., Marshu, D. C., McAnulty, J. F. ve Belzer, F. O. (1987). Oxygen-derived free radical damage in organ preservation: activity of superoxide dismutase and xanthine oxidase. *Surgery*, 101(5), 566-570.
- Sugiyama, S., Hanaki, Y., Ogawa, T., Hieda, N., Taki, K. ve Ozawa, T. (1988). The effects of SUN 1165, a novel sodium channel blocker, on ischemia-induced mitochondrial dysfunction and leakage of lysosomal enzymes in canine hearts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 157(2), 433-439.
- Sundaresan, M., Yu, Z. X., Ferrans, V. J., Irani, K. ve Finkel, T. (1995). Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*, 270(5234), 296-299.
- Şahin, A. ve Erdoğan, Ü. (2022). Aronia (*Aronia melanocarpa* Michx Elliot) Production and Evaluation Methods in the World and Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(1), 81-85.
- Şener, G. ve Bç, Y. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22(3), 5-14.
- Title, L. M., Cummings, P. M., Giddens, K., Genest, J. J. ve Nassar, B. A. (2000). Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 36(3), 758-765.
- Tolić, M. T., Landeka Jurčević, I., Panjkota Krbavčić, I., Marković, K. ve Vahčić, N. (2015). Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Food technology and biotechnology*, 53(2), 171-179.
- Townsend, D. M., Tew, K. D. ve Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.
- Toyokuni, S. (1999). Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathology International*, 49(2), 91-102.

- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. ve Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1), 37-56.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Waring, W. S. (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *Qjm*, 95(10), 691-693.
- Xing, Y., Liang, S., Zhao, Y., Yang, S., Ni, H. ve Li, H. (2021). Protection of Aronia melanocarpa Fruit Extract from Sodium-Iodate-Induced Damages in Rat Retina. *Nutrients*, 13(12), 4411.
- Yazan, S. (2015). *Rat abdominal epigastrik flebinde diosmin+ hesperidin iskemik reperfüzyon hasarına etkisi*. Yayınlanmamış uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kayseri.
- Zámocký, M. ve Koller, F. (1999). Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 72(1), 19-66.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J. ve Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337-349.

ÖZGEÇMİŞ

Lise eğitim ve öğrenimini 2007-2011 yılları içerisinde Gümüşhane'nin Şiran ilçesinde bulunan Şiran Anadolu Lisesinde tamamladı. 2012-2016 yılları arasında Bartın Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde Lisans eğitimini tamamladı. 2018 yılında Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimi devam etmektedir.

