

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI



**RAT OVARYUMUNDA İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA
KARŞI RUTİN VE TAKSİFOLİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ
MEHMET HANİFİ AKGÜN

Danışman

1. Danışman: Prof.Dr. Pınar COŞKUN
2. Danışman: Prof. Dr. Seval YILMAZ

HATAY-2023

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**RAT OVARYUMUNDA İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA
KARŞI RUTİN VE TAKSİFOLİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ
MEHMET HANİFİ AKGÜN

Danışman

1. Danışman: Prof. Dr. Pınar COŞKUN
2. Danışman: Prof. Dr. Seval YILMAZ

Bu tez Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 21.D.006 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2023

Kabul ve Onay

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**RAT OVARYUMUNDA İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA
KARŞI RUTİN VE TAKSİFOLİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

MEHMET HANİFİ AKGÜN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 06/ 07/ 2023günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof.Dr. Seval YILMAZ

Üye: Prof. Dr. Pınar COŞKUN

Üye: Prof. Dr. Yaşar ERGÜN

Üye: Prof. Dr. Meryem EREN

Üye: Prof. Dr. Miyase ÇINAR

Bu tez, Enstitümüz Biyokimya (VET) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Tarih

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tez konusunun belirlenmesinde, araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmayı yönlendiren ve her türlü yardımı esirgemeyen saygıdeğer danışman hocalarım Prof. Dr. Pınar COŞKUN'a ve Prof. Dr. Seval YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım. Kıymetli hocam Prof. Dr. Necmi ÖZDEMİR'e Allah'tan rahmet diler, Değerli hocalarım Prof. Dr. Mine ERİŞİR, Doç. Dr. Emre KAYA, Prof. Dr. Yaşar ERGÜN, Prof. Dr. Tolunay KOZLU, Doç. Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL, Doç. Dr. Filiz KAZAK ve Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Mustafa İŞGÖR'e teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca sabırla ve inanarak her zaman arkamda duran sevgili annem, babam ve kardeşlerime ayrıca teşekkür ederim.

Tezimin belli bir döneminde bana destek olan değerli arkadaşlarım Kürşat BOLAT, Hüseyin KARATAŞ, Gamze TUNCER ve Kader AYDIN ÖZEL'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Bu tezi rahmetli babam Memet AKGÜN'e ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII-VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Torsiyon (İskemi) Mekanizması	3
2.2. Detorsiyon (Reperfüzyon) Mekanizması	5
2.3. Lipid Peroksidasyon Mekanizması	6
2.4. Lipid Peroksidasyon Ürünleri.....	8
2.4.1. Malondialdehid	8
2.4.2. 4-Hidroksinonenal.....	10
2.5. Nitrik Oksit	12
2.6. Antioksidanlar	13
2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar	13
2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	15
2.6.2.1. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar	15
2.6.2.1.1. Glutasyon	15
2.6.2.1.2. Enzimatik Olmayan Eksojen Antioksidanlar	18
2.6.2.2.1. Vitamin E	18
2.6.2.2.2. Vitamin C	19
2.6.2.2.3. Flavonoidler	21
2.6.2.2.3.1. Rutin.....	233
2.6.2.2.3.2. Taksifolin.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Hayvan Materyali.....	28
3.2. Deneme Planı ve Gruplar	28

3.2.1. Deneme Planı	28
3.2.2. Gruplar.....	29
3.3. Biyokimyasal ve Histolojik Analizler	35
3.3.1. Biyokimyasal Analizler	35
3.3.1.1. <i>Plazma ve Dokuda MDA Düzeyinin Analizi</i>	35
3.3.1.2. <i>Plazma ve Dokuda LPO Analizi</i>	37
3.3.1.3. <i>Plazma ve Dokuda Nitrik Oksit Düzeyinin Analizi</i>	37
3.3.1.4. <i>Dokuda Seruloplazmin Düzeyi Analizi</i>	38
3.3.1.5. <i>Plazma ve Dokuda Redükte Glutasyon Düzeyi Analizi</i>	40
3.3.1.6. <i>Plazma ve Dokuda Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Analizi</i>	41
3.3.1.7. <i>Dokuda Total Protein Analizi</i>	43
3.3.2. Histolojik Muayeneler	44
4. BULGULAR.....	46
4.1.Histolojik Bulgular.....	52
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ	83
7. KAYNAKLAR.....	84
ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2. 1. Ovaryum torsiyonu.	3
Şekil 2. 2. Ksantin oksidaz aktivitesi.....	4
Şekil 2. 3. Lipid peroksidasyonu	7
Şekil 2. 4. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları	8
Şekil 2. 5. MDA üretimi	9
Şekil 2. 6. Malondialdehit yapısı.....	9
Şekil 2. 7. 4-HNE moleküler yapısı	11
Şekil 2. 8. Lipoksigenaz aktivitesi	11
Şekil 2. 9. SOD, CAT, GR ve GPx reaksiyonları	14
Şekil 2. 10. GSH ve GSSG yapısı	17
Şekil 2. 11. Glutasyon biyosentezi ve metabolizması.....	18
Şekil 2. 12. Flavonoid temel yapısı	22
Şekil 2. 13. Rutinin kimyasal yapısı	23
Şekil 2. 14. Taksifolinin temel kimyasal yapısı	26
Şekil 3. 1. Rutin ve taksifolinin çözündürülmesi	30
Şekil 3. 2. Ratların anesteziye alınması ve operasyon bölgesinin dezenfeksiyonu.....	31
Şekil 3. 3. Sol paralumbalisten insizyon yapılışı	32
Şekil 3. 4. Ovaryumun dışarı alınması	32
Şekil 3. 5. Sol adneksaya Clip Turcica'nın uygulanması	33
Şekil 3. 6. Clip Turcicanın sutur ile sabitlenmesi	33
Şekil 3. 7. Hayvanların operasyon sonrası görünümü.	34
Şekil 3. 8. Hayvanların operasyon süresi boyunca bekletilmesi	34
Şekil 4. 1. Kontrol grubu ovaryum makroskopik görünümü.	46
Şekil 4. 2. Sham grubu ovaryum makroskopik görünümü.	47
Şekil 4. 3. Torsiyon grubu ovaryum makroskopik görünümü.	47
Şekil 4. 4. Torsiyon/Detorsiyon grubu ovaryum makroskopik görünümü.	48
Şekil 4. 5. Torsiyon/Detorsiyon+DMSO grubu ovaryum makroskopik görünümü.	48
Şekil 4. 6. Torsiyon/Detorsiyon+Rutin grubu ovaryum makroskopik görünümü.	49
Şekil 4. 7. Torsiyon/Detorsiyon+Taksifolin grubu ovaryum makroskopik görünümü.	49
Şekil 4. 8. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku MDA düzeylerine etkileri	56
Şekil 4. 9. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma MDA düzeylerine etkileri	56
Şekil 4. 10. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku LPO düzeylerine etkileri	57
Şekil 4. 11. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma LPO düzeylerine etkileri	57
Şekil 4. 12. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku NO düzeylerine etkileri	58
Şekil 4. 13. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma NO düzeylerine etkileri	58
Şekil 4. 14. Ovaryum T/D'u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma Cp düzeylerine etkileri	59

Şekil 4. 15.Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku GSH düzeylerine etkileri.....	59
Şekil 4. 16.Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma GSH düzeylerine etkileri	60
Şekil 4. 17. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku GPx akvitelerine etkileri.....	60
Şekil 4. 18. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma GPx akvitelerine etkileri.....	61
Şekil 4. 19.Kontrol grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	62
Şekil 4. 20. Sham grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	63
Şekil 4. 21.Torsiyon grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	63
Şekil 4. 22.Torsiyon grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	64
Şekil 4. 23.Torsiyon/Detorsiyon grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	64
Şekil 4. 24.Torsiyon/Detorsiyon grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	65
Şekil 4. 25.Torsiyon/Detorsiyon + DMSO grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	65
Şekil 4. 26.Torsiyon/Detorsiyon + DMSO grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti	66
Şekil 4. 27.Torsiyon/Detorsiyon + Rutin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti.....	66
Şekil 4. 28.Torsiyon/Detorsiyon + Rutin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti.....	67
Şekil 4. 29.Torsiyon/Detorsiyon + Taksifolin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti ..	67
Şekil 4. 30.Torsiyon/Detorsiyon +Taksifolin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti ...	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2. 1.Serbest radikaller ve diğer reaktif nitrojen-oksijen türleri	6
Çizelge 2. 2. Flavonoidlerin sınıflandırılması.....	22
Çizelge 3. 1. Deney Düzenegi.....	31
Çizelge 4. 1. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin ovaryum biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri	54
Çizelge 4. 2.Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri	55
Çizelge 4. 3. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin ovaryum histolojisi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi.....	62

SİMGELER VE KISALMALAR DİZİNİ

ALT: Alanin Amino Transferaz
AP-1: Aktivasyon Proteini-1
ARE: Nrf2-Antioksidan Cevap Elementi
AST: Aspartat Amino Transferaz
C Vitamini: Askorbik Asit
CAT: Katalaz
COX: Siklooksijenaz
Cp: Seruloplazmin
ÇDYA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
DiOHF: 3',4'-Dihydroxyflavonol
DMSO: Dimetilsülfoksit
eEF2: eUzama Faktörü 2
EGFR/Akt: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör/Protein Kinaz B
Fe²⁺: Ferröz
Fe³⁺: Ferrik
GGT: γ -L Glutamil-Transpeptidaz
GPx: Glutasyon Peroksidaz
GSH: Glutasyon
GST: Glutasyon-S-Transferaz
G6PD: Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
SOR: Serbest Oksijen Radikalleri
T/D: Torsiyon ve Detorsiyon
H₂O₂: Hidrojen Peroksit Reaktifi
OH⁻: Hidroksil Anyonu
OH^{*}: Hidroksil Radikali
HO₂^{*}: Hidroksiperoksil Radikali
HOCl: Hipokloröz Asit Reaktifi
İ/R: İskemi ve Reperfüzyon
iNOS: İndüklenebilir NOS
KO: Ksantin Oksidaz
LDH: Laktat Dehidrogenaz
LOOH: Lipid Hidroperoksit Reaktifi
LOX: Lipoksijenaz
M1dG: Pirimidopürinon
MDA: Malondialdehid
MAA: Malondialdehid Asetaldehid
MAPK: Mitojen İle Aktive Edilen Protein Kinaz
MPO: Miyeloperoksidaz
NADH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NOS: Nitrik Oksit Sentaz
nNOS: Nöronal NOS
NO/NOS: Nitrik Oksit/Nitrik Oksit Sentaz
NER: Nükleotit Eksisyonu Yolağı
Nrf2: Nükleer Faktör Eritroid 2-Salınan Faktör-2

NFE2L2: Nükleer Faktör Like-2
NFjB: Nükleer Faktör jB
NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B
NO: Nitrik Oksit
NO^{*}: Nitrik Oksit Radikali
NO₂^{*}: Azot Dioksit Radikali
NOS: Nitrik Oksit Sentaz
O₂: Oksijen
*O₂: Tekli Oksijen Reaktifi
O₂^{*}: Süperoksit Radikali
ONOO^{*}: Peroksinitrit Reaktifi
O₃: Ozon Reaktifi
OSI: Oksidatif Stres İndeksi
PKC: Protein Kinaz C
PMO: Polimorfonükleer Lökosit
PPAR: Peroksizom Prolifelatör İle Aktive Edilen Reseptör
R^{*}: Karbon Merkezli Radikal
ROO^{*}: Peroksil/Karboksil Radikali
RO^{*}: Alkoksil Radikali
RS^{*}: Tiyoil Radikal
SOD: Süperoksit Dismutaz
TAS: Toplam Antioksidan Seviyesi
t-BHP: Tert Bütil Hidroksiperoksit
TNF-α : Tümör Nekroz Faktör Alfa
TOS: Toplam Oksidan Seviyesi
VET: Veterinerlik
γGLCL: L-Glutamat- L-Sisteine γ-Ligaz
4-HNE: 4-Hidroksinonenal
4S-HPNE: 4-Hidroperoksi-2E-Nonanal
13-HPODE: 13-Hidroperoksioktadekodik Asit
13-Hp-Epo-Asid: Hidroperoksi Epoksidin
15-HETE: 15-Hidroksieikozatetraenoik Asit
15-HPETE: 15-Hidroperoksieikozatetraenoik Asit
15-LOX: 15-Lipoksigenaz

ÖZET

Rat Ovaryumunda İskemi/Reperfüzyon Hasarına Karşı Rutin ve Taksifolinin Olası Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması

Çalışmada ratlarda ovaryum torsiyon/detorsiyon modelinde (iskemi/reperfüzyon), rutin ve taksifolinin olası iyileştirici etkilerinin biyokimyasal ve histolojik analizler ile araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 70 adet Sprague-Dawley ırkı ratlar; grup 1: kontrol, grup 2: sham, grup 3: torsiyon (T), grup 4: torsiyon/detorsiyon (T/D), grup 5: torsiyon/detorsiyon+dimetilsülfoksit (T/D+DMSO), grup 6: torsiyon/detorsiyon+rutin (T/D+rutin, 80 mg/kg), grup 7: torsiyon/detorsiyon+taksifolin (T/D+Taksifolin, 40 mg/kg) olarak ayrılmıştır. Plazma ve ovaryum örneklerinde biyokimyasal analizler ile ovaryumda histolojik muayeneler gerçekleştirilmiştir.

Plazma LPO düzeyleri yönünden T/D+Taksifolin grubunda, kontrol, T ve T/D gruplarına göre azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$). Doku MDA düzeyleri T/D+DMSO, T/D+rutin ve T/D+Taksifolin gruplarında, T/D grubuna göre azalmıştır ($p<0,001$). Doku Cp düzeyleri T/D+rutin grubunda, T/D+DMSO grubuna kıyasla önemli düzeyde düşük ($p<0,01$) olarak belirlenmiştir. Doku GSH düzeyleri değerlendirildiğinde; T/D+DMSO grubunda, T/D grubuna göre önemli bir artış olduğu belirlenirken ($p<0,05$), T/D+rutin ve T/D+taksifolin gruplarında, T/D+DMSO grubuna göre önemli bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Plazma GSH düzeyleri T/D+DMSO grubunda, T/D grubuna göre önemli bir artış göstermiştir ($p<0,001$).

Torsiyon grubunda normal histolojik yapı ile birlikte foliküler yapılanmada bozulmalar ve atretik folikül tespit edilmiştir. Ayrıca intersitisyel alanlar ile corpus luteum ve çevresinde hemoraji ve hiperemi gözlenmiştir. Torsiyon/detorsiyon grubunda, T grubu ile karşılaştırıldığında daha yoğun bir hiperemi ayrıca yaygın bir hemoraji gözlenmiştir. T/D+DMSO grubunun, folikül yapılarındaki bozulmalar ve doku bütünlüğü açısından T/D, T/D+rutin ve T/D+taksifolin gruplarına benzer olduğu görülmüştür. Hemorajik alan yoğunluğunun sham ve T/D+taksifolin grubuna yakın derecede olduğu bununla birlikte hiperemik alanların T, T/D, T/D+rutin ve T/D+taksifolin gruplarına göre azaldığı, hatta sham grubuna yakın olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak T/D+DMSO grubunda, T/D grubuna kıyasla, doku MDA düzeylerinin düşük ve doku ile plazma GSH düzeylerinin yüksek olması, DMSO içinde çözündürülen

rutin ve taksifolinin doku GSH düzeylerini T/D+DMSO grubuna göre düşürmesi ile histolojik bulgular birlikte değerlendirildiğinde; DMSO'nun ovaryum torsiyon/detorsiyon hasarında olumlu etkiye sahip bir ajan olabileceği, rutin ve taksifolinin uygulanan dozda ve metotla prooksidan etkinlik göstermiş olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Rutin, Taksifolin, Ovaryum, İskemi/Reperfüzyon, Torsiyon/
Detorsiyon



ABSTRACT

Investigation of the Possible Protective Efficacy of Rutin and Taxifolin Against Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat Ovary

In this project, it was aimed to investigate the possible ameliorative effects of rutin and taxifolin in the ovarian torsion/detorsion model (ischemia/reperfusion) in rats with biochemical analyzes and histological examinations.

Seventy Sprague-Dawley rats, 8-10 weeks old, were used in the study. Rats were divided into; group 1: control, group 2: sham undergoing laparotomy, group 3: torsion (T), group 4: torsion/detorsion (T/D), group 5: torsion/detorsion+dimethylsulfoxide group (T/D+DMSO), group 6: torsion/detorsion +rutin (T/D+rutin, 80 mg/kg), group 7: torsion/detorsion + taxifolin (T/D + taxifolin, 40 mg/kg) . Biochemical parameters were determined in plasma and ovary samples. Histological examinations were performed on ovarian tissues.

There was a significant decrease in plasma LPO levels in the T/D+taxifolin group compared to the control, T and T/D groups ($p<0.01$). When tissue MDA levels are examined; a significant decrease was observed in the T/D+DMSO, T/D+rutin and T/D+taxifolin groups compared to the T/D group ($p<0.001$). Tissue Cp levels were found to be significantly lower ($p<0.01$) in the T/D+rutin group compared to the T/D+DMSO group. When tissue GSH levels are evaluated; it was determined that there was a significant increase in the T/D+DMSO group compared to the T/D group ($p<0.05$), a significant decrease was observed in the T/D+rutin and T/D+taxifolin groups compared to the T/D+DMSO group ($p<0.05$). When the plasma GSH levels were examined, it was determined that there was a significant increase in the T/D+DMSO group compared to the T/D group ($p<0.001$).

In the torsion group, together with the normal histological structure, deteriorations in follicular structure and atretic follicle were detected. In addition, hemorrhage and hyperemia were observed in interstitial areas, corpus luteum and its surroundings. A more intense hyperemia and extensive hemorrhage were observed in the torsion/detorsion group compared to the T group. It was observed that the T/D+DMSO group was similar to the T/D, T/D+rutin and T/D+taxifolin groups in terms of deterioration in follicle structures and tissue integrity. It was observed that the hemorrhagic area density was close to the sham

and T/D+taxifolin groups, however, the hyperemic areas were decreased compared to the T, T/D, T/D+tutin and T/D+taxifolin groups, even close to the sham group.

As a result; findings revealed that T/D+DMSO decreased tissue MDA levels and increased tissue and plasma GSH levels compared to T/D group, and that rutin and taxifolin dissolved in DMSO decreased tissue GSH levels compared to T/D+DMSO group. When evaluated together with histological examinations, it was concluded that DMSO maybe an agent that has a positive effect on ovarian torsion/detorsion injury, and that rutin and taxifolin may have demonstrated pro-oxidant activity at the applied dose and method.

Key Words: Rutin, Taxifolin, Ovary, Ischemia/Reperfusion, Torsion/Detorsion.



1. GİRİŞ

Ovaryum torsiyonu, jinekolojik operasyonlarda 5. sırada yer alan ve jinekolojik aciller içerisinde % 2-3 oranında rastlanılan, daha çok üreme çağındaki kadınlarda (adölesan) görülse de prepubertal veya postmenapozal dönemde de karşılaşılabilen bir olgudur. Adneksal torsiyon, ovaryum dokusunda iskemi meydana gelmesine neden olan bir olgudur ve adneksin (over ve fallop tüpleri), infundibulopelvik ve tuboovaryen ligamanın ekseninde etrafında en az tam bir tur dönmesi olarak tanımlanır. Adneksal torsiyon sonrasında oluşan arteriyel blok, damar tıkanıklığı ve hemorajik nekroza neden olarak iskemiye yol açar.

İskemi, organ/dokuyu besleyen damarların (arter/vena) tıkanması sonucunda organ/dokuya giden kan akımının azalması ve buna bağlı olarak meydana gelen yetersiz perfüzyon sebebiyle doku ve hücrelerin oksijenden (O_2) yoksun kalması şeklinde tanımlanır. Hücrelerin yetersiz O_2 'e maruziyeti, hücrelerde hasara neden olan bir dizi hücre içi kimyasal olayları başlatır; anaerobik metabolizmanın devreye girmesi ve artması ile hücre içi pH düşer ve hücre içi enzim kinetiği ve dengesi değişir. Reperfüzyon ise, yetersiz perfüzyonun ortadan kaldırılması ve dokuya yeniden kan ve O_2 girişinin sağlanması olarak tanımlanmaktadır. Organlardaki reperfüzyonun sağlanması ilaç veya mekanik müdahale uygulamaları ile yapılabilmektedir. Reperfüzyonun hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjiyi yeniden sağlanması ve oluşan toksik metabolitlerin atılması gibi yararlı etkileri bulunsa da meydana gelmiş olan iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açtığı gözlenmektedir. İskemi sırasında hücrede serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimi artar. Artan SOR ise yağ asitlerinin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasarına yol açar.

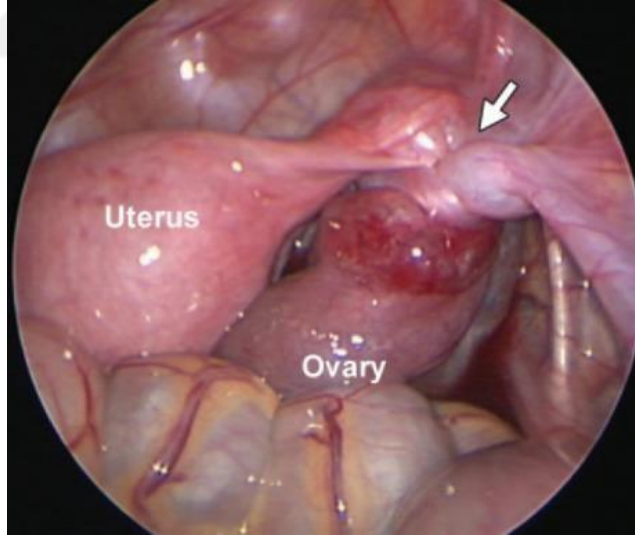
Ovaryum torsiyonu sırasında meydana gelen bu hasara müdahale edilmediği takdirde meydana gelen iskemi overin, fallop tüpünün ve/veya tüm adneksin nekrozu ve kaybına sebep olarak fertilitiyi olumsuz etkileyebilir. Ovaryum torsiyon/detorsiyonunda tedavi cerrahi olarak gerçekleştirilmektedir. Geçmiş yıllarda, cerrahi operasyon oofektomi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise kiskektomi sonrasında detorsiyonun uygun sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Günümüzde adneksin detorsiyonu

sonucunda dokuda meydana gelen iskemi-reperfüzyon hasarını azaltabilmek için antienflamatuvar ve antioksidan tedaviler denenmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

Daha çok üreme çağındaki kadınlarda (adölesan) görülse de prepubertal veya postmenapozal dönemde de karşılaşılabilen ovaryum torsiyonu insanlarda acil jinekolojik operasyonlarda 5. sırada yer alırken, jinekolojik aciller içerisinde de % 2-3 oranında rastlanılmaktadır (Green ve ark. 2003, Mashlach ve ark. 2011). Adneksal torsiyon, ovaryum dokusunda iskemi meydana gelmesine neden olan bir olgudur ve adneksin (over ve fallop tüpleri) infundibulopelvik ve tuboovaryen ligamanın eksenini etrafında en az tam bir tur dönmesi olarak tanımlanır (Akalin 2014). Torsiyon, çok nadir olarak over veya fallop tüplerinde ayrı ayrı da gerçekleşebilmektedir. Adneksal torsiyon sonrasında oluşan arteriyel blok damar tıkanıklığı ve hemorajik nekroza neden olarak doku iskemisine yol açar (Parashar ve Uppal 2011, Akalin 2014).

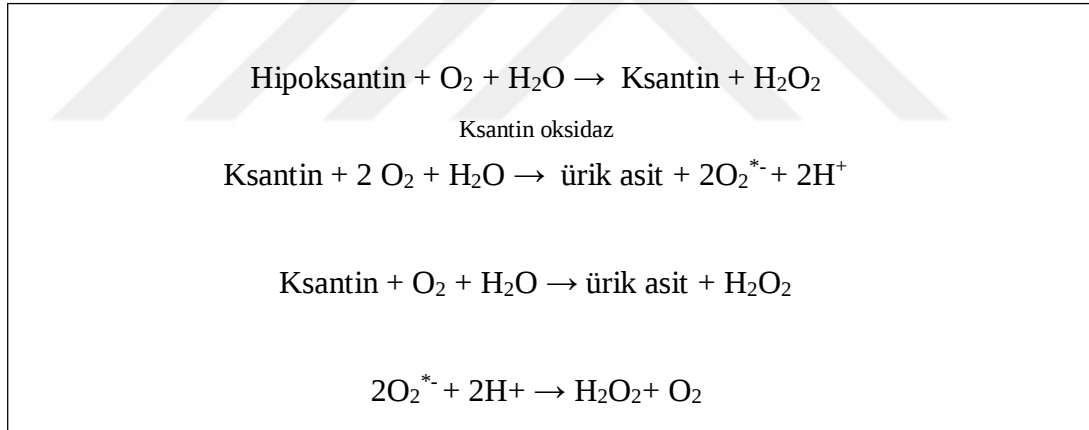


Şekil 2.1. Ovaryum torsiyonu. Uterusu gösteren intraoperatif fotoğrafta kıvrılmış yumurtalık pedikülü görülmektedir (Trinh ve Kennedy 2015).

2.1. Torsiyon (İskemi) Mekanizması

Torsiyon sonucu oluşan iskemi, organ/dokuyu besleyen damarların (arter/vena) tıkanması sonucunda organa/dokuya giden kan akımının azalması ve buna bağlı olarak

meydana gelen yetersiz perfüzyon sebebiyle doku ve hücrelerin oksijenden (O_2) yoksun kalması (hipoksi) şeklinde tanımlanır. Hücrelerin yetersiz O_2 'e maruziyeti, hücrelerde hasara neden olan bir dizi hücre içi kimyasal olayları başlatır; anaerobik metabolizmanın devreye girmesi ve artması ile hücre içi pH düşer ve hücre içi enzim kinetiği ve dengesi değişir. Ayrıca, enerji metabolizması sekteye uğrar. Gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan adenosin trifosfat bağımlı Na^+/K^+ pompasında fonksiyon bozukluğuna yol açarak akut hücre şişmesine neden olur (Özkaya 2010). Ayrıca hücrede Na^+/K^+ pompasının işlev yetersizliği hücre içi Na^+ miktarının artmasına, K^+ miktarının azalmasına yol açar. Hücre içi Na^+ miktarı artışı Na^+/H kanallarının aktivitelerinde azalmaya yol açar. Bununla birlikte hücre ve endoplazmik retikulum membranındaki Ca^{2+} pompasının (Ca^{2+} -ATPaz pompası) fonksiyonel bozukluğu görülür (Ornellas ve ark. 2017). Artan Ca^{2+} iyonları sonrasında dakikalar içinde fosfolipazlar aktifleşerek membran fosfolipidlerinin hidrolizine, serbest yağ asitlerinin artmasına yol açar (Katsukive Okuda 1995, Rao ve ark. 1999).



Şekil 2.2. Ksantin oksidaz aktivitesi (Kostic ve ark. 2015, Aziz ve Jamil 2021).

İskemi sürecinde serbest oksijen radikalleri (SOR) üretimiyle ilişkilendirilen hipoksantin miktarında artma görülür (Aziz ve Jamil 2021). Pürin katabolizmasında guanin mono fosfat (GMP) ve adenin mono fosfatın (AMP) ksantin ve hipoksantine dönüşümü gerçekleşir. Oluşan ksantin ve hipoksantin ürik asite dönüşümü ksantin oksidaz tarafından katalizlenir. Oksijenin elektron alıcısı olduğu bu reaksiyonlarda süper oksit radikali (O_2^{*-}) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) açığa çıkar. Oluşan O_2^{*-} , süperoksit

dismutaz (SOD) ile H_2O_2 ve O_2 'e dönüştürülür. İskemi sırasında hücrede birikmiş olan hipoksantin, hücreye O_2 'nin girişi sayesinde aktivitesi artan ksantin oksidaz (KO, 1.17.3.2) ile yıkılmaya çalışılır ancak bu reaksiyon sonucunda SOR üretimi artar (Kostic ve ark. 2015, Aziz ve Jamil 2021).

2.2. Detorsiyon (Reperfüzyon) Mekanizması

Dokunun yeniden kanlanması amacıyla gerçekleştirilen detorsiyon işlemiyle meydana gelen reperfüzyon (perfüzyonun yeniden sağlanması) sırasında hücrelere yeniden O_2 girişi meydana gelir. Organlardaki reperfüzyonun sağlanması ilaç veya mekanik müdahale uygulamaları ile yapılabilmektedir. Reperfüzyonun hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjiyi yeniden sağlanması ve oluşan toksik metabolitlerin atılması gibi yararlı etkileri bulunsa da meydana gelmiş olan iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açtığı gözlenmektedir, şöyle ki, reperfüzyon sırasında oluşan SOR'leri ve iskemik dönemde aktifleşen fosfolipaz A_2 'nin membranlardaki yağ asitlerini parçalaması hücre hasarının artmasında en önemli iki neden olarak karşımıza çıkmaktadır.

Metabolizma sırasında hücrelerde sürekli olarak SOR (OH^* , süperoksit, hidrojen peroksit) üretilmektedir. Bu SOR hücredeki birçok organelde ve sitoplazmada oluşmakta olup mitokondri başlıca SOR kaynağı olarak bilinmektedir. Elektron transfer zincirindeki kompleks I ve kompleks III, gliserol-3-fosfat dehidrogenaz, Q oksidoredüktaz, pirüvat dehidrogenaz ve 2-oksooglutarat dehidrogenaz mitokondride O_2^{*-} üretir (Okado-Matsumato ve Fridovich 2001, Brand 2010). Ayrıca hücrede, demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn) ve alüminyum (Al) gibi metaller Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarına neden olarak hidroksil radikali (OH^*) ve hidroksil anyonu (OH^-) oluştururlar (Liochev ve Fridovich 2002). Peroksizomlarda da yağların beta- ve alfa- oksidasyonu sırasında hidrojen peroksit (H_2O_2), O_2^{*-} ve OH^* üretimi gerçekleşir (Di Meo ve ark. 2016). Endoplazmik retikulumda protein katlanma mekanizmasının değişimi, yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin oluşumuna sebep olup endoplazmik retikulum stresine yol açar (Schroder ve Kaufman 2005, Scriven ve ark. 2007); protein disülfid izomeras (PDI) tiyol-disülfid değişimini yapan enzim olup (Ellgaard ve Ruddock 2005), endoplazmik retikulum oksidoretuktin-1 tarafından okside edildiğinde

redükte PDI'dan elektron alarak O_2 'e aktarır ve böylece H_2O_2 oluşumuna yol açar (Tu ve Weismann 2004, Zito 2015).

Çizelge 2.2. Serbest radikaller ve diğer reaktif nitrojen-oksijen türleri (Valko ve ark. 2004, Genestra 2007)

Serbest radikaller	Radikal olmayan reaktif Oksijen- nitrojen türleri	SOR etkisiyle oluşan radikaller
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Karbon merkezli radikal ($R^{\cdot}$)
Hidroksil ($OH^{\cdot}$)	Tekli Oksijen ($^{\cdot}O_2$)	Peroksil/Karboksil ($ROO^{\cdot}$)
Hidroksiperoxisil ($HO_2^{\cdot}$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)	Alkoksil ($RO^{\cdot}$)
Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)	Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)	Tiyol radikaller ($RS^{\cdot}$)
Azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$)	Ozon (O_3)	
	Lipid Hidroperoksit ($LOOH$)	

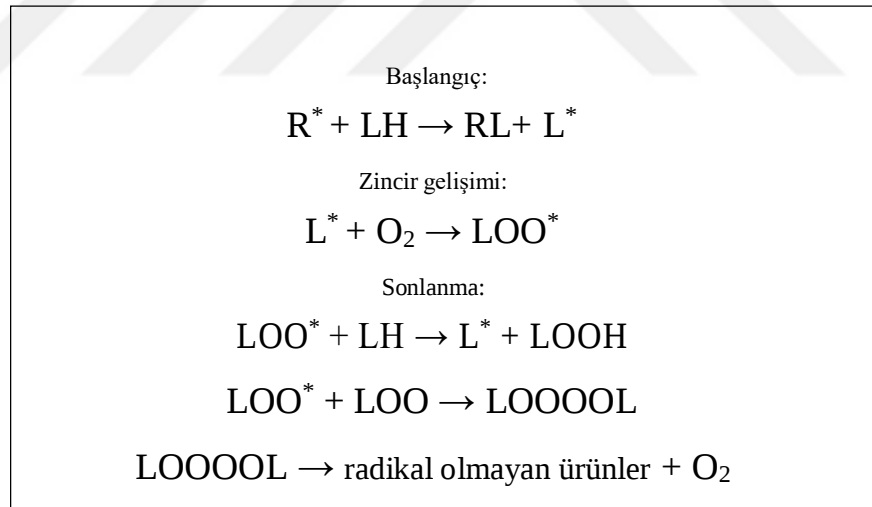
Fizyolojik şartlarda ya da düşük peroksidasyon düzeylerinde hücre, temel antioksidan savunma sistemi ile ya da antioksidan protein sinyal mekanizmasının yeniden düzenlenmesiyle stres durumuna adapte olur. Yüksek peroksidasyon düzeylerinde ise oksidatif hasarın, hücre tamir mekanizmalarının kapasitesinin üstüne çıkması nedeniyle apoptosis ve/veya nekroz mekanizmaları uyarılır. Her iki mekanizma da birçok patolojik durumun ortaya çıkmasına neden olur (Fruhwirth ve ark. 2007, Volinsky ve Kinnunen 2013). İskemi/reperfüzyon sırasında aşırı düzeyde artan SOR hücre membranlarında bulunan çoklu çift bağa sahip yağ asitlerini okside ederek lipid peroksit ürünlerinin (LPO) artmasına ve membran bütünlüğünün kaybına neden olurlar. Böylelikle hücrede ozmotik basınç değişimi, şişme ve ölüm meydana gelir (Grace, 1994).

2.3. Lipid Peroksidasyon Mekanizması

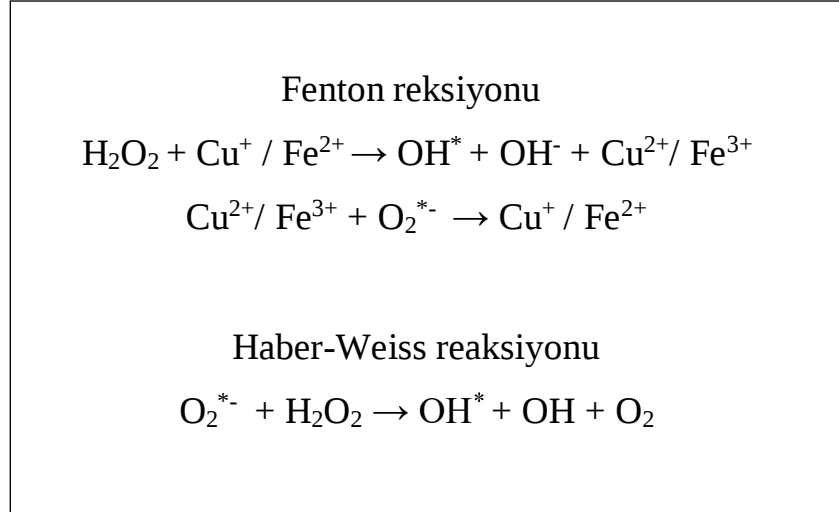
Lipid peroksidasyonu genellikle serbest radikal ya da radikal olmayan oksidan türlerinin yağ asitlerindeki karbonlar arasında bulunan çift bağlara saldırmasıyla lipid peroksil radikalleri ve hidroperoksit oluşumu olarak tanımlanmaktadır (Yin ve ark. 2011).

Lipidleri en çok etkileyen SOR; OH* ve hidroperoksil (HO₂*) olup, bunlardan OH* en reaktif serbest O₂ türü olarak bilinmektedir. Hücreler yarılanma ömrü kısa olan OH* molekülünü saniyede yaklaşık 50 adet kadar üretirken, gün boyunca bu sayı 4 milyonu bulabilir. Bu molekül nötralize edilmezse biyomoleküllerle etkileşime girerek yapılarını bozmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1984). Lipid peroksidasyonunda önemli rolü olan HO₂*, Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarında OH* oluşumuna yol açmaktadır. Süperoksit radikalinden çok daha güçlü bir oksidan olan HO₂* çoklu doymamış fosfolipidlerin oksidasyonuna sebep olarak membran fonksiyonunun zarar görmesine yol açmaktadır (Browne ve Armstrong 2000). Bununla birlikte glikolipid, fosfolipid ve kolesterol molekülüleri de peroksidatif zarar ve modifikasyonun hedefleri arasında yer almaktadır. Lipidler ayrıca lipoksigenaz, siklooksigenaz ve sitokrom P450 gibi enzimler tarafından da oksitlenebilmektedir.

Lipid peroksidasyonu başlangıç, zincir gelişimi ve sonlanma şeklinde üç basamakta gerçekleşmektedir.



Şekil 2.3. Lipid peroksidasyonu (Ayala ve ark. 2014. -yeniden düzenlenmiştir.). R*: başlangıç radikali, L*: lipid radikali, LOO*: peroksil radikali, LH: Lipid molekülü.



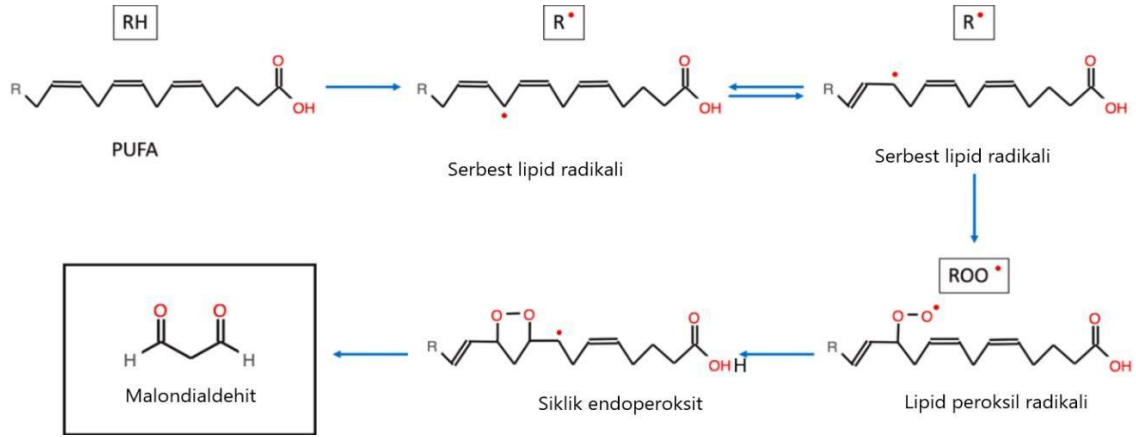
Şekil 2.4. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları (Ayala ve ark. 2014).

2.4. Lipid Peroksidasyon Ürünleri

Lipid peroksidasyonu sırasında birçok oksidasyon ürünü ortaya çıkar. Başlıca lipid peroksidasyonu ürünü lipid hidroperoksittir (LOOH). Bununla beraber malondialdehid (MDA, $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_4$), propanal, hekzenal ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi birçok aldehid lipid peroksidasyonu süresince ikincil ürünler olarak ortaya çıkar (Ayala ve ark. 2014).

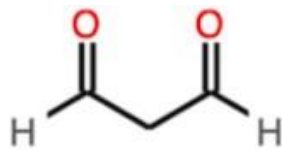
2.4.1. Malondialdehid

Malondialdehid en mutajenik lipid peroksidasyon ürünü olarak kabul edilmektedir (Esterbauer ve ark. 1991). Araşidonik asit metabolizmasında ve çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) metabolizmalarında üretilmekte olan MDA yüksek reaktivliği sebebiyle protein, lipoprotein ve DNA gibi birçok moleküle kolaylıkla bağlanarak konformasyonel değişime yol açmaktadır (Vance ve Vance 2002). Malondialdehid ve LPO ürünleri oksidatif stres biyomarkırı olup günümüzde birçok metabolik bozukluğun teşhisinde kullanılmaktadır (Moldovan ve Moldovan 2004, Yin ve ark. 2011, Kanno ve ark. 2012, Shetty ve ark. 2021, Ghosh ve ark. 2022).



Şekil 2.5. MDA üretimi (Mas-Bargues ve ark. 2021)

İki biyofonksiyona sahip olan MDA'nın aktivitesi pH'ya bağlı olarak değişebilmektedir; fizyolojik pH'da enolat iyonu olarak düşük aktiviteye sahipken pH azaldıkça β-hidroksiakrolein olarak işlev görmekte ve aktivitesi artmaktadır (Esterbauer ve ark. 1991). Malondilalehitin yüksek reaktifliğinin elektrofil özelliğine bağlı olduğu düşünülmekte olup temel amino asitler gibi biyomoleküllere karşı yüksek nükleofil reaktifliği olduğu bilinmektedir. Serbest amino asit ya da proteinlerin MDA ile reaksiyonlarından öncelikle Schiff bazları oluşmaktadır (Traverso ve ark. 2004, Pizzimenti ve ark. 2013). Asetaldehid oksidatif stres durumunda ve MDA varlığında malondialdehid asetaldehid (MAA) oluşturmaktadır (Tuma ve ark. 2001, Tuma 2002). Bu moleküller ilerlemiş lipid peroksidasyon son ürünleri olarak bilinmektedir.



Şekil 2.6. Malondialdehit yapısı (Mas-Bargues ve ark. 2021)

Malondialdehit tarafından modifiye edilebilen önemli proteinler; (i) Protein sentezi sırasında ribozomun mRNA boyunca hareketini katalizleyen eUzama faktörü 2 (eEF2). (ii) kompliman sistemi sıkıca kontrol ederek, ev sahibi hücrelere saldırmasını

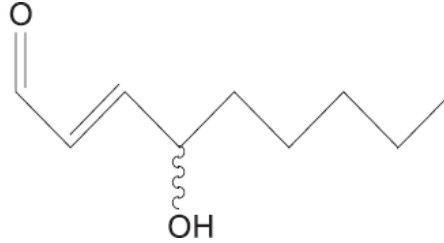
engelleyen faktör H (FH) (Weismann ve ark. 2011). (iii) Aterosklerozda oluşan inflamasyon ve kompliman sistem aktivasyonu ile ilişkilendirilen Anafilatoksin C3a (proinflamasyon kompliman bileşenleri). (iv) Hücre içi sinyal transdüksiyonunda önemli rol oynadığı bilinen protein kinaz C (PKC) (Kharbanda ve ark. 2002).

Malondialdehitin DNA hasarı ve mutasyonuna neden olduğu bilinmektedir (Niedernhofer ve ark. 2003, VanderVeen ve ark. 2003). Malondialdehit deoksiguanozin ve deoksisitidin gibi nükleozitlerle reaksiyona girerek pirimidopürinon (M1dG) oluşturmaktadır (Niedernhofer ve ark. 2003, Del Rio ve ark. 2005). Genomik DNA üzerindeki M1dG kalıntılarının başlıca onarım mekanizması nükleotit eksisyonu yolağı (NER) olarak bilinmektedir (Fink ve ark. 1997, Marnett 1999). Onarım mekanizmaları yokluğunda MDA-DNA ürünleri nokta ve çerçeve kayması mutasyonları (VanderVeen ve ark. 2003), zincir kırılması (Niedernhofer ve ark. 2003), hücre döngüsünün durması (Ji ve ark. 1998) ve apoptosis indüklenmesine yol açabilmektedir (Willis ve ark. 2004).

2.4.2. 4-Hidroksinonenal

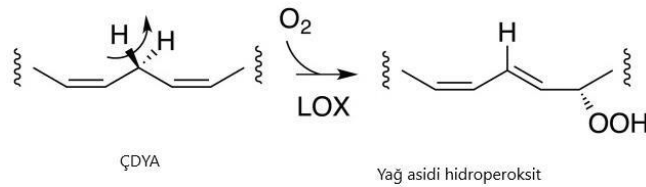
Lipid peroksidasyonunda üretilen 4-HNE başlıca lipid alkoksil-radikallerinin β -ayırılma reaksiyonlarında açığa çıkmaktadır. Bu yolak Fe^{2+} gibi geçiş metallerinin etkisiyle önce lipid hidroperoksid daha sonra da lipid alkoksil radikaline parçalanır. Lipid hidroperoksidin C-C bağları Hock düzenlemesiyle protonlanarak C-O bağlarına dönüştürülür. Hidroperoksidin lipid peroksid radikali kolaylıkla dioksietan ve dioksietanla sonlanmış ayrıkların oluşmasına neden olur. Serbest radikaller ω -6 ÇDYA'ya saldırır. Sonrasında reaktanların moleküler O_2 ile tepkimeye girmesiyle 13- HPODE ve 15-HPETE gibi hidroperoksid türevleri oluşur. Alilik H'in yapıdan ayrılmasından sonra stabil olmayan dihidroperoksid türevleri oluşur. Hock düzenlenmesinden sonra 4-HNE öncülü olan 4-hidroperoksi-2E-nonanal(4S-HPNE) oluşur. Linoneat türevli hidroperoksi epoksidin (13-Hp-Epo-Asid) Fe^{2+} tepkimesi alkoksil radikalini üretir. Bu radikal di-epoksi-karbonil radikali ve β -kesilmesinden sonra 4-HNE gibi farklı aldehit bileşikler oluşturur (Ayala ve ark. 2014). Aşırı reaktif bağlar içeren 4-HNE, üç adet fonksiyonel gruba sahiptir; (i) C=C çift bağları Michael reaksiyonları, redüksiyon ya da epoksidasyon hedefi olabilmektedir. (ii) Karbonil grubu asetal/tiyoasetale dönüşebilmekte ya da Schiff bazı, oksidasyon ve redüksiyon hedefi

olabilmektedir. (iii) Hidroksil grubu bir ketona okside olabilmektedir (Esterbauer ve ark. 1991, Schaur 2003).



Şekil 2.7. 4-HNE moleküler yapısı (Petersen ve Doorn 2004).

15-Lipoksigenaz (15-LOX) 4-HNE molekülünün enzimatik sentezini sağlamaktadır. Retikulosit, eozinofil ve makrofajlardan sentezlenen 15-LOX-1 ve deri, kornea, prostat, akciğer, özafagustan sentezlenen 15-LOX-2 olmak üzere 15-HNE'nin başlıca iki tipi olduğu bilinmektedir (Klil-Drori ve Ariel 2013). İnsanlarda 4-HNE'nin başlıca öncül molekülleri; linoleik asitin 15-LOX-1 katalizörlüğünde oksidasyonu sonucu oluşan 13-hidroperoksioktadekondionik asit (13-HPODE) ve araşidonik asidin 15-LOX-2 tarafından oksidasyonu ile oluşan 15-hidroperoksieikozatetraenoik asit (15-HPETE) molekülleridir (Schneider ve ark. 2001, Riahi ve ark. 2010). Bu bileşiklerin kısaömlü olduğu ve lipoksin, lökotrien, 15-hidroksieikozatetraenoik asit (15-HETE) gibi daha kararlı moleküllere yıkıldığı bilinmektedir (Massey ve Nicolaou 2011). 15-hidroksieikozatetraenoik asit inflamasyon, kaspaz-3 ve 8 aktivasyonu, sitokrom c salınımı gibi proapoptotik fonksiyonla ve DNA fragmantasyonu ile ilişkilendirilmektedir (Mahipal ve ark. 2007, Kumar ve ark. 2009).



Şekil 2.8. Lipoksigenaz aktivitesi. ÇDYA; çoklu doymamış yağ asidi, LOX; lipoksigenaz (Newcomer ve Brash 2015)

4-hidroksinonenal; hidroperoksid, alkoksi radikali, epoksid moleküllerinin oluşumuna bağlı olarak oksijen radikalleri ile nonenzimatik reaksiyonlarda da oluşabilmektedir.

Lipid peroksidasyonunda oluşan 4-HNE hücrede sinyal molekülü olarak işlevi de bulunmaktadır; 4-HNE strese duyarlı nükleer faktör eritroid 2-salınan faktör-2 (Nrf2), aktivasyon proteini-1 (AP-1), nükleer faktör kappa B (NF-κB), peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör (PPAR) gibi birçok transkripsiyon faktörünü regüle edebilmektedir. Ayrıca mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK), epidermal büyüme faktörü reseptör/protein kinaz B (EGFR/Akt) yolağını ve protein kinaz C gibi stres cevap yollarını aktive edebilmektedir (Ishii ve ark. 2004, Huang ve ark. 2012). Nrf2-antioksidan cevap elementi(ARE) aktivatörlerinin yönetilmesi hücreyi 4-HNE toksisitesinden korumaktadır (Miller ve ark. 2013).

2.5. Nitrik Oksit

Reperfüzyon etiyolojisinde yer alan temel mekanizmalardan biri de peroksinitrit oluşumudur. Peoksinitrit oluşumuna neden olan ajanlardan biri nitrik oksit (NO) olup, endotel kökenli, son derece hızlı ve kısa süreli etkiye sahip, tüm vasküler sistemde eksprese edilen bir vazodilatatör ajandır (Demirci ve ark. 2004). Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz (NOS) ile L-arginin'den sentezlenir. Endotelyal NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) olmak üzere, nitrik oksit sentaz enzimleri üç grupta toplanır. Normal fizyolojik süreçler içinde eNOS ve nNOS tarafından üretilen NO miktarlarına gereksinim varken, doku dejenerasyonu gibi durumlarda iNOS aktivitesinin artması sonucu fazla miktarda NO üretilir ve bu miktarlar hücre için zarar verici olabilir. iNOS aktivitesinin artışıyla sentezi artan NO, süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek peroksinitrit anyonlarının (OONO-) ve lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunu artırır (Aydoğdu ve ark. 2007). Serbest radikal özelliği bulunan nitrik oksit (NO), ovaryumda görev alan intraovarian araçılardan biridir (Yamauchi ve ark. 1997). Ovaryumda belirlenen nitrik oksit/nitrik oksit sentaz (NO/NOS) sistemi folikülogenez, ovulasyon, oosit maturasyonu ve steroid sentezi gibi ovaryum fonksiyonlarının gerçekleşmesinde rol oynar (Chen ve ark. 2001). Vazodilatasyonla kollateral akım miktarının arttırılmasına yönelik ovaryumun detorsiyon işleminde, NO* 'in iskemik ortamda var olan serbest radikallerden

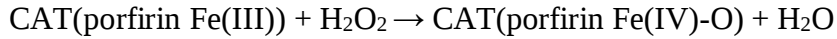
süperoksit'le birleşmesi ve peroksinitrit ortaya çıkmasına doku için dejeneratif etkilere neden olabilmektedir (Demirci ve ark. 2004).

2.6. Antioksidanlar

Serbest radikalleri ve lipid peroksit ürünlerini ortadan kaldırmak ya da zararlı etkilerini azaltmak üzere hücrede veya hücre dışında bir takım antioksidanlar bulunur ve bunlar endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılır. Endojen antioksidanlar da enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Hücrelerde endojen kaynaklı antioksidanların büyük bir bölümünü enzimler teşkil etmektedir. Serbest radikallere karşı ana savunmayı oluşturan enzimler katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) olarak sayılabilir. Ayrıca hücrede enzimatik olmayan en önemli endojen antioksidan bir tripeptit olan glutatyon (GSH)'dır (Akkuş 1995).

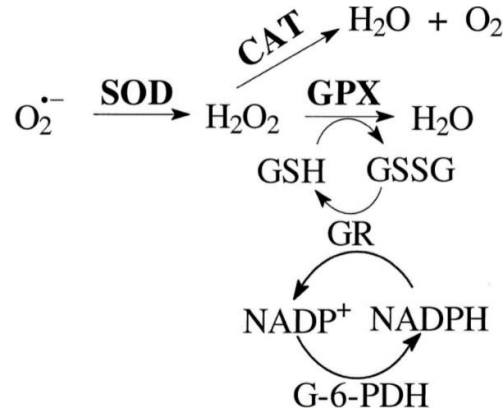
2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar

Hücrelerde oluşan H_2O_2 'in detoksifikasyonunda önemli bir yeri olan CAT (E.C. 1.11.1.6) aerobik organizmaların büyük kısmında bulunmaktadır. Enzim iki molekül H_2O_2 'i bir molekül O_2 ve iki molekül H_2O 'ya dönüştürür. Reaksiyon iki basamakta gerçekleşir.



$CAT(\text{porfirin Fe(IV)-O}) + H_2O_2 \rightarrow CAT(\text{porfirin Fe(III)}) + H_2O + O_2$ (Akkuş 1995, Nandi ve ark. 2019).

Dismutaz aktivitesine sahip olan SOD (EC 1.15.1.1) ise SOR detoksifikasyonunda ilk sırada yer almakta olup Cu/Zn SOD, Mn/Fe SOD ve Ni-SOD olmak üzere üç farklı tipte bulunmaktadır (Blackney ve ark. 2014). Enzim $O^{\cdot -}$ radikalinin H_2O_2 ve O_2 molekülüne dönüşümünü katalizler (Fridovich 1997).



Şekil 2.9. SOD, CAT, GR ve GPx reaksiyonları (Li ve ark. 2000).

Süperoksit dismutaz tarafından üretilen H_2O_2 , CAT ve GPx (E.C.1.11.1.9) tarafından H_2O ve O_2 moleküllerine dönüştürülür. Katalaz ve SOD'dan farklı olarak GPx'in reaksiyonunda, glutatyon redüktaz (GR) ve G6PD gibi ikincil enzimlere ayrıca GSH, NADPH, glikoz-6-fosfat (G-6-P) gibi kofaktörlere ihtiyaç duyulur (Li ve ark. 2000). Başlıca karaciğerde sentezlenmekte olan seruloplazmin (Cp) aynı zamanda inflamasyon ve doku hasarı gibi metabolik durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteindir (Fox ve ark. 1995, McPearson 1996). Seruloplazmin karaciğerde önce aposeruloplazmin olarak sentezlendikten sonra golgi organelinde 6-7 bakır atomu bağlanarak holo-seruloplazmin formuna dönüştürülür ve bu şekilde plazmaya salınır (Perman ve ark. 1979, Yuce ve ark. 1999). Akut faz proteini olan Cp'nin, organizmada antioksidan olarak da görev yaptığı bilinmektedir. Yara, infeksiyon, inflamasyon boyunca Cp aktivitesindeki artış, serum Cp'nin bir akut faz reaktanı ve bir antioksidan gibi hareket ettiğini göstermektedir (Gitlin 1988, Fleming ve ark. 1991). Seruloplazminin, SOR oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek, dokularda ve plazmada bulunan serbest radikallerin yol açtığı zararları engellediği bildirilmiştir (Burtis ve Ashwood 1999, Floris ve ark. 2000). Seruloplazmin, feroksidaz aktivitesiyle ferröz demirin (Fe^{2+}) ferrik demire (Fe^{3+}) oksidasyonunu katalizleyerek demirin transport proteini olan transferrin ve depo proteini olan ferritine bağlanmasını kolaylaştırırken, Fenton reaksiyonunu da önleyerek antioksidan aktivite gösterir (Fox ve ark. 1995). Süperoksit radikali ve H_2O_2 gibi oksidasyon ürünlerinin üretimiyle plazmada artan Cp'in, serum antioksidanı gibi görev yaptığı ortaya konmuştur (Osaki ve ark. 1966, Aouffen ve ark. 2001). Seruloplazminin, damar tonusunun

düzenlenmesinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Cappelli- Bigazzi ve ark. 1997, Bianchini ve ark. 1999). Seruloplazminin endotelial nitrik oksit sentaz fonksiyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Nitrik oksit sentaz, damar tonusunun korunması ile ilişkili olduğundan, Cp'nin damarların nitrik okside bağlı gevşemesinin kontrolü ile ilişkili bir rolü de olabileceği ileri sürülmektedir (Floris ve ark. 2000).

2.6.2. Enzimatik olmayan Antioksidanlar:

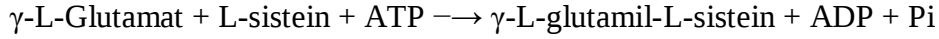
2.6.2.1. Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

2.6.2.1.1. Glutasyon

Endojen bir antioksidan olan GSH, bir tripeptid olup (L- γ -glutamil-L-sisteinil-glisin), organizmada başta antioksidasyon olmak üzere birçok önemli işleve sahiptir (Sies 1999, Diaz Vivancos ve ark. 2010).

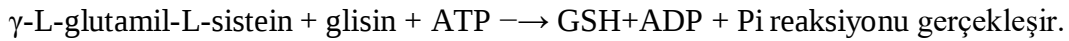
Glutasyonun sentezi in vivo olarak ATP bağımlı iki enzim tarafından gerçekleşir. Sentez iki basamaklı bir reaksiyonla sistein, glutamat ve sistein amino asitlerinden L-glutamat- L-sisteine γ -ligaz, (γ GLCL, EC 6.3.2.2) ve glutasyon sentaz (GS, EC 6.3.2.3) ile gerçekleşmektedir:

γ GLCL yardımıyla;



reaksiyonu gerçekleşir.

GLS yardımıyla;



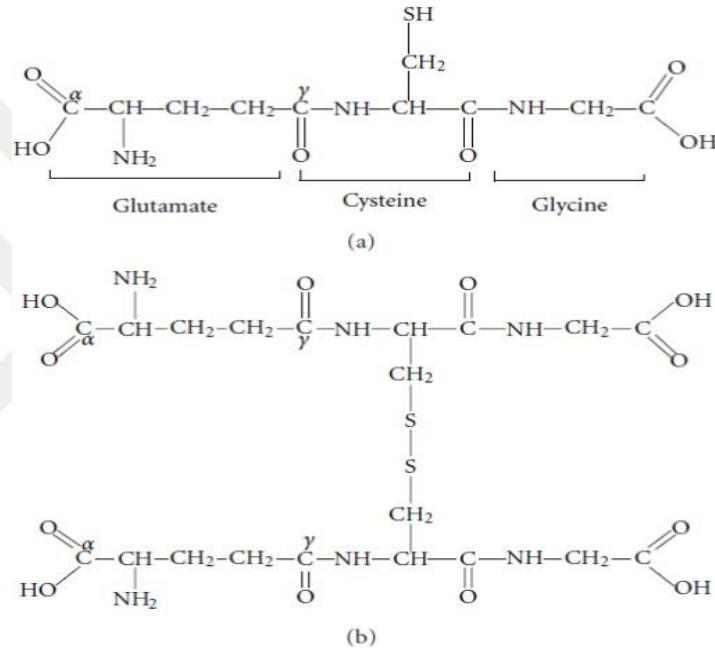
Heterodimer olan γ GLCL, denatüre edici olmayan koşullarda modülatör veya hafif alt üniteye (γ GLCLM) ve katalitik ya da ağır alt ünitelerine (γ GLCLC) ayrılabilir (Lu 2013). Sistein grubunun amino grubu ve γ -glutamat karboksil grubu arasındaki peptid bağı ATP hidrolizinden sağlanan enerjiyi kullanmaktadır. Oksidatif strese duyarlı protein sınıfına dahil olan γ GLCL sentezi başlıca nükleer faktör like-2 (NFE2L2) regülasyonu ile gerçekleşmekte olup birçok hücre tipinde oksidatif stres cevabı olarak sentezlenmektedir (Baldelli ve ark. 2013). Glutasyon sentezindeki ikinci enzim olan GS insanlardaki formu homodimerdir. Alt ünitesi 474 amino asit içermekte olup tek bir gen tarafından ifadenmektedir (Gali ve Board 1997). Enzim γ GLCL tarafından sentezlenen γ -L- glutamil-L-sistein glisin eklenmesini katalizlerken ATP hidrolizi ile açığa çıkan enerji

kullanılmaktadır. Glutasyon sentezi oranı L-sistein gibi başlıca substratlarının kullanılabilirliği (Anderson ve Meister 1983), γ GLCL miktarı (Chen ve ark. 2005), GSH'ın γ GLCL'yi geri beslemeyle inhibisyon oranı (Taylor ve ark. 1996) gibi birçok faktör tarafından kontrol edilmektedir. Glutasyon bütün hücre tiplerinde sentezlenmesine rağmen öncülleri karaciğerde yoğun bulunan sistein ve diyetle sınırlandırılabilen amino asitlerdir. Glutasyon sentezlendikten sonra mitokondri, endoplazmik retikulum gibi intraselüler yapılara ayrıca kan plazması, safra gibi ekstraselüler sıvılar diğer hücrelere ulaştırılmaktadır (Forman ve ark. 2009).

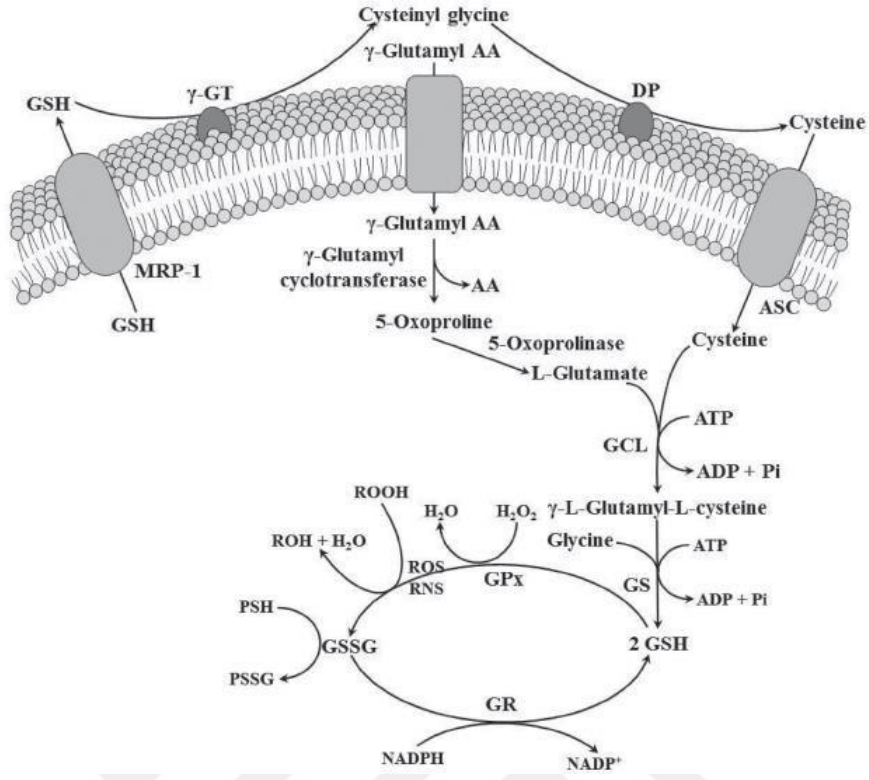
Hücre dışında bulunan GSH hücre yüzeyinde yer alan γ -L glutamil-transpeptidaz (GGT, EC 2.3.2.2) tarafından hidroliz edilmektedir (Zhang ve Forman 2009, Baudouin-Cornu ve ark. 2012). γ -L glutamil-transpeptidaz, GSH, GSH S-konjugat, GSH kompleksi gibi GSH-eklentili molekülleri katalizleyen tek enzimdir. Heterodimerik ve glikoprotein yapılı olan GGT; böbrek tübülü, çift katlı epitel ve beyin kılcal damarı gibi özel hücrelerin plazma membranlarında yerleşmiş olup GSH'ı glutamik asid ve sistein-glisine hidroliz eder. Oluşan dipeptid hücre yüzeyindeki dipeptidazlar tarafından hidroliz edildikten sonra açığa çıkan amino asitler hücre tarafından yeniden GSH sentezlemek üzere hücre içine alınırlar (Pompella ve ark. 2007). Hücre içi ve hücre dışı ortamda bulunan GSH düzeyi; GSH üretimi, tüketimi ve transportu arasındaki dengeye bağlı olarak belirlenmektedir. Glutasyon metabolizmasındaki enzimlerin aktiviteleri transkripsiyon, translasyon ve posttranslasyon düzeylerinde kontrol edilmektedir (Pocsi ve ark. 2004).

Organizmada okside ve redükte (GSSG ve GSH) formları bulunan GSH, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) moleküllerinden H alarak redüklenir ve hücrede önemli bir redoks durumu düzenleyicisidir (Jones ve ark. 2011). Glutasyon başlıca oksidasyon, konjugasyon ve hidroliz tepkimelerinde kullanılmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1984). Glutasyon doğrudan SOR, SNR, RO*, RO2*, O₂* ve ONOO⁻ ile tepkimeye girmektedir. Öte yandan GSH, SOR ve SNR tarafından doğrudan oksitlenebileceği gibi GSH bağımlı peroksidazların katalizlediği reaksiyonlarda dolaylı olarak da oksitlenebilmektedir. Sistein kısmında aktif tiol grubu taşıyan GSH, SOR ve SNR'leri ile etkileşimlerinde antioksidan olarak veya birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapmaktadır (Poole 2005, Duan ve Chen 2007). Glutatyondaki bu aktif tiol grubu antioksidan aktivitesi ve radikal türlerin direk zararsız hale getirilmesinde oldukça önemlidir. Glutasyon selenyum

bağımlı GPx kosubstratı olarak H_2O_2 ve lipid hidroksiperoksitlerin etkisizleştirilmesindeki en önemli mekanizmada rol almaktadır. Ayrıca, peroksiredoksinlerin, H_2O_2 'in GSH veya diğer tiyol grupları tarafından etkisizleştirilmesini katalizlediği ve aktif bölgelerinde selenyum-sistein yerine sisteinin tiyolat formu içerdiği öne sürülmüştür (Dickinson ve Forman 2002). Serbest oksijen radikalleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyon ürünleri olan MDA ve 4-HNE moleküllerinin detoksifikasyonunda da GSH antioksidan olarak görev yapmaktadır (Yadav ve ark. 2008, Zhong ve ark. 2013).



Şekil 2.10. GSH ve GSSG yapısı. (a) GSH, (b) GSSG (Lushchak 2012).



Şekil 2.11. Glutasyon biyosentezi ve metabolizması: GCL; glutamat-sistein ligaz, GS; glutasyon sentaz, γ -GT; γ -glutamil transpeptidaz, DP; dipeptidaz, GPx; glutasyon peroksidaz, ROOH; hidroperoksit, ROH; alkol, GSSG; glutasyon disülfid(okside glutasyon), GR; glutasyon redüktaz. (Singh ve ark. 2011).

2.6.2.2. Enzimatik olmayan eksojen antioksidanlar

2.6.2.2.1. Vitamin E

Eksojen antioksidanlardan biri olan E vitamini bir tokol çekirdeği içeren, Tokoferol olarak da adlandırılan, yalnızca bitkiler tarafından sentezlenen bir vitamindir. Yağda çözünen E vitamini, hücre zarlarında bulunan uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerini SOR ve NO^* 'nin oksidatif hasarlarına karşı korur. Böylelikle hücre zarlarının bütünlüğünü sağlar. Ayrıca steroid üreten dokularda yüksek miktarda bulunan E vitamini sitokrom p-450'nin aktiviteleri sonucunda oluşabilen lipid peroksidasyonuna karşı lipidleri korur (Altınar ve ark. 2017).

2.6.2.2.2. Vitamin C

Suda çözünen C vitamini (Askorbik asit) eksojen antioksidanlardanır ve birçok hayvan türünde D-glikozdan sentezlenir. İnsan, maymun, kobay, bazı kuşlar ve balıklarda ise vitamin C sentezi yapılamaz, çünkü bu canlılarda L-glonolakton oksidaz enzimi genetik olarak yoktur. Vitamin C, sulu ortamda SOR ve SNR'lerine karşı antioksidan etkinlik göstererek hücredeki molekülleri oksidatif hasardan korur. Ayrıca kollajen, karnitin ve nörotransmitter sentezinde rol aldığı bilinmektedir (Li ve Schellhorn 2007). Alfa-tokoferoksil radikallerinden alfa-tokoferol sentezini gerçekleştirerek Vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlar (Carr ve ark. 1999, Kalaycıoğlu ve ark. 2013).

Organizmada serbest radikal oluşumunu artıran, hücre ve dokulara zarar veren bir durum olan torsiyon/detorsiyon sonrasında hücrelerin sahip olduğu antioksidan potansiyel yetersiz kalmaktadır. Torsiyon/detorsiyon (İ/R) sırasında ve sonrasında kalp, testis, böbrek ve karaciğer dokularında ve kanda MDA/LPO düzeylerinin arttığı, SOD, GPx, CAT gibi bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı bildirilmiştir; Erkek Wistar Albino ratlarda karaciğerde oluşturulan İ/R sonucunda karaciğer MDA ve GSSH düzeylerinde sham grubu ile kıyaslandığında anlamlı artış olduğu rapor edilmiştir (Eken ve Kurnaz 2019). Ratlarda kalpte oluşturulan I/R sonucunda, kontrol grubu ile kıyaslandığında miyokard dokusu MDA düzeyinin arttığı, SOD ve GPx aktivitesinin ise azaldığı bildirilmiştir (Tang ve ark. 2019). Ratlarda intestinalde oluşturulan I/R hasarında COX-2 gen ekspresyonunun arttığı, CAT, SOD, GPx aktivitelerinin ve GSH düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Gugliandolo ve ark. 2020). Korkmaz ve Kolankaya (2010) erkek rat böbreklerinde oluşturulan I/R hasarında, kontrol grubuna göre, böbrek GSH düzeyi ile MnSOD aktivitesinin azaldığını, serumda ise üre, kreatin ve laktat dehidrogenaz (LDH) seviyelerinin arttığını bildirmiştir. Sprague-Dawley rat testislerinde yapılan bir çalışmada I/R hasarının testislerde kontrol grubuyla kıyaslandığında MDA düzeyini arttırdığı, SOD ve CAT aktivitesini ise azalttığı rapor edilmiştir (Wei ve ark. 2011).

Ovaryum T/D ile meydana gelen doku iskemisi sonrasında da dokuda ve kanda SOR, MDA ve birçok toksik madde ortaya çıkmaktadır. Demir ve ark. (2021) rat ovaryumlarında T/D uygulaması sonrasında serum oksidatif stres indeksi (OSI) ve TOS düzeylerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında yükseldiğini rapor etmişlerdir. Wistar albino rat ovaryumlarında T/D hasarında, kontrole göre, hem torsiyon hem de detorsiyon

gruplarında serum TOS ve OSI düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Dokuyucu ve ark. 2014). Karameşe ve ark. (2015) rat ovaryumlarında oluşturdukları I/R hasarında ovaryum IL-1-beta, IL-6 ve iNOS ekspresyonları ile MDA düzeyinin arttığını, SOD ve GSH aktivitelerinin ise azaldığını açıklamışlardır. Yine ratlarda yapılan bir başka çalışmada, torsiyon ve torsiyon/detorsiyon hasarı sonucunda, sham grubuyla kıyaslandığında doku MDA düzeylerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Akdemir ve ark. 2014).

Artan bu toksik maddelerin dokuya hasar vermesinin önüne geçilmediği takdirde over, fallop tüpü ve/veya tüm adneks nekroza uğrayabilir ve fertilité olumsuz etkilenebilir (Green ve ark. 2003). Ayrıca, adneksiyal torsiyon, çok nadir olarak pelvik tromboflebit veya peritonit gibi komplikasyonlara yol açabilir. Tanıda ve müdahalede gecikme, ovaryumun kaybına veya folikül rezervinin azalmasına neden olabilir (Parasharve Uppal 2011, Akalın 2014). Ovaryum torsiyon/detorsiyonunda tedavi cerrahi olarak gerçekleştirilmektedir. Geçmiş yıllarda, ovaryumun detorsiyonunun emboliye neden olacağı savunulduğundan, cerrahi operasyon oofektomi şeklinde gerçekleştirilmekte idi (McGovern ve ark. 1999). Son yıllarda yapılan çalışmalarda (Quillin ve ark. 1994, Chapron ve ark. 1996, Ercan ve ark. 2011, Erkal ve ark. 2014) ise kiskektomi sonrasında detorsiyonun uygun sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Ancak, İ/R sonrasında aşırı düzeyde artan ROS'un ortamdan uzaklaştırılması için hücrenin sahip olduğu antioksidan kapasite yetersiz kaldığından, günümüzde adneksin detorsiyonu sonucunda dokuda meydana gelen lokal ve sistemik etkileri ve olası iskemi-reperfüzyon hasarını azaltabilmek için antioksidan tedaviler denenmektedir (Taşkın ve ark. 1998, Ergün ve ark. 2010, Osmanağaoğlu ve ark. 2012). Bu amaçla ovaryum T/D rat modelinde eritropoetin, dimetil sülfoksit, amlodipin, klotrimazol ve flavonoidlerden 3',4'-dihydroxyflavonol (DiOHF), osajin ve chrysin'in koruyucu etkinliklerinin olduğu bildirilmiştir (Halıcı ve ark 2008, Ergün ve ark 2010, Osmanağaoğlu ve ark. 2012, Çığsar ve ark. 2015, Ağartan 2017, Dirik ve ark. 2021).

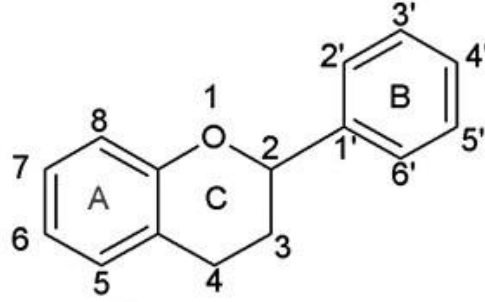
3',4'-dihydroxyflavonol (DiOHF) uygulamasının İ/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, rat ovaryumunda T/D sonucunda artan MDA düzeylerinin DiOHF uygulanan gruplarda düştüğü bildirilmiştir (Ağartan 2017). Doğal bir flavonoid olan Chrisin balda, propoliste ve birçok bitki ekstraktında bulunmakta olup antioksidan, antiinflamatuvar ve antidiabetik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Khan

ve ark. 2012, Belhan ve ark. 2020a). Chrisinin testis İ/R hasarına karşı koruyucu özellikte olduğu ortaya konulmuştur (Belhan ve ark. 2020b). Ayrıca, rat ovaryumlarında T/D sonucunda serumda ve ovaryumda GSH düzeyleri ile GPx ve SOD aktivitelerinin kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir. Chrisin uygulanan grupta ise, T/D grubuna göre hem serumda hem de ovaryumda GSH seviyeleri ile GPx ve SOD aktivitelerinin anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir (Dirik ve ark. 2021). *Maclura pomifera* bitki meyvelerin ekstraktından elde edilen bir flavonoid olan osajin'in, rat ovaryum T/D hasarına karşı koruyucu etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada T/D grubuna artan polimorfonükleer lökosit (PMO) infiltrasyonunun, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ve LPO düzeylerinin T/D-osajin gruplarında azaldığı rapor edilmiştir (Çığışar ve ark. 2015). Gencer ve ark. (2014) ovaryum T/D uyguladıkları ratlarda quercetin'in iskemi sonrasında artan modifiye albümin düzeylerini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

2.6.2.2.3. Flavonoidler

İsmi Latince sarı anlamında olan 'flavus' kelimesinden alan flavonoidler flavon, flavonol, flavonon gibi farklı kimyasal formlarda bitkilerde yaygın olarak bulunan antioksidan etkili moleküllerdir (Formica ve Regelson, 1995). Yenilebilen sebze ve meyvelerde de olmak üzere bugüne kadar 4000 civarında flavonoid izole edilmiştir (Stavric 1994, Trouillas ve ark. 2006).

Antioksidan özellikleri nedeniyle, flavonoidlerin birçok hastalığı önleyici oldukları ve dolayısı ile sağlığı olumlu etkiledikleri düşünülmektedir (Salaritabar ve ark. 2017). Bu amaçla dışardan organizmaya alınan flavonoidler, hem endojen antioksidanların etkilerini artırabilmekte hem de farklı mekanizmalarla serbest radikallere karşı savaşılabilmektedir (Sunil ve Xu 2019). Flavonoidler, gerek radikalleri doğrudan temizleyerek gerekse serbest radikalin reaktif kısmı ile reaksiyona girerek, lipid peroksidasyonunu ve hücre hasarı önlerler (Nijveldt ve ark. 2001, Cotelle 2001, Sunil ve Xu 2019). Antioksidan etkinliklerinin yanında antiviral, antiinflamatuvar, antiallerjik ve antitrombotik etkileri de bildirilen flavonoidler, birçok araştırmaya konu olmaktadır.



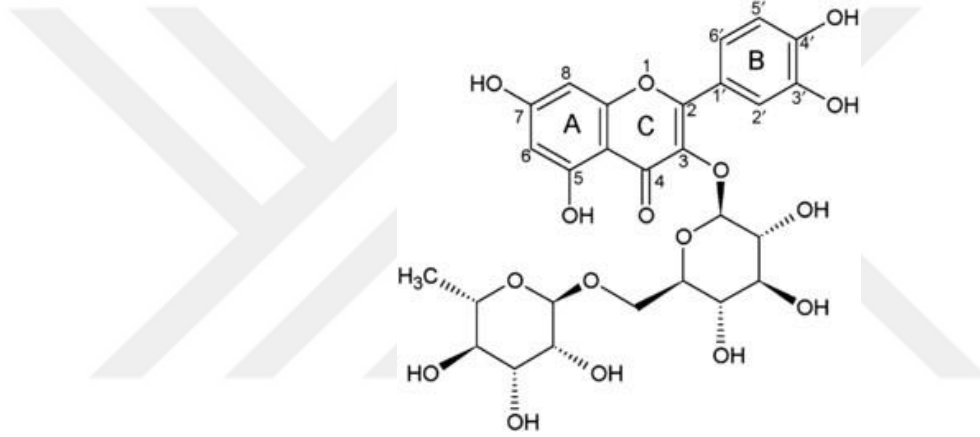
Şekil 2.12. Flavonoid temel yapısı (Panche ve ark. 2016).

Çizelge 2.1. Flavonoidlerin sınıflandırılması (Öztürk 2012).

Flavanol	(+)-Kateşin (-)-Epikateşin Epigallokateşin Epikateşin gallat Epigallokateşin gallat		3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3',4'-OH,3-gallat 3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallat	Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay
Flavon	Krisin Apigenin Rutin Luteolin		5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3-rutinoz 5,7,3',4'-OH	Meyve kabuğu Maydonoz, kereviz sapı K.şarap, domates kabuğu, turunçgiller Kırmızı biber
Flavonol	Kaempferol Kuersetin		3,5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH	Brokoli, greyfurt, çay Soğan, brokoli, domates, çay, k. şarap, mor meyveler, zeytinyağı, elma
	Minisetin Morin Fisetin		3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH 3,7,3',4'-OH	Üzüm, böğürtlen, K.şarap K.şarap, mor meyveler
Flavanon	Naringin Naringenin Taksifolin Hesperidin Hesperetin		5,4'-OH, 7-ramnoglukoz 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH,4'-OMe,7-rutinoz 3,5,3'-OH,4'-OMe	Turunçgiller, greyfurt Turunçgiller Turunçgiller Portakal Portakal
Izoflavon	Genistin Genistein Daidzin daidzein		5,4'-OH,7-glukoz 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-glukoz 7,4'-OH	Soya fasulyesi ve fistiği Soya fasulyesi ve fistiği Soya fasulyesi ve fistiği Soya fasulyesi ve fistiği
Antosiyanidin	Apigenidin Siyanidin Malvidin		5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,4'-OH, 3',5'-OMe	Renkli meyveler Vişne, çilek, böğürtlen Kırmızı üzüm ve şarap

2.6.2.2.3.1. Rutin

Rutin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon-3-ramnoglukozid) rutin trihidrat, quercetin-3-rutinoside, rutoside ve sophorin olarak da adlandırılan, kimyasal olarak; rutinoz (disakkarit) ile birlikte flavonolik aglikon kuersetin içeren bir glikozittir (Shenbagam ve Nalini 2011, Nafees ve ark. 2015). Moleküler formülü $C_{27}H_{30}O_{16}$ olup molekül ağırlığı 610,51 g/mol'dür (Kapeřov'a ve ark. 2019). Rutin en fazla bulunduğu meyveler narenciye meyve ve kabukları, dut ve kızılıçtır. Ayrıca, elma, çay ve karabuğdayda da hatırı sayılır bir miktarda rutin bulunmaktadır (Singh ve ark. 2019, Shenbagam ve Nalini 2011).



Şekil 2.13. Rutinin kimyasal yapısı (Shenbagam ve Nalini 2011, Agrawal ve ark. 2021).

Rutin hidrofobik bağları nedeniyle suda 0,125 g/L gibi düşük çözünmeye sahipken metanolde 55 g/L, etanolde 5,5 g/L, piridinde 37,3 g/L ve dimetilsülfoksitte 100 g/L gibi çözücülerde yüksek çözünürlüğe sahip olduğu ifade edilmiştir (Gullon ve ark. 2017). Flavonoidlerin bağırsaklarda zayıf emiliminin; moleküler ağırlık, glikozillenme ve gut mikroflorasıyla ilişkisini olduğu düşünülmektedir (Thilakarathna ve Rupasinghe 2013). İn vitro yapılan bir çalışmada rutin, yavaş emildiği ve sekal mikrobiyaya tarafından quersetine hidroliz edildiği rapor edilmiştir (Manach ve ark. 1997). Bir başka çalışma da rutin rat sindirim sisteminde düşük oranda emildiğini göstermiştir (Carbonaro ve Grant 2005). Yapılan klinik bir çalışmada 500 mg rutin dozunun maksimum 6-7 saatte quersetinehidroliz edildiği ve quersetinin 24 saat içinde tamamen temizlendiği bildirilmiştir (Boyle ve ark. 2000). Rutinin bağırsaklardan zayıf emilimi, yüksek metabolizma ve hızlı atılımı nedeniyle düşük biyoyararlanımı, onun terapötik bir ajan olarak prospektif kullanımını

sınırlamaktadır (Maciej ve ark. 2015, Enogieru ve ark. 2018). Bu nedenle oral uygulama yerine parenteral uygulamalarının daha etkili olacağı düşünülebilir.

Rutin antioksidan, antiinflamatuvar, vazoprotektif, sitoprotektif, nöroprotektif, antilösemik, antikarsinojenik ve kardiyoprotektif etkileri bildirilmiştir (Arjumand ve ark. 2011, Lin ve ark. 2012, Aziza ve ark. 2014, Ganeshpurkar ve Saluja 2017, Singh ve ark. 2019).

Antiinflamatuvar etkinliği olan rutin'in TNF- α üretimini azaltması ve NF- κ B aktivasyonunu düşürmesi sebebiyle vasküler inflamasyonu tedavi edici potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir (Semwal ve ark. 2021). Rutin uygulaması sonucunda inflamasyon markırları olan IL-6, MAPK, NF- κ B, i-NOS ve COX-2 regülasyonlarının azaldığı birçok farklı deneysel modeller rapor edilmiştir; yapılan bir çalışmada RAW 264.7 hücrelerinde 50 ve 100 μ M rutin uygulanmasında, fagositik aktivitenin ve NO, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin düştüğü rapor edilmiştir (Tian ve ark. 2019). Ratlarda yapılan başka bir çalışmada, siklofosfoamid tarafından indüklenen hepatoksite, 100 mg/kg rutin uygulanmasında TNF- α , ve IL-6 regülasyonunun ve p38-MAPK, NFjB (Nükleer faktör jB), iNOS ve COX-2 ifadenmesinin düştüğü gösterilmiştir (Nafees ve ark. 2015). Rutinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinin, MAPK ve NFjB yolağıyla kesiştiği düşünülmektedir (Semwal ve ark. 2021). Metabolizmada karşılaşılan bir diğer önemli sorun oksidasyonlarda oluşan serbest radikaller ve bunların yol açtığı hasarlardır.

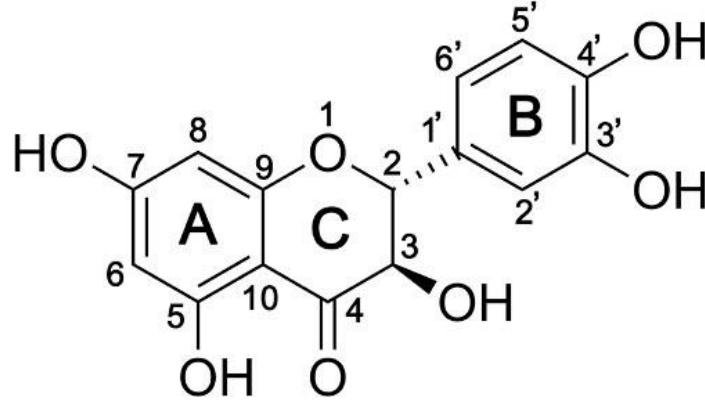
Yapılan çalışmalar rutin antioksidan etkilerini ortaya koymaktadır; insan eritrositleri ve rat karaciğerinde Singh ve ark. (2019)'ın yaptığı çalışmada t-BHP (tert bütül hidroksiperoksit) etkisiyle oluşan oksidatif strese, rutin CAT, SOD, GPx, GR ve GST (glutasyon S-transferaz) aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir. Ratlarda yapılan in vivo bir çalışmada Cd + etanol uygulanmasıyla testislerde oluşturulan oksidatif strese karşı 50 ve 100 mg/kg rutin (oral yolla) uygulanmasıyla sperm kalitesinin iyileştiği, GSH düzeyinin ve GPx aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Abarikwu ve ark. 2017).

Rutin, ratlarda yüksek düzeyde demir tarafından meydana getirilen hepatik oksidatif hasar sonrasında antioksidanlardan GSH düzeyi ile CAT ve SOD aktivitelerini artırdığı ve hücreleri oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (Aziza ve ark. 2014). Ratlarda etanole bağlı karaciğer toksikasyonuna karşı, rutin lipid peroksidasyonunu önleyerek koruyucu etkinlik gösterdiği de rapor edilmiştir (Shenbagam ve Nalini 2011). Antioksidan ve antiinflamatuvar etkinlikleri nedeni ile böbrek ve testis T/D modelinde

rutinin koruyucu etkinliği ortaya koyulmuştur; Korkmaz ve Kolankaya (2010) Wistar albino erkek rat böbrek T/D modelinde, T/D uygulaması sonrasında kontrol grubu ile kıyaslandığında böbrek GSH düzeyi ve MnSOD aktivitesinin azaldığını, MDA düzeyinin ise anlamlı bir artış gösterdiğini belirlemiştir. İskemi uygulamasından 1 saat önce uygulanan rutin (1g/kg dozda, i.p., fizyolojik tuzlu su içinde) ise T/D sonucu artan MDA düzeyini azaltırken, MnSOD aktivitesini ve GSH düzeyini artırmıştır. Ayrıca histolojik bulgular da T/D uygulaması sonrasında hasara uğrayan hücreler üzerine rutinin olumlu etkilerini göstermiştir. Erkek Sprague-Dawley ratlarda testis T/D'u sonucu MDA düzeyinin arttığı, SOD ve CAT aktivitesinin azaldığı, T/D uygulanan ratlarda detorsiyon sırasında rutin verilmesinin (30 mg/kg, i.v.), MDA düzeyini düşürdüğü, CAT ve SOD aktivitesini artırdığı ve histolojik olarak doku bütünlüğünün korunmasını sağladığı bildirilmiştir (Wei ve ark. 2011). Wistar albino ratlarda ovaryum T/D hasarı (2 saat torsiyon, 2 saat detorsiyon) uygulaması sonrasında 50 mg/kg dozda rutin, detorsiyon işleminden 1 saat önce distile suda çözündürülerek, intraperitoneal yolla uygulanmış, T/D grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde MDA artışı ve GSH düşüşü gözlenirken, rutin uygulamasının bu değişimleri T/D grubuna göre düzelttiği belirtilmiştir (Nayki ve ark. 2018).

2.6.2.2.3.2. Taksifolin

Flavonoidlerin flavonon alt sınıfından olan taksifolin (3,5,7,3,4-pentahidroksi flavonon veya dihidrokuersetin) turuncgiller ve soğanda bol miktarda bulunan, antiradikal özelliğe sahip güçlü bir antioksidandır (Rice-Evans ve ark. 1996, Menaa ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2019). Flavonollerin alt takımında yer alan taksifolin flavonoid ailesinden bir isoflavonondur. Temel yapısında C halkası ile birbirine bağlanan iki fenil grubu (A ve B halkası) içermektedir (Beecher 2003). Pentahidroksiflavon olan taksifolin; 3, 3', 4', 5 ve 7 pozisyonlarında 5 hidroksil bulunmaktadır. Molekül ağırlığı 304,5 g/mol olup molekül formülü $C_{15}H_{12}O_7$ şeklindedir (NCBI 2021). Taksifolin birbirine meta ve para pozisyonunda olan iki fenolik grubu içeren iki aromatik halkaya sahip olup bu fenolik gruplar taksifoline güçlü bir antioksidan aktivitesi sağlamaktadır (Sroka ve Cisowski 2003).



Şekil 2.14. Taksifolinin temel kimyasal yapısı (Das ve ark. 2021).

Moleküllerde aromatik halkaya bağlanan OH gruplarının sayısı arttıkça molekülün antioksidan aktivitesi de artmaktadır (Galato ve ark. 2001). Taksifolinin sahip olduğu aromatik halkaların rezonans ve kararlılığı güçlü bir antioksidan etkiye sahip olmasını sağlamaktadır (Topal ve ark. 2015). Taksifolinin C halkasının 2 ve 3. karbon atomları arasında çift bağ bulunmaması, onun makromoleküllerle güçlü H bağı kurarak inaktive olmasına karşı koruyucu etki göstermektedir. Nötrofillerin oksidatif ataklarına karşı taksifolinin C halkasında bulunan 3-OH grubu ve B halkasında yer alan katekol grubu önemli bir modülatör olmasını sağlamaktadır (Ribeiro ve ark. 2018). Ayrıca Katekol grubunun taksifoline, amiloid β -proteinlerin konformasyonlarının bozulmasını engelleme özelliği sağladığı ifade edilmiştir (Sato ve ark. 2013).

Taksifolinin antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, antikanser ve antioksidan etkileri rapor edilmiştir (Itaya ve Igarashi 1992, Kuang ve ark. 2017). Ratlarda serebral I/R hasarında, taksifolinin NF- κ B aktivasyonunu düzenleyebildiği belirtilmiştir. Öte yandan lökosit sızmasını engellediği, beyinde COX-2 ve iNOS gen ifadesini baskıladığı rapor edilmiştir (Wang ve ark. 2006). Taksifolin'in karaciğer üzerinde koruyucu etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda, retonon ile ratlarda oluşturulan hepatoksiklikte 0.25, 0.5 ve 1 mg/kg taksifolin uygulanmasıyla total protein miktarının arttığı, alanin amino transferaz (ALT), GGT ve aspartat amino transferaz (AST) aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir (Tapas ve ark. 2008). C halkasındaki C2-C3 arasında bulunan çift bağların, taksifolinin karaciğer koruyucu etkisi için son derece önemli olduğu vurgulanmıştır (Akinmoladun ve ark. 2018).

Farklı dokuların T/D modelinde taksifolinin koruyucu etkinliği ortaya konulmuştur; erkek albino ratlarda karaciğerde I/R hasarı sonrasında serum AST ve ALT düzeyleri ile karaciğer MDA düzeyleri artmış, GSH düzeyleri düşmüş, ayrıca histopatolojik olarak doku bütünlüğü bozulmuştur. İskemi uygulamasından 1 saat önce oral olarak uygulanan taksifolin (50 mg/kg dozda) serum ALT ve AST aktivitelerini ve doku MDA düzeylerini düşürmüş, GSH düzeylerini artırmıştır. Ayrıca taksifolin uygulaması karaciğer doku bütünlüğünü I/R hasarına karşı korumuştur (Eken ve Kurnaz 2019). Ratlarda kalp iskemisinde SOD ve GPx aktivitesinin azaldığı, MDA düzeyinin düştüğü gözlenirken, taksifolin uygulamasının (infüzyon şeklinde 5µM-15µM) SOD ve GPx aktivitesini arttırdığı, MDA seviyesini ise azalttığı açıklanmıştır (Tang ve ark. 2019). Balcı ve ark. (2019), erkek albino ratlarda yaptıkları çalışmada, böbrek I/R modelinde, I/R'nin doku MDA düzeylerini artırdığı, GSH düzeylerini ve sitoprotektif birenzim olan COX1'in aktivitesini düşürdüğü, I/R uygulamasından 1 saat önce taksifolin (50 mg/kg) uygulamasının ise bu düzeyleri normale çevirdiğini, böbrekte oluşan histopatolojik hasarı iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Kiremitli ve ark (2021), oral bir preparat olan ve *Larix sibirica*'dan elde edilen Taxifolini (Evalar Company, Russia) ovaryum T/D oluşturmada 1 saat önce ratlara oral yolla tek doz (50 mg/kg/canlı ağırlık, serum fizyolojik içinde) olarak uygulamışlar ve taksifolinin T/D sonrasında artan MDA ve azalan GSH düzeylerini tersine çevirdiğini, ayrıca histopatolojik hasarı düzelttiğini bildirmişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Sunulan çalışmada, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 8-10 haftalık (180-250 gr ağırlıkta), 70 adet, dişi Sprague-Dawley kullanılmıştır. Çalışma protokolü Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Karar no: 2020/06-10, Tarih: 16.10.2020) ve deneysel çalışmalar etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Deneme Planı ve Gruplar

3.2.1. Deneme Planı

Ratlar adaptasyon amacıyla çalışma başlamadan 1 hafta önce temin edildi. Bu süre içerisinde ratlar standart polietilen kafeslerde, oda ısısında (22-25°C), 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusunda barındırıldı. Su ve standart rat yemi *ad libitum* olarak sağlandı. Ratlar her bir grupta 10 hayvan olacak şekilde 7 gruba ayrıldı. Hayvanlardan 2 tanesinin sol ovaryumu histolojik analizler için kullanılırken, 8 tanesinin sol ovaryumu biyokimyasal analizler için kullanıldı. Tüm operasyonlar ksilazin hidroklorid (10 mg/kg, The Romper, Bayer, Almanya) ve ketamin hidroklorit (60 mg/kg, Ketan's, Eczacıbaşı, Türkiye) anestezisi altında gerçekleştirildi (Lebovic ve ark. 2004). Rutin (Rutin hydrate, abcr, Almanya) uygulaması için, rutin 80 mg/kg'lık çözeltisi dimetilsülfoksit (DMSO, (0,176 mg/kg, 1,6 ml NaCl içerisinde) (K45190143408, Merck, Almanya) içerisinde hazırlandı ve intraperitoneal (i.p.) yolla uygulandı (Korkmaz ve Kolankaya 2010, Wei ve ark. 2011, Gelen ve ark. 2018, Liu ve ark. 2018). Taksifolin (T4512-100MG, Sigma-Aldrich Co.) uygulaması için, taksifolin 40 mg/kg'lık çözeltisi DMSO (0,176 mg/kg, 1,6 ml NaCl içerisinde) içerisinde hazırlanarak i.p. yolla uygulandı (Gupta ve ark. 1971, Balcı ve ark. 2019, Eken ve Kurnaz 2019).

3.2.2. Gruplar:

Grup 1 (Kontrol Grubu): Herhangi bir işlem yapılmadan ketamin-ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi, sol ovaryumları alındı.

Grup 2 (Sham Grubu): Ketamin-ksilazin anestezisi altında, sol fossa paralumbalisten insizyon yapıldıktan sonra sol adneksa insizyon yerinden dışarı çıkarıldı ve yerine yerleştirilerek, serozaya bir sutur konularak, torsiyon yapılmadan insizyon yeri dikildi. 3 saat sonra yeniden bir laparaskopi yapıldı, sol ovaryumları alındı. Ovaryumlar alınmadan 30 dk önce i.p. yolla serum fizyolojik uygulandı.

Grup 3 (T grubu): Ketamin-ksilazin anestezisi altında, sol fossa paralumbalisten insizyon yapıldıktan sonra bir klips ile sol adneksaya 360° torsiyon yapılarak abdominal duvara fikse edildi ve insizyon yeri bir sutur ile dikilerek, 3 saatlik iskemi oluşturuldu. İskemi işlemi sonlanmadan 30 dk önce i.p. yolla serum fizyolojik uygulanıp 3 saatin sonunda insizyon yeri açılarak sol ovaryumları alındı.

Grup 4 (T/D grubu): Ketamin-ksilazin anestezisi altında, sol fossa paralumbalisten insizyon yapıldıktan sonra bir klips ile sol adneksaya 360° torsiyon yapıp abdominal duvara fikse edilerek insizyon yeri bir sutur ile dikildi ve iskemi oluşturmak için 3 saat beklendi. Detorsiyondan 30 dk önce (3 saatlik iskemi sonlanmadan 30 dk önce), i.p. yolla serum fizyolojik uygulandı. 3 saatin sonunda yeniden bir laparaskopi yapıldı ve adneksa detorsiyone edilip insizyon yeri bir sutur ile dikildi. Bu şekilde reperfüzyonun sağlanması için 3 saat daha beklendi. 3 saatin sonunda insizyon yeri açılarak sol ovaryumları alındı.

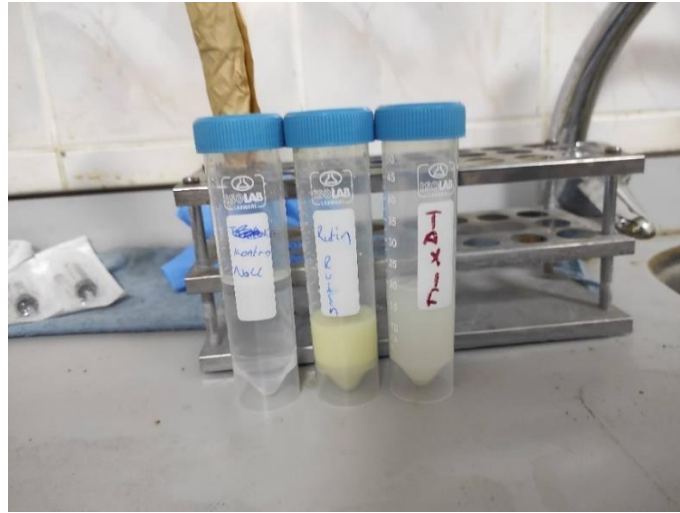
Grup 5 (T/D + DMSO grubu): Ketamin-ksilazin anestezisi altında, sol fossa paralumbalisten insizyon yapıldıktan sonra bir klips ile sol adneksaya 360° torsiyon yapıp abdominal duvara fikse edilerek insizyon yeri bir sutur ile dikildi ve iskemi oluşturmak için 3 saat beklendi. Detorsiyondan 30 dk önce (3 saatlik iskemi sonlanmadan 30 dk önce), i.p. yolla serum fizyolojik içinde DMSO (0,176 mg/kg, 1,6 ml) uygulandı. Üç saatin sonunda yeniden bir laparaskopi yapılarak adneksa detorsiyone edildi ve insizyon yeri bir sutur ile dikildi. Bu şekilde reperfüzyonun sağlanması için 3 saat daha beklendi. 3 saatin sonunda insizyon yeri açılarak sol ovaryumları alındı.

Grup 6 (T/D + Rutin grubu): Ketamin-ksilazin anestezisi altında, sol fossa paralumbalisten insizyon yapıldıktan sonra bir klips ile sol adneksaya 360° torsiyon yapıp abdominal duvara fikse edilerek insizyon yeri bir sutur ile dikildi ve iskemi

oluşturmak için 3 saat beklendi. Detorsiyondan 30 dk önce (3 saatlik iskemi sonlanmadan 30 dk önce), i.p. yolla DMSO (0,176 mg/kg, 1,6 ml serum fizyolojik içerisinde) ile sulandırılan rutin (80 mg/kg dozda, i.p.) uygulandı. Üç saatin sonunda yeniden bir laparaskopi yapılarak adneksa detorsiyone edildi ve insizyon yeri bir sutur ile dikildi. Bu şekilde reperfüzyonun sağlanması için 3 saat daha beklendi. Üç saatin sonunda insizyon yeri açılarak sol ovaryumları alındı.

Grup 7 (T/D + Taksifolin grubu): Ketamin-ksilazin anestezisi altında, sol fossa paralumbalisten insizyon yapıldıktan sonra bir klips ile sol adneksaya 360° torsiyon yapıp abdominal duvara fikse edilerek insizyon yeri bir sutur ile dikildi ve iskemi oluşturmak için 3 saat beklendi. Detorsiyondan 30 dk önce (3 saatlik iskemi sonlanmadan 30 dk önce), i.p. yolla DMSO (0,176 mg/kg, 1,6 ml serum fizyolojik içerisinde) içinde sulandırılan taksifolin (40 mg/kg, i.p.) uygulandı. Üç saatin sonunda yeniden bir laparaskopi yapılarak adneksa detorsiyone edildi ve insizyon yeri bir sutur ile dikildi. Bu şekilde reperfüzyonun sağlanması için 3 saat daha beklendi. Üç saatin sonunda insizyon yeri açılarak sol ovaryumları alındı.

Hayvanlar 37°C'lik bir su banyosunda ısıtılan aküler üzerinde, vücutları birbirine temas edecek şekilde yatırılarak vücut ısılarının operasyon süresi boyunca düşmesinin önüne geçildi. Operasyon sürecinde hayvanlara idame (yarı doz) doz anestezik uygulandı.



Şekil 3.1. Rutin ve taksifolinin çözündürülmesi.

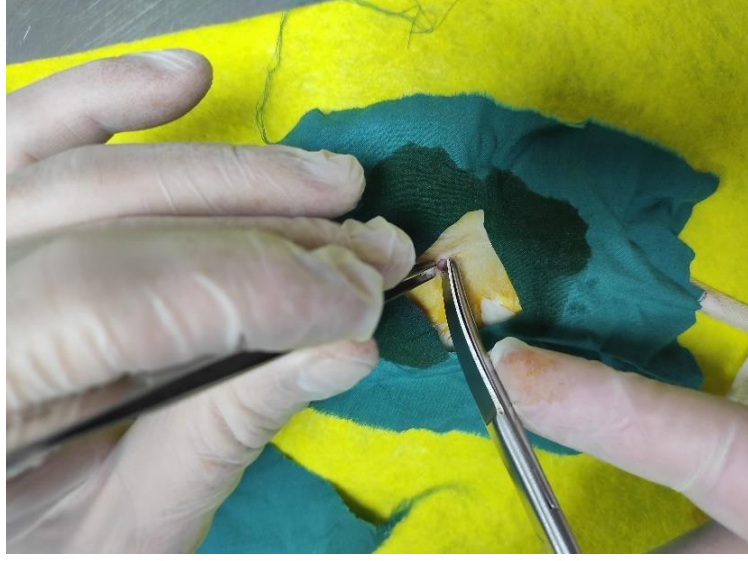
Çizelge 3.1. Deney Düzeni

Group	n	Rutin ve Taksifolin dozları	Rutin ve Taksifolin uygulama süreleri	Torsion Uygulama Süresi	Detorsion Uygulama Süresi
Kontrol	10	-	-	-	-
Sham	10	-	-	-	-
T	10	-	-	3 saat	-
T/D	10	-	-	3 saat	3 saat
T/D+DMSO	10	-	-	3 saat	3 saat
T/D-Rutin	10	Rutin 80 mg/kg	3,5 saat	3 saat	3 saat
T/D-Taksifolin	10	Taksifolin 40 mg/kg	3,5 saat	3 saat	3 saat

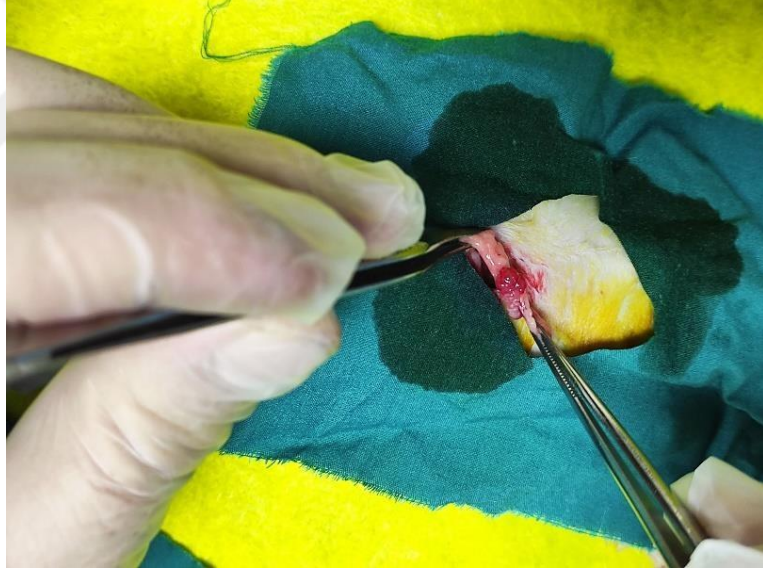
T: torsiyon, T/D: torsiyon/detorsiyon, T/D+DMSO: torsiyon/detorsiyon+DMSO, T/D-Rutin: torsiyon/detorsiyon+Rutin, T/D+Taksifolin: torsiyon/detorsiyon+Taksifolin.



Şekil 3.2. Ratların anestezide alınması ve operasyon bölgesinin dezenfeksiyonu.



Şekil 3.3. Sol paralumbalisten insizyon yapılması.



Şekil 3.4. Ovaryumun dışarı alınması.



Şekil 3.5.Sol adneksaya Clip Turcica'nın uygulanması.



Şekil 3.6. Clip Turcicanın sutur ile sabitlenmesi.



Şekil 3.7. Hayvanların operasyon sonrası görünümü.



Şekil 3.8. Hayvanların operasyon süresi boyunca bekletilmesi.

Deneme sonunda tüm ratlardan kalpten kan örnekleri de alındı ve hayvanlar ketamin/ksilazin anestezisi altında dekapitasyon ile kurban edildi. Kan plazmasında biyokimyasal, ovaryum dokusunda biyokimyasal ve histopatolojik analizler gerçekleştirildi.

3.3. Biyokimyasal ve Histolojik Analizler

3.3.1. Biyokimyasal Analizler

Kalpten alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplere aktarılıp 2500 rpm'de 15 dk +4°C'de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve analizlere kadar -20°C'de muhafaza edildi. Plazma örneklerinde LPO (Abcam ab133085, Cambridge, A.B.D.), GSH (Ellman 1959) ve NO düzeyleri (Rel assay, Gaziantep, Türkiye) ile GPx aktiviteleri (Beutler 1975) spektrofotometrik olarak (UV 2100 UV-VIS Recording Spectrophotometer, Shimadzu, Japonya) belirlendi.

Ovaryum dokularının homojenizasyonu amacıyla; öncelikle dokular % 0.9'luk sodyum klorür (NaCl) çözeltisinde yıkandıktan ve kurutma kağıdı arasında kurutulduktan sonra doku numunesi 1 ml phosphate buffered saline (PBS) tamponunda 1500 rpm'de 15 sn süreyle mekanik homojenizasyona (Wisd, Daihan Scientific, Güney Kore) tabi tutulduktan sonra ultrasonik homojenizatör (Bandelin Electronic UW 2070, Almanya) ile 10 sn süreyle sonike edildi (%100 amplitude, 2 cyle). Lipid peroksidasyon analizi için homojenatlar analize kadar -80 °C'de saklandı. Diğer parametrelerin analizleri için; sonikasyon sonrasında elde edilen homojenatlar 4100 rpm'de, 4°C'de, 30 dk santrifüj edilerek üstte kalan süpernatantlar analizleri yapılmaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Süpernatantlarda LPO (Abcam ab133085, Cambridge, A.B.D.), GSH (manüel yöntem), NO (Rel assay, Gaziantep, Türkiye) ve seruloplazmin (CP, Colombo ve Richerich 1964) düzeyleri ile GPx ve CAT aktiviteleri (Beutler 1975, Aebi 1984) spektrofotometrik olarak (UV 2100 UV-VIS Recording Spectrophotometer, Shimadzu, Japonya) belirlendi. Dokuların protein düzeylerinin belirlenmesi için Lowry ve ark. (1951) tarafından bildirilen metod kullanıldı.

3.3.1.1. Plazma ve Dokuda MDA Düzeyinin Analizi

Plazma ve doku numunelerinin MDA düzeylerinin tayini amacıyla Ohkawa ve ark. (1979)'ın metodu kullanıldı. Prensip: Aerobik şartlar altında ve pH:3.5'te, doku ve plazma numuneleri kaynar su banyosunda bir saat inkubasyonu sonucu, lipit peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın tiyo barbütrik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

- 1- TCA Çözeltisi (0,25 N HCL – %10 TCA içinde): Taze hazırlandı.
2,07 ml HCL (Merck 1.00314) + 10 g TCA (Merck 807) 100 ml distile suda hazırlandı.
- 2- Tiyo Barbütirik Asit Çözeltisi (0,25 N HCL içinde): Taze hazırlandı (TBA-Merck 1.08180.0025).
2,07 ml HCL + 0,375 g TBA alınarak 100 ml distile suda çözündürüldü.

Standart Hazırlanması:

Standart (1,1',3,3'- Tetraetoksipropan (Acros Organics 122-31-6): distile sudan 5 ml alındı, üzerine 5 ml etanol eklenerek %50'lik 10 ml etanol çözeltisi hazırlandı. Tetraetoksipropan'dan 50 µl alıp, 10 ml %50'lik etanolde çözündürüldü (20 mmol/ml). Bundan 50 µl alınıp 50 ml distile suya tamamlandı (20 nmol/ml). Daha sonra bu çözeltiden 2 kat sulandırılmalar yapılarak 10, 5, 2,5, 1,25 nmol/ml'lik konsantrasyonlu standartlar hazırlandı.

Prodesür:

	Numune (ml)	Blank (ml)	Standart (ml)
Örnek	0,25	-	-
Standart	-	-	0,25
Distile su	-	0,25	
TCA Çözeltisi	0,5	0,5	0,5
TBA Çözeltisi	0,5	0,5	0,5
	Karıştırıp 30 dk kaynar su hamamında (95°C) bekletildikten sonra 4100 rpm x 10 dk x 4°C santrüfuj edildi ve süpernatant alındı.		
	Süpernatantların absorbansı Blank'e karşı 532 nm'de okundu.		

Hesaplama: Standart eğri üzerinden numunelerin MDA düzeyleri hesaplandı.
nmol/g doku: (nmol/L)/(g/L). Sonuçlar nmol/L ve nmol/g doku olarak verildi.

3.3.1.2. Plazma ve Dokuda LPO Analizi

Doku homojenatları ve plazmalarda LPO analizi ticari test kiti (Abcam ab133085, Cambridge, A.B.D.) ile gerçekleştirildi. Buna göre; hidroperoksit ölçümü ferroz iyonlarının hidroperoksitlerle yaptığı redoks reaksiyonları kullanılarak yapılır. Hidroperoksitler yüksek kararsızlığa sahip olup ferröz iyonlarıyla kolaylıkla tepkimeye girip ferrik iyonu oluşturur. Ferrik iyon miktarı tiosiyanat iyonlarının kromojen olarak kullanılmasıyla ölçülür.

Kit prosedürüne göre numunelerde ön ekstraksiyon:

250 µl numune üzerine metanolde çözündürülmüş Ekstrakt R eklendi ve vortekslendi. Üzerine 500 µl kloroform ilave edildi ve vortekslendi. Daha sonra 3600 rpm x 5 dk x 4°C’de santrifüj edildi. En alttaki kloroform tabakası alınarak prosedürde kullanıldı.

Daha sonra 100 ml kloroform (Sigma-Aldrich 24216-2.5 R) ve 100 ml metanol (Merck K38650909 836) ayrı ayrı olacak şekilde 30 dk boyunca nitrojen ile deoksijenize edildi. Bu amaçla nitrojen gazı, beher içerisine konulan kloroform ve etanol içine, nitrojen tüpüne bağlı bir aparat (hortum ve ucuna eklenmiş şırınga) yardımı ile çözeltinin dip kısmından verilmek üzere 30 dk boyunca uygulandı. Daha sonra 2 birim deoksijenize kloroform ve 1 birim deoksijenize metanol birleştirildi ve analiz prosedürü sırasında kullanıldı.

Prosedür:

- 1- Her bir numune tüpüne numunenin kloroform ekstraktlarından 350’er µl koyuldu. Standart tüplerine de standart çözeltilerinden 350 µl koyuldu.
- 2- Üzerlerine 450 µl deoksijenize kloroform-metanol karışımı eklendi.
- 3- Her bir tüp üzerine 50 µl kromojen eklendi. Tüplerin kapağı kapatıldı ve oda ısısında 5 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 4- Tüplerdeki numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede quartz küvetlerle 500 nm’de ölçüldü.

Numune sonuçları standart eğri üzerinden hesaplandı. Düzeyler µmol/L ve µmol/g doku olarak verildi.

3.3.1.3. Plazma ve Dokuda Nitrik Oksit Düzeyinin Analizi

Doku ve plazmada NO düzeyleri ticari kit ile belirlendi. Prensip: Nitrik oksit in vivo veya sulu ortamda NO₂ formuna kolaylıkla okside olarak renk geliştirici ajan ile

kırmızımsı azo bağlarını oluşturur. Azo bağlarının konsantrasyonu doğrusal olarak NO konsantrasyonu ile ilişkilendirilir.

Kullanılan Çözeltiler:

- 1- Reaktif 1: Sülfat solüsyonu
- 2- Reaktif 2: Alkali reaktif
- 3- Reaktif 3: Kromojenik reaktif kompleksi ve asit solüsyonu
- 4- Standart (Stok): 2 mM/L NaNO₂
- 5- Kör: Distile su

Stok standart çözeltisi 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi ardından 5261 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra seri sulandırılmalar ile 40 µmol/L olarak hazırlandı.

Prosedür:

- 1- Ependorf tüplerine, Blank için; distile sudan 50 µl, Standart için; 40 µmol/L NaNO₂ standart çözeltisinden 50 µl, Numune için; numuneden 50 µl eklendi.
- 2- Üzerlerine 4 ml reaktif 1 eklendi ve vortekslendi.
- 3- Üzerlerine 200 µl reaktif 2 eklendi ve vortekslendi.
- 4- Üzerlerine 200 µl reaktif 3 eklenerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
- 5- Spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

Hesaplama:

NO µmol/L: (ΔA1/ΔA2) × c

ΔA1: OD örnek - OD kör, ΔA2: OD standart - OD kör, C: standart konsantrasyonu (40 µmol/l)

µmol/g doku: (µmol/L)/(g/L)

Sonuçlar µmol/L ve µmol/g doku olarak verildi.

3.3.1.4. Dokuda Seruloplazmin Düzeyi Analizi

Doku süpernatantlarında Cp analizi için Colombo ve Richterich (1964)'in manüel metodu kullanıldı. Buna göre; optimum pH ve ısı koşullarında asetat tamponunda hazırlanan P-fenilen diamin diklorid (PPD) doku süpernatant örnekleri ile inkübe edildiğinde oluşan renkli ürünün absorbansı spektrometrede 546 nm'de okunur.

Kullanılan Çözeltiler:

Substrat Çözeltisi: 144 mg p-fenilen daimin diklorid, PPD (Merck N394597608) 100 ml asetat tamponunda çözeltildi (7.95 mM). Çözeltinin pH'sı 0,1 N sodyum hidroksit ile 5,6'ya ayarlandı. Işığa karşı duyarlı olan çözelti her seride taze olarak hazırlandı ve kullanıldı.

Asetat Tamponu (0,43 M, pH 5,6): 1,34 ml glasiyel asetik asit (CH_3COOH Merck K36232556 625) ve 26,49 g sodyum asetat (Merck 6267) 1 litrelik balon jojeye alınarak bir miktar distile suda çözeltildi, balon içeriği distile su ile litreye tamamlandı.

Sodyum Azid (NaN_3) Çözeltisi: 3 g Sodyum azid (Sigma Lot 112K0982) 100 ml'lik balon jojeye alındı, bir miktar distile su ile çözeltildi, balon içeriği distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve oda ısısında saklandı.

Prosedür:

Analizler 10 örneklik seriler halinde yapıldı. 96 kuyucuklu bir mikropate üzerinde 10 adet numune kuyucuğu ve karşılarına aynı sayıda kör olarak kullanmak amacıyla numune körü kuyucukları kullanıldı.

Tüm numune ve kör kuyucuklarına taze olarak hazırlanmış substrat çözeltisinden 300'er µl konuldu. Kör tüplerine 67'şer µl sodyum azid çözeltisi eklenerek tüpler iyice karıştırıldı.

Her doku örneğinden kendisine ait numune ve kör kuyucuklarına 10'ar µl eklendi. Kuyucuklar çoklu mikropipet yardımı ile iyice karıştırıldı ve üzerleri sıkıca bantlanarak 37°C 'deki su banyosunda 15 dk inkubasyona bırakıldılar.

İnkubasyon sonunda numune kuyucuklarına sıra ile 67'şer µl sodyum azid ilave edildi ve kuyucuklar iyice karıştırıldı. Numune ve kör tüplerindeki karışımların absorbansları Blanka karşı spektrofotometrede 546 nm'de ölçüldü.

	Numune	Numune Kör tüpü	Blank
Substrat Çöz	300 µl	300 µl	300 µl
Na-Azid	-	67 µl	-
Örnek	10 µl	10 µl	10 µl distile su
Karıştır	37°C		37 °C
	37°C'de 15 dk bekletme	37°C'de 15 dk bekletme	37°C'de 15 dk bekletme
Na-Azid	67 µl	-	67 µl
543 nm'de absorbands okundu			

Hesaplama:

Seruloplazmin (mg/dl)= (Numune Absorbansı – Numune Körünün Absorbansı)x
237

mg/g doku: (mg/dl) / (g/dl)

Sonuçlar mg/g doku olarak verildi.

3.3.1.5. Plazma ve Dokuda Redükte Glutasyon Düzeyi Analizi

Plazmada ve doku süpernatantlarında GSH aktiviteleri Ellman (1959) tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi. Buna göre, 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfhidril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır.

Kullanılan Çözeltiler:

- 1- TRIS-EDTA Buffer (0.2 mol/L, pH=8,9): 2,42 g Tris (Merck) tartılır ve 100 ml distile suda çözündürülür. 7,44 g EDTA (Sigma) tartılır ve 100 ml distile suda çözündürülür. 1 birim EDTA, 10 birim Tris karıştırılır ve pH 8.9 olan buffer elde edilir.
- 2- %10 Triklorasetik asit (TCA, Merck 807): 10 g TCA alınır ve 100 ml distile suya tamamlanır.
- 3- DTNB (5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit, AppliChem 69-78-3)- 0.01 mol/L: 39.6 mg DTNB alınır ve 10 ml saf etanole tamamlanır.

4- Standartlar: GSH (Sigma G4251)'dan 308 mg alınıp 100 ml %10 TCA' ya tamamlanır. Bundan 2 ml alınıp 100 ml TCA'ya tamamlanırsa 200 nmol/ml standart elde edilmiş olur. 1 ml standart + 1 ml % 10 TCA karıştırılır ve prosedüre uygulanır.

Not: Süpernatant ve plazma örnekleri 1 birim alınarak üzerlerine 1 birim % 10 TCA eklenir ve deproteinize edilir. Daha sonra bu karışım 4100 rpm x 30 dk x 4°C'de santrifüj edilerek üstteki sıvıda analiz yapılır.

Prosedür:

GSH Analizi	Numune	Blank	Standart
TRIS/EDTA Buffer	1 ml	1 ml	1 ml
Süpernatant	250 µl	-	-
DTNB	50 µl	50 µl	50 µl
Standart	-	-	250 µl
Distile su	-	250 µl	-
412 nm'de absorbans okundu			

Hesaplama:

(Numune absorbans / standart absorbans) x standart konsantrasyonu= Numune konsantrasyonu. Sonuçlar nmol/ml ve nmol/g doku olarak verilmiştir.

3.3.1.6. Plazma ve Dokuda Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Analizi

Glutasyon peroksidaz, GSH'yi kullanarak H₂O₂'nin suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Dokulardaki GPx aktivitelerinin tayini Beutler (1975) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Buna göre; GPx, H₂O₂ varlığında, GSH'nin GSSG'ye dönüşmesini katalize eder. H₂O₂'nin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, deney ortamındaki NADPH'nin NADP⁺'ya çevrilmesi ile optik dansitede meydana gelen absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanır.

Kullanılan Çözeltiler:

1- EDTA'lı fosfat tamponu (50 mM) hazırlanması:

-A çözeltisi: 3. 55 g Na₂HPO₄ (Merck 6580) tartılır ve distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.

-B çözeltisi: 3.4 g KH₂PO₄ (Merck 4873) tartılır ve 500 ml distile suda çözülür:

300 ml A çözeltisi + 200 ml B çözeltisi karıştırılır, üzerine 2,08 g EDTA (Na₂-EDTA - MW: 372,24 Sigma-E1644) eklenir, pH= 7.

2- Redükte GSH (Sigma G4251): Kullanmadan hemen önce taze hazırlanır. 150 mM: 230 mg GSH tartılır ve EDTA'lı fosfat tamponu ile 5 ml'ye tamamlanır.

3- Na-Azid (Sigma S8032-25 g): 65 mg tartılır ve EDTA'lı fosfat tamponu ile 1 ml'ye tamamlanır.

4- H₂O₂ Çözeltisi (Merck 1.08600): Kullanmadan hemen önce taze hazırlanır. 60 µl H₂O₂ alınır ve EDTA'lı fosfat tamponu ile 20 ml'ye tamamlanır.

5- Amonyum sülfat (Merck 1216) çözeltisi: 4.22 g amonyum sülfat tartılır ve distile su ile 10 ml'ye tamamlanır.

6- Glutasyon redüktaz (G3664): 40 U/ml olarak kullanılır.

7- NADPH (2 mM) (Sigma N1630): Taze hazırlanır. 8,34 mg tartılır ve EDTA'lı fosfat tamponu ile 5 ml'ye tamamlanır.

Prosedür:

	Numune (ml)	Blank (ml)
EDTA'lı fosfat tamponu	2,65	2,65
GSH	0,10	0,10
NADPH	0,10	0,10
GSH-Redüktaz	0,01	0,01
Na-azid	0,01	0,01
Numune	0,02	-
340 nm'de absorbans okundu	Oda ısısında 30 dk beklenir sonra tek tek her bir numuneye 0,10 ml H ₂ O ₂ çözeltisi eklendi ve absorbans düşüşü takip edildi.	

Hesaplama:

U/L: (Delta Abs /6,22) x (3000 / harcanan µl) x Sulandırma Katsayısı x 1000

U/g doku: (U/ml enzim) / (g doku/ml)

Sonuçlar U/L ve U/g doku olarak verildi.

3.3.1.7. Dokuda Total Protein Analizi

Total Protein Tayini

Lowry ve ark. (1951) tarafından bildirilen yöntem, ovaryum homojenatlarının total protein konsantrasyonunun ölçülmesinde kullanıldı. Alkali ortamda Cu^{+2} , proteinin yapısını oluşturan peptit bağlarıyla birleşerek Cu^{+1} 'e indirgenir ve biüret kompleksini oluşturur. Daha sonra, Folin ve Ciocolteu'nun fenol reaktifi ilave edilir ve fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin indirgenmesiyle molibdenyum mavisi ve tungsten mavisi renkleri meydana gelir. Oluşan renkli kompleksin 700 nm'deki optik dansitesi, spektrofotometrede (UV 2100 UV-VIS Recording Spectrophotometer Shimadzu, Japonya) ölçülerek protein düzeyleri belirlenir.

Kullanılan Çözeltiler:

1-A reaktifi: 5 g Na_2CO_3 (Merck 1.06392.1000) ve 1 g NaOH (Merck 1.06462.1000) tartılarak çözündürülür ve 250 ml distile suya tamamlanarak %2 Na_2CO_3 ve 0,1N NaOH elde edilir.

2-B reaktifi: 0,125 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.02790.1000) ve 0,25 g Na-K tartarat (Sigma Aldric 25508) tartılarak distile suda çözündürülür sonrasında 25 ml distile suya tamamlanarak % 0,5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve % 1 Na-K tartarat elde edilir.

3-C reaktifi: 50 ml A reaktifi ve 1 ml B reaktifi karıştırılarak elde edilir.

4- D reaktifi: 1 ml Folin-Fenol (Carlo Erba E463562) reaktifi ve 1 ml distile su oranında karıştırılarak elde edilir.

Standart hazırlama: Bovine Serum Albümin (BSA) (Sigma 1001781242) 10 mg/ ml stok için 50 mg BSA 5 ml distile suda çözündürülür. Bovine Serum Albümin 1 mg/ ml stok için 5 mg BSA 5 ml distile suda çözündürülerek hazırlanır.

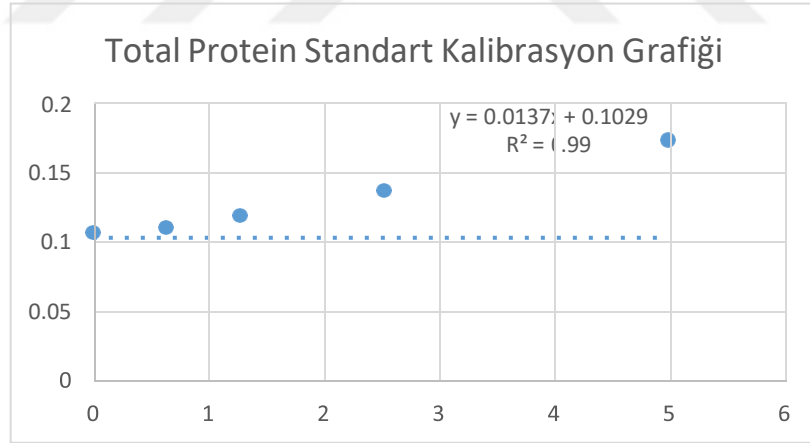
Prosedür:

	Kör Tüpü	Numune Tüpü	Standart Tüpü
Numune	10 µl	10 µl	10 µl
C reaktifi	250 µl	250 µl	250 µl

Tüplerin kapakları kapatılarak vortekslendi. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

	Kör Tüpü	Numune Tüpü	Standart Tüpü
D reaktifi	250 µl	250 µl	250 µl

Tüplerin ağzı kapatılarak vortekslenir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 700 nm’de köre karşı okunur. Total protein konsantrasyonu, standart kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar mg/ml olarak belirlendi.



3.3.2. Histolojik Muayeneler

Elde edilen ovaryum dokularının ışık mikroskopunda histolojik incelemelerinin yapılması amacıyla doku örnekleri %10 tamponlu formaldehit ile en az 24 saat tespit edildi. Tamponlu formaldehitten çıkarılan örnekler 12 saat boyunca akar suda yıkama işlemi gerçekleşti. Yıkama işlemini takiben doku örnekleri standart protokole uygun olarak dehidrasyon ve saydamlaştırma işlemleri için doku takip cihazında (Leica TP 1020) alkol ve ksilol serilerinden geçirildi. Son olarak dokular vakumlu etüvde 3 saat paraplast

içerisinde bekletildikten sonra blokaj işlemi gerçekleştirilerek parafin bloklara yerleştirilip soğumaya bırakıldı. Parafin bloklardan, mikrotom cihazı (Leica RM 2125 RT) ile 4-5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Alınan kesitlerin genel yapısını ortaya koymak için Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği uygulandı (Denk ve ark. 1989). Doku kesitlerinin incelenerek değerlendirilmesi ve fotoğraflarının çekilmesi Olympus CX21 model araştırma mikroskobu ile gerçekleştirildi.

Her bir over dokusu doku hasarı, hemoraji, atretik folikül ve hiperemi açısından; '-:hasar yok', '+:az hasarlı (hafif)', '++:orta hasarlı (ileri)', '+++:şiddetli hasarlı (ciddi)' olarak sınıflandırılarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analizler

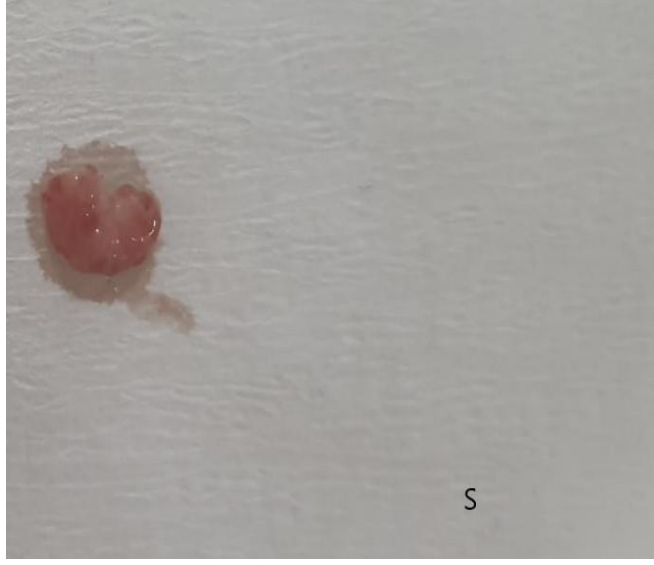
Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS 22.0 paket programından yararlanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata şeklinde sunuldu. Çoklu grupların karşılaştırılması için normal dağılım gösteren gruplarda varyans analizi(ANOVA) ve post-hoc Duncan testi kullanılırken, normal dağılım göstermeyen gruplarda Kruskal Wallis ve post-hoc Bon-ferroni düzeltmeli Man-Whitney U testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Ovaryum dokularının makroskopik görünümleri şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7’de verildi.



Şekil 4.1.Kontrol grubu ovaryum makroskopik görünümü.



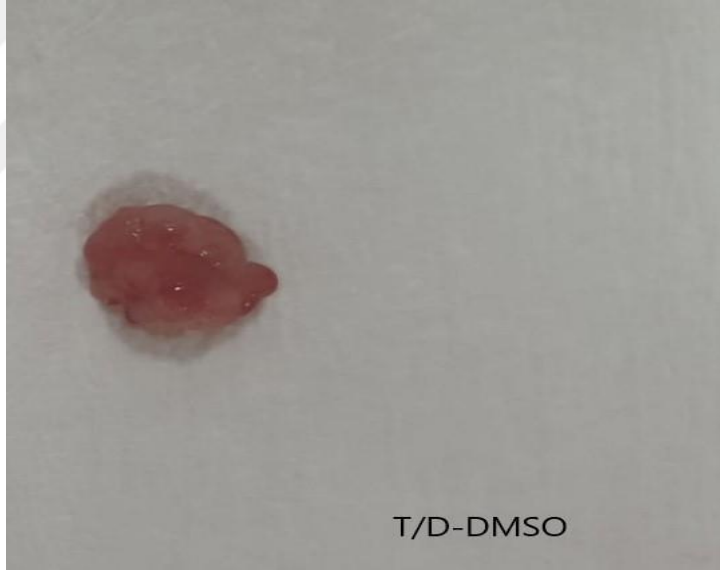
Şekil 4.2. Sham grubu ovaryum makroskopik görünümü.



Şekil 4.3. Torsiyon grubu ovaryum makroskopik görünümü.



Şekil 4.4.Torsiyon/Detorsiyon grubu ovaryum makroskopik görünümü.



Şekil 4.5.Torsiyon/Detorsiyon+DMSO grubu ovaryum makroskopik görünümü.



Şekil 4.6.Torsiyon/Detorsiyon+Rutin grubu ovaryum makroskopik görünümü.



Şekil 4.7.Torsiyon/Detorsiyon+Taksifolin grubu ovaryum makroskopik görünümü.

Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin ovaryum biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri Çizelge 4.1.’de sunuldu. Doku MDA düzeyleri incelendiğinde T grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu ($p<0,001$), T/D grubunda T grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu belirlendi ($p>0,05$). T/D+DMSO grubunda T/D grubuna göre önemli bir azalma gözlenirken ($p<0,001$), rutin ve taksifolin uygulanan gruplarda MDA yönünden T/D+DMSO grubuna göre bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Plazma MDA düzeylerine bakıldığında, T grubunda kontrol ($p<0,001$) ve sham gruplarına ($p>0,05$) göre yükselme belirlenirken, T/D grubunda T grubuna göre önemli ($p<0,001$) düzeyde düşüş saptandı. Rutin ve taksifolin uygulanan gruplarda T/D+DMSO grubuna kıyasla hafif bir artış gözlenirken istatistiki bir fark belirlenmedi ($p>0,05$).

Doku LPO düzeyleri incelendiğinde istatistiksel olarak önemli bir fark belirlenmemesine rağmen, sham, T, T/D ve T/D+ DMSO gruplarında kontrol grubuna göre yükselme belirlendi. Torsiyon grubunda sham grubuna göre önemsiz bir artış varken T/D grubunda T grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu gözlemlendi. Rutin ve Taksifolin gruplarında ise T/D+DMSO, T/D, T, sham ve kontrol grubuna göre düşüş ($p>0,05$) belirlendi ve düşüşün kontrol grubunun da altında olduğu gözlemlendi. Plazma LPO düzeyleri incelendiğinde ise doku LPO düzeyleri ile uyumlu olacak şekilde sham grubundakontrol grubuna göre önemsiz bir artış olduğu, T grubunda sham ve kontrol grubuna göre önemsiz bir artış olduğu, T/D grubunda T grubuna göre anlamsız bir azalma olduğubelirlendi. Rutin uygulanan grupta kontrol, sham, T, T/D gruplarına göre anlamsız azalma görülürken T/D+ DMSO grubuna göre önemsiz bir artış olduğu belirlendi. Taksifolin uygulanan grupta kontrol, T ve T/D gruplarına göre anlamlı bir azalma olduğu gözlenirken ($p<0,01$), T/D+DMSO ve sham gruplarına göre önemsiz bir azalma olduğu belirlendi ($p>0,05$).

Doku NO düzeyleri incelendiğinde; sham ve T/D gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz bir artış belirlenirken ($p>0,05$), T grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p<0,05$). Öte yandan T grubunda sham grubuna göre önemsiz bir artış olduğu, T/D grubunda T grubuna göre önemsiz bir artış olduğu belirlendi ($p>0,05$). Rutin ve taksifolin uygulanan gruplarda T/D+DMSO grubuna göre anlamsız bir azalma olduğu, T/D+DMSO grubunda T grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu ve T/D grubuna göre anlamsız bir azalma gösterdiği belirlendi ($p>0,05$). Plazma NO düzeyleri incelendiğinde sham, T, T/D gruplarında kontrol grubuna göre önemsiz bir

artış görülürken, T grubunda sham grubuna göre anlamlı olmayan bir düşüş olduğu T/D grubunda T grubuna göre anlamsız bir artış olduğu belirlendi ($p>0,05$). Rutin uygulanan grupta T/D+DMSO grubuna göre anlamsız bir artış olduğu görülürken, Taksifolin uygulanan grupta T/D+DMSO grubuna göre olarak anlamsız olarak azaldığı görüldü ($p>0,05$). Öte yandan T/D+DMSO grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu ($p<0,01$), sham, T ve T/D grublarına göre anlamsız bir yükselme olduğu görüldü ($p>0,05$).

Doku CP düzeyleri ele alındığında; sham, T/D gruplarında, kontrol grubuna göre, önemsiz bir azalma olduğu, T grubunda sham grubuna göre önemsiz bir artma olduğu görüldü ($p>0,05$). T grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu görülürken ($p<0,01$), T/D grubunda T grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p<0,01$). Rutin uygulan grupta T/D+DMSO grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu ($p<0,01$), taksifolin uygulan grupta ise T/D+DMSO grubuna göre anlamsız bir düşme olduğu ($p>0,05$). görüldü. Ayrıca T/D+DMSO grubunda T grubuna göre anlamsız bir azalma olduğu görülürken, T/D grubuna göre önemsiz bir artma olduğu görüldü ($p>0,05$).

Doku GSH düzeyleri değerlendirildiğinde; Sham ve T ve T/D gruplarında kontrol grubuna göre anlamsız bir düşüş belirlenirken, T grubunda sham grubuna göre anlamsız bir azalma olduğu, T/D grubunda T grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu görüldü ($p>0,05$). Rutin ve taksifolin uygulana gruplarda T/D+ DMSO grubuna göre anlamlı bir azalma görülürken ($p<0,05$), T/D+ DMSO grubunda kontrol, Sham, T ve T/D gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlendi ($p<0,05$). Plazma GSH düzeyleri incelendiğinde sham grubunda kontrol grubuna göre anlamsız bira azalma olduğu, T grubunda sham grubuna önemsiz bir artma olduğu, T/D grubunda T grubuna göre anlamsız bir azalma olduğu görüldü ($p>0,05$). Rutin uygulanan grupta T/D+DMSO grubuna göre anlamsız bir azalma olduğu görülürken, taksifolin uygulanan grupta T/D+DMSO grubuna göre önemli bir değişim görülmedi ($p>0,05$). Ayrıca T/D+DMSO grubunda kontrol, sham, T ve T/D gruplarına göre anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p<0,001$).

Doku GPx aktiviteleri değerlendirildiğinde; sham grubunda kontrol grubuna göre önemsiz artış olduğu, T grubunda sham grubuna göre anlamsız bir artış olduğu, T/D grubunda T grubuna göre anlamsız bir azalma olduğu görüldü ($p>0,05$). Rutin ve taksifolin uygulan gruplarda T/D+DMSO grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu görülürken, T/D+DMSO grubunda T/D grubuna göre anlamsız bir artış olduğu görüldü ($p>0,05$).

Plazma GPX aktiviteleri incelendiğinde; T grubunda sham grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu, T/D grubunda T grubuna göre anlamsız bir artma olduğu görüldü ($p>0,05$). Rutin uygulanan grupta T/D+DMSO grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu görülürken, taksifolin uygulanan grupta T/D+DMSO grubuna göre önemli bir değişimin olmadığı görüldü ($p>0,05$). Ayrıca T/D+DMSO grubunda kontrol, sham ve T/D grupları göre anlamsız bir artış olduğu ($p>0,05$), T grubuna göre ise anlamlı bir artış olduğu belirlendi ($p<0,05$).

4.1.Histolojik Bulgular:

1. Kontrol Grubu;

Kontrol grubundan elde edilen ovaryum kesitlerinde histolojik olarak sağlıklı bir ovaryumda görülmesi beklenen kortekse ait doku özellikleri (foliküler yapılanma, korpus luteum) ve medulla bölgesine ait belirgin damar yapılanması ayrıca ovaryumu çevreleyen germinatif epitel ve altındaki sıkı bağdoku tunika albuginea ile ovaryumun parenşimindeki intersitisyel hücreler belirgin olarak gözlendi (Şekil 1).

2. Sham Grubu;

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; korteks ve medula yapılanmalarında bir farklılık görülmedi ancak intersitisyel alanlarda ve korpus luteumlarda operatif stres kaynaklı olduğu düşünülen küçük kanama odaklarına rastlandı (Şekil 2).

3. Torsiyon Grubu;

Sadece torsiyon uygulaması gerçekleşen bu grupta normal histolojik yapıda ovaryum dokusu ve bu doku içerisinde dejenere olmamış primordiyal foliküller ayırtedildi. Bununla birlikte foliküler yapılanmada bozulmalar ve dikkat çeken sayıda atretik folikül tespit edildi. Ayrıca intersitisyel alanlar ile corpus luteum ve çevresinde hemoraji ve hiperemi de gözlendi (Şekil 3-4).

4.Torsiyon/Detorsiyon Grubu;

Sham ve Torsiyon grupları ile karşılaştırıldığında çok daha yoğun bir hiperemi ayrıca yaygın bir hemoraji gözlendi. Özellikle hemorajinin diğer gruplardan farklı olarak foliküllerin çevresinde de görülmesi dikkat çekti. Foliküler yapılanmada bozulmalar, dejenere olmamış primordiyal foliküller ve atretik folikül miktarı açısından torsiyon grubuna benzer olduğu belirlendi (Şekil 5-6).

5. T/D+DMSO Grubu;

T/D+ DMSO grubunun, folikül yapılarındaki bozulmalar ve doku bütünlüğü açısından T/D Rutin ve T/D Taksifolin grubuna benzer olduğu görüldü. Ayrıca atretik folikül yoğunluğunun da kontrol ve sham grupları hariç diğer gruplarla aynı olduğu tespit edildi. Hemorajik alan yoğunluğunun sham ve T/D Taksifolin grubuna yakın derecede olduğu bununla birlikte hiperemik alanların T, T/D, T+D+ Rutin ve T/D +Taksifolin gruplarına göre azaldığı, hatta sham grubuna yakın olduğu gözlemlendi. (Şekil 11-12).

6. T/D+Rutin Grubu;

Torsiyon-Detorsiyon grubuna göre korpus luteumda görülen kanama odaklarının azaldığı ve foliküllerde nispeten doku bütünlüğünün daha iyi olduğu görüldü. Ancak atretik folikül yoğunluğu, intersitisyel alanlarda ve folikül çevresinde görülen hemoraji ve hiperemi açısından torsiyon-detorsiyon grubuna benzer bulgular tespit edildi (Şekil 7-8).

7. T/D+Taksifolin Grubu;

Doku hasarının T-D Rutin grubuna benzer ancak T ve T/D grubuna göre daha az olduğu ayrıca atretik foliküllerin de T, T/D ve T/D +rutin gruplarına benzer olduğu tespit edildi. Hiperemi yoğunluğu T/D Rutin grubuna benzer iken, hemoraji yoğunluğunun T/D ve T/D +Rutin grubuna göre azaldığı tespit edildi (Şekil 9-10).

Elde edilen bu bulgular doğrultusunda histolojik açıdan DMSO'nun ovaryum dokusu üzerinde en olumlu etkiye sahip ajan olduğu düşünüldü.

Ovaryum dokularının histolojik değerlendirmesi Çizelge 4.3'de verildi.

Çizelge 4.1. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin ovaryum biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri (Ort±SH, n=8).

Parametre	Kontrol	Sham	T	T/D	T/D+DMSO	T/D+Rutin	T/D+Taksifolin	P
MDA nmol/gdoku	50,41 ± 6,99 ^{bc}	72,95 ± 10,45 ^{ab}	80,76 ± 6,40 ^a	75,76 ± 11,50 ^{ab}	29,13±4,90 ^c	30,61±10,38 ^c	29,89±6,84 ^c	***
LPO µmol/g doku	0,39 ± 0,02	0,53 ± 0,06	0,60 ± 0,05	0,46 ± 0,06	0,50±0,09	0,38±0,01	0,40±0,03	-
NO µmol/g doku	0,38 ± 0,03 ^b	0,50 ± 0,06 ^{ab}	0,70 ± 0,09 ^a	0,59 ± 0,05 ^{ab}	0,63±0,11 ^{ab}	0,46±0,02 ^{ab}	0,50±0,07 ^{ab}	*
CP mg/g doku	3,01 ± 0,33 ^{bc}	4,83 ± 0,84 ^{ab}	6,44 ± 0,81 ^a	3,41 ± 0,36 ^{bc}	4,55±1,07 ^{ab}	2,38±0,23 ^c	2,84±0,43 ^{bc}	**
GSH nmol/g doku	706,89 ± 134,10 ^b	603,24 ± 128,48 ^b	687,18 ± 59,52 ^b	483,46 ± 101,57 ^b	1188,74±262,29 ^a	580,93±51,04 ^b	579,06±73,67 ^b	*
GPx U/g protein	59,21 ± 4,94 ^b	79,09 ± 5,58 ^{ab}	82,71 ± 6,25 ^a	63,67 ± 4,53 ^{ab}	78,39±18,81 ^{ab}	58,84±2,80 ^b	72,95±7,27 ^{ab}	*

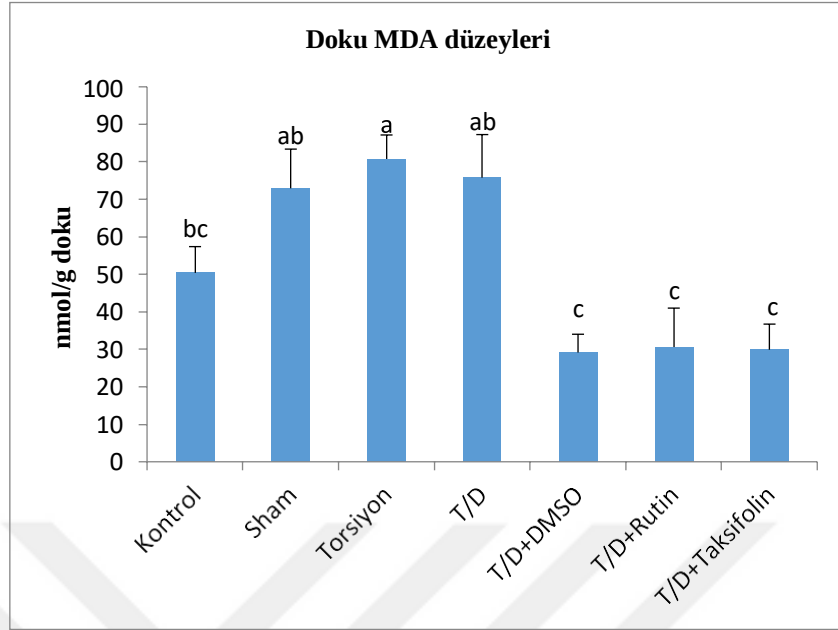
Not: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir; *P<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

LPO; Bon Ferroni düzeltmeli Kruskal Wallis, GSH; Duncan, NO; Bon ferroni düzeltmeli Kruskal Wallis (p=0,044), GPx; Duncan, MDA; Duncan, Cp; Duncan.

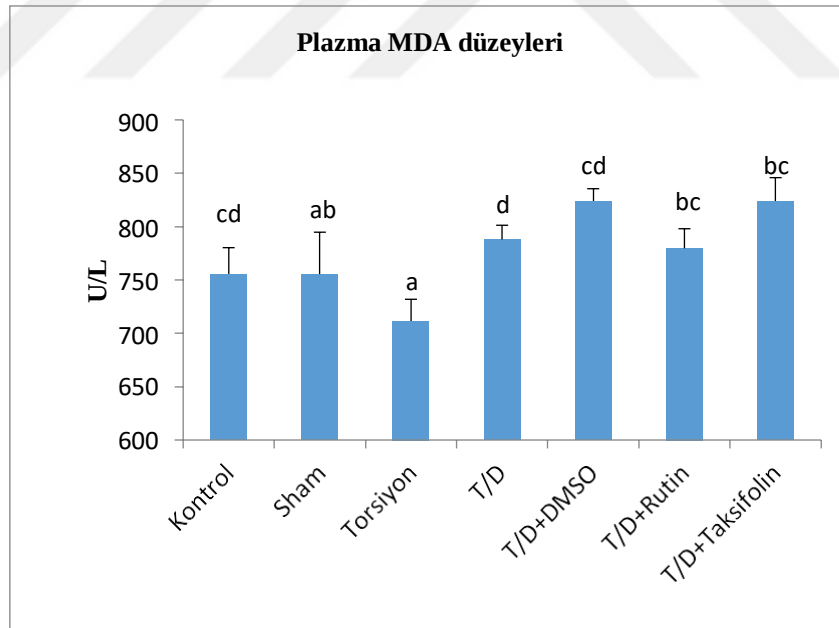
Çizelge 4.2.Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri (Ort±SH, n=8).

Parametre	Kontrol	Sham	T	T/D	T/D+DMSO	T/D+Rutin	T/D+Taksifolin	P
MDA nmol/L	0,30 ± 0,007 ^{cd}	0,35 ± 0,011 ^{ab}	0,37 ± 0,006 ^a	0,27 ± 0,01 ^d	0,30 ± 0,0105 ^{cd}	0,32 ± 0,008 ^{bc}	0,33±0,021 ^{bc}	***
LPO µmol/L	3,16 ± 0,23 ^b	3,26 ± 0,59 ^{ab}	3,36 ± 0,40 ^b	3,12 ± 0,17 ^b	2,80 ± 0,21 ^{ab}	2,86 ± 0,09 ^{ab}	2,23 ± 0,04 ^a	**
NO µmol/L	10,49 ± 0,88 ^a	15,47 ± 0,94 ^{ab}	15,92 ± 0,46 ^{ab}	16,27 ± 0,98 ^{ab}	19,22 ± 2,01 ^b	20,00 ± 2,78 ^b	12,31 ± 1,34 ^{ab}	**
GSH nmol/ml	13,38 ± 1,35 ^a	9,80 ± 3,94 ^a	12,66 ± 1,08 ^a	9,33 ± 2,00 ^a	25,52 ± 2,10 ^b	23,14 ± 0,82 ^b	25,76 ± 0,57 ^b	***
GPx U/L	755,63 ± 24,64 ^{ab}	755,60 ± 39,22 ^{ab}	711,41 ± 20,41 ^b	787,78 ± 13,45 ^a	823,95 ± 11,50 ^a	779,74 ± 18,33 ^{ab}	823,95 ± 21,94 ^a	*

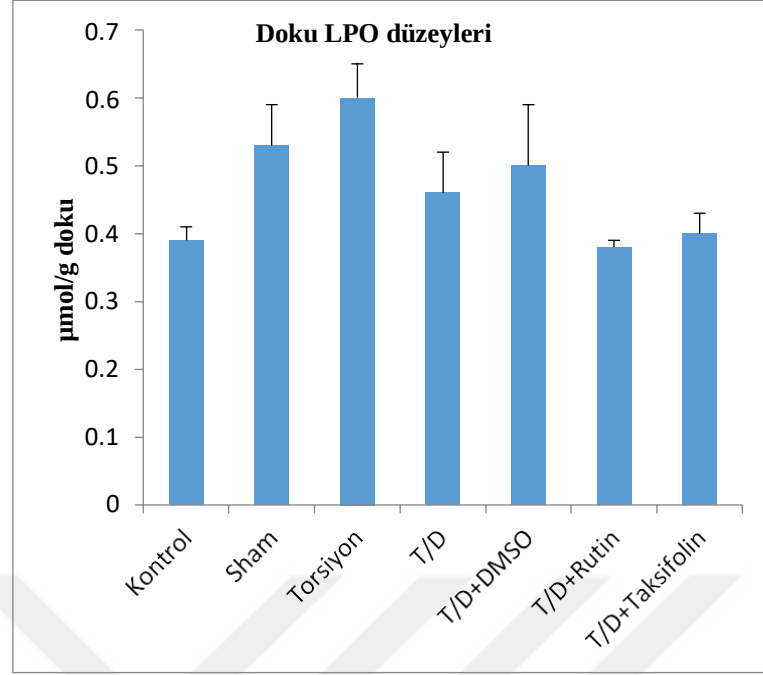
Not: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir; *P<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001
LPO (p=0,005), GSH (p=0,00), NO (p=0,001); Bon Ferroni düzeltmeli Kruskal Wallis, GPx, MDA; Duncan.



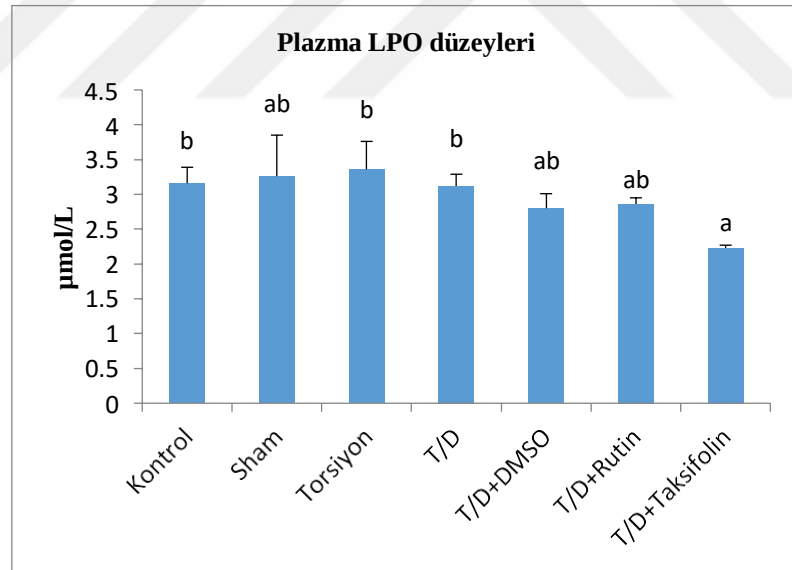
Şekil 4.8. Ovaryum T/D' u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku MDA düzeylerine etkileri.



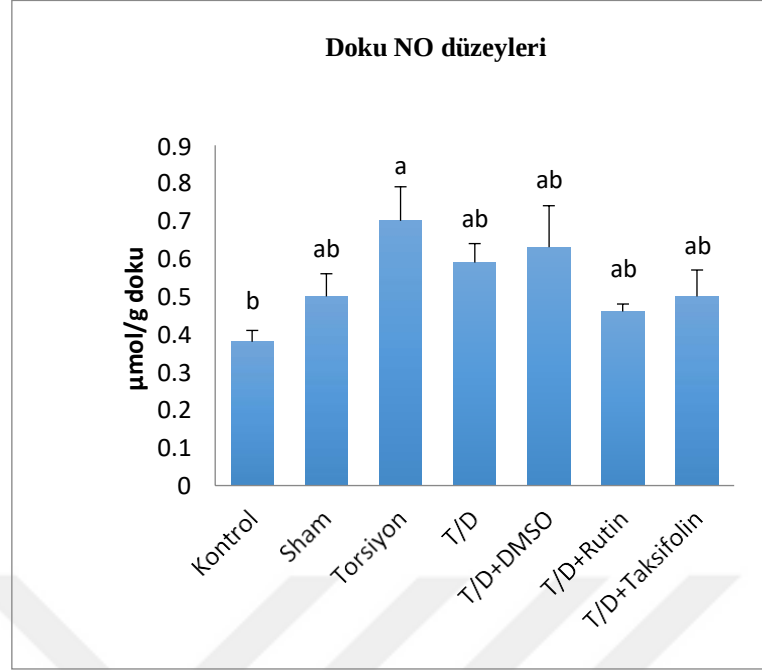
Şekil 4.9. Ovaryum T/D' u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma MDA düzeylerine etkileri.



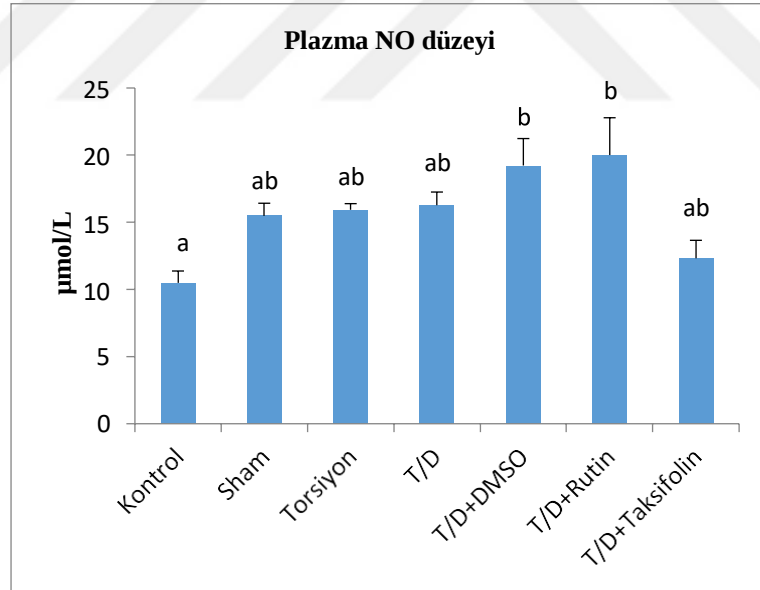
Şekil 4.10. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku LPO düzeylerine etkileri.



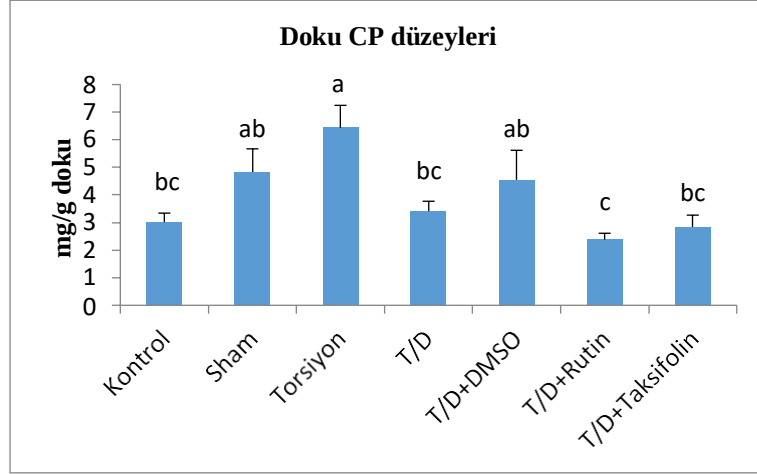
Şekil 4.11. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma LPO düzeylerine etkileri.



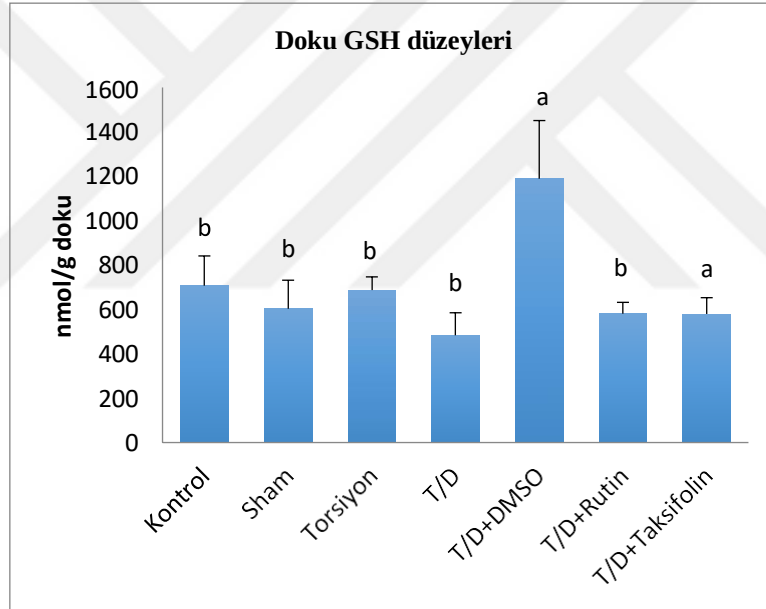
Şekil 4.12. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku NO düzeylerine etkileri.



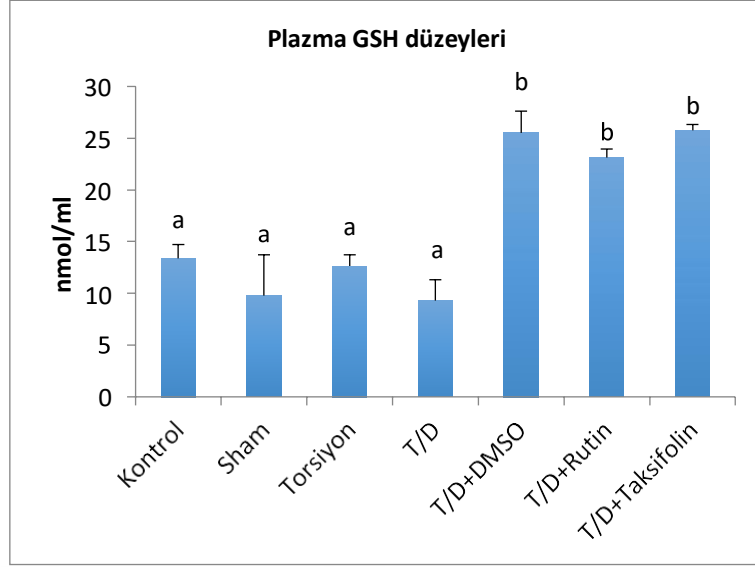
Şekil 4.13. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma NO düzeylerine etkileri.



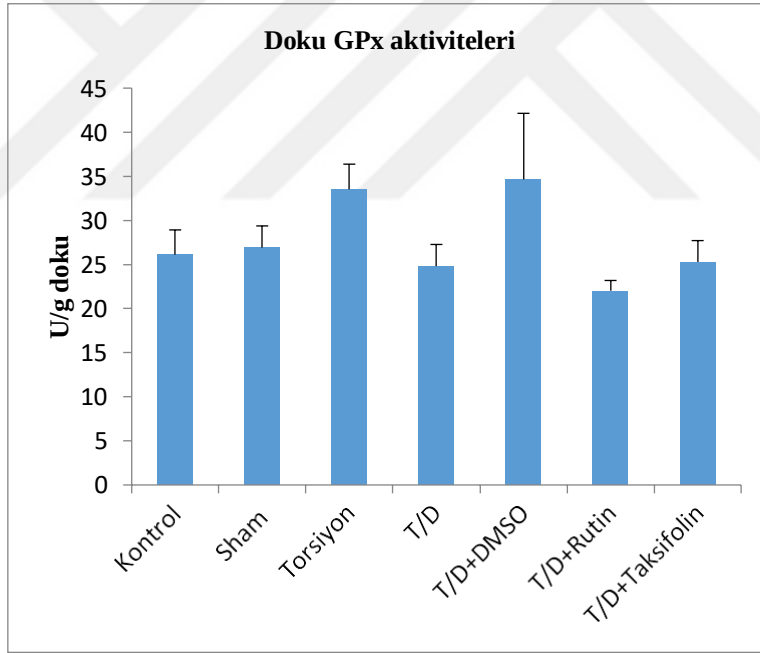
Şekil 4.14. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma Cp düzeylerine etkileri.



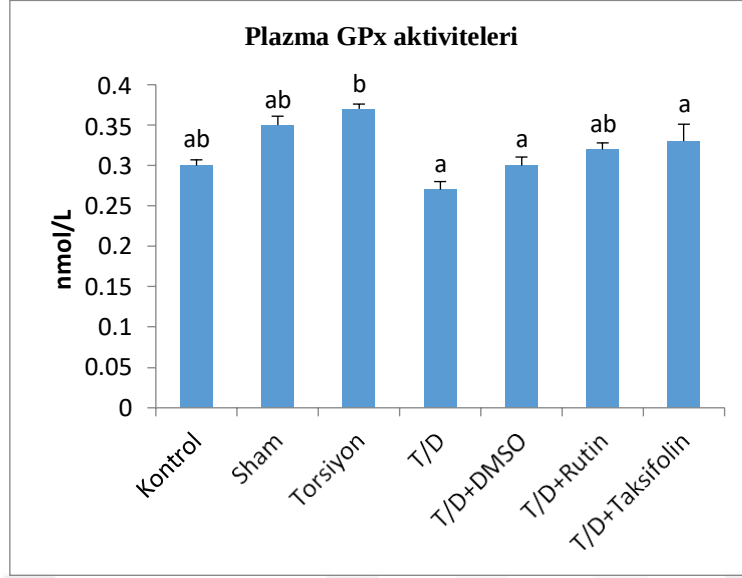
Şekil 4.15. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku GSH düzeylerine etkileri.



Şekil 4.16. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma GSH düzeylerine etkileri.



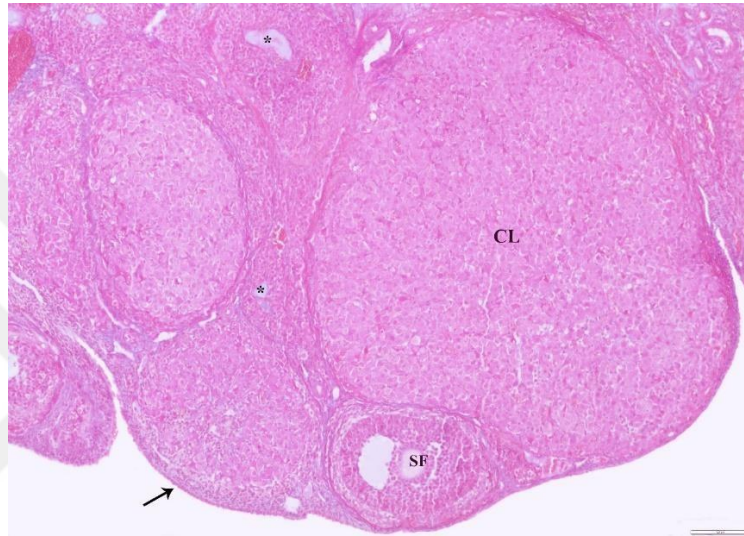
Şekil 4.17. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin doku GPx aktivitelerine etkileri.



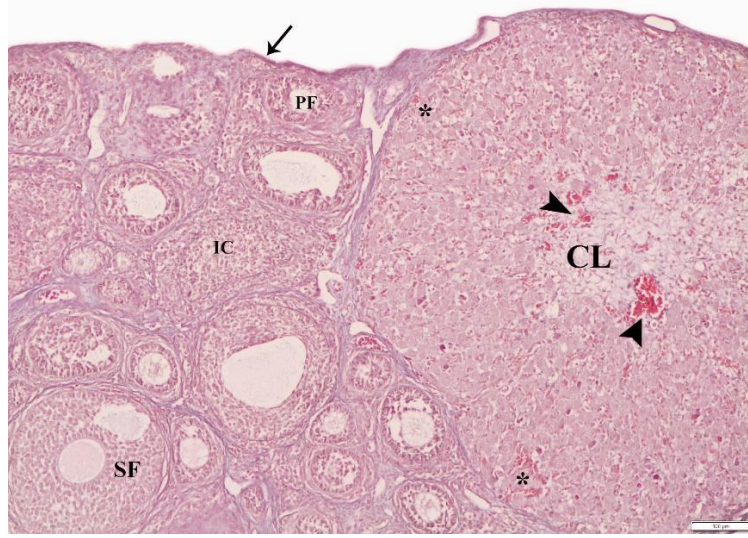
Şekil 4.18. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin plazma GPx aktivitelerine etkileri.

Çizelge 4.3. Ovaryum T/D’u uygulanan ratlarda rutin ve taksifolinin ovaryum histolojisi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi.

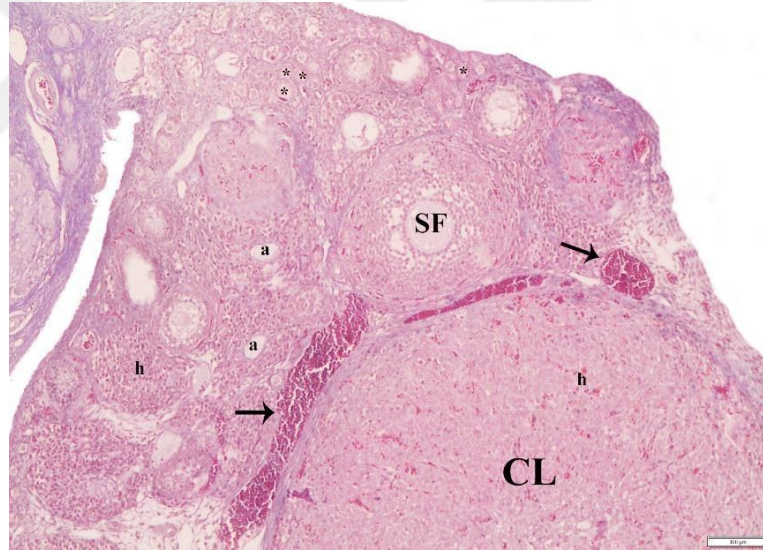
	Kontrol	Sham	T	T/D	T/D+DMSO	T/D+Rutin	T/D+Taksifolin
Doku Hasarı	-	-	++	++	+	+	+
Hemoraji	-	+	++	+++	+	++	+
Atretik Folikül	+	+	++	++	++	++	++
Hiperemi	-	+	++	+++	+	+++	+++



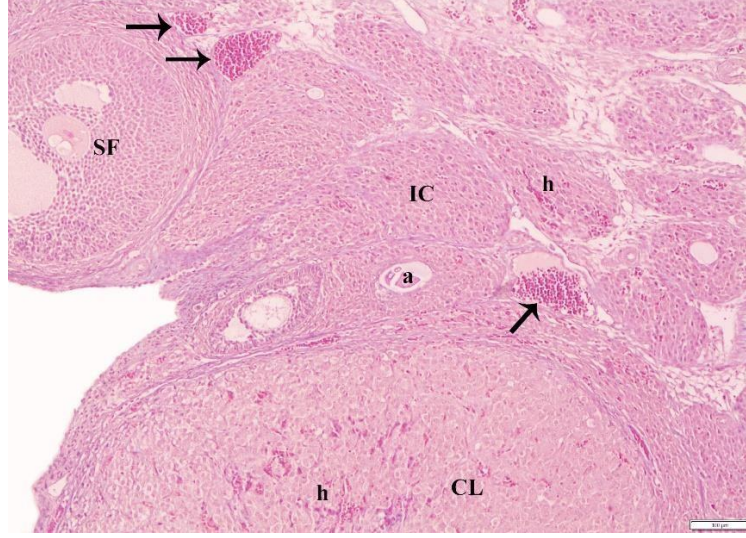
Şekil 4.19. Kontrol grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. CL: Korpus Luteum, SF: Sekonder folikül, Ok: Germinatif epitel, *: Atretik folikül. Crosman’ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 µm.



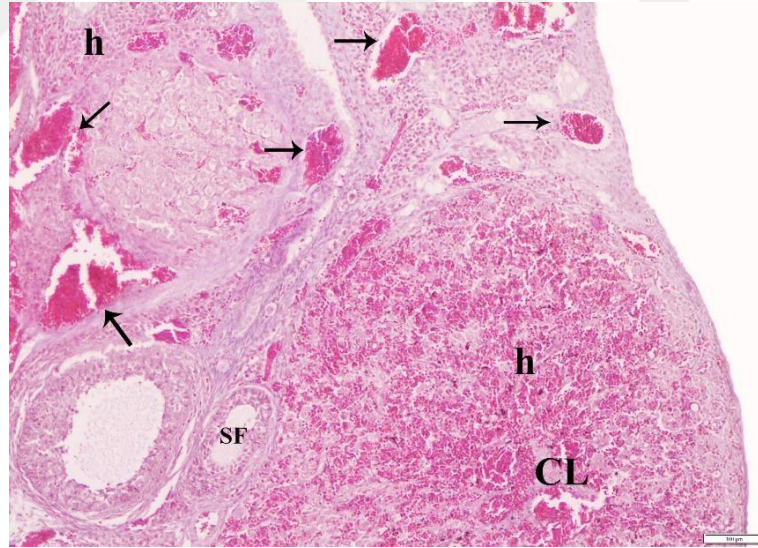
Şekil 4.20. Sham grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. CL: Korpus Luteum, PF: Primer folikül, SF: Sekonder folikül, IC: İntersitisyel hücreler, Ok: Germinatif epitel, Ok başı: Hiperemi, *: Hemoraji. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 μ m.



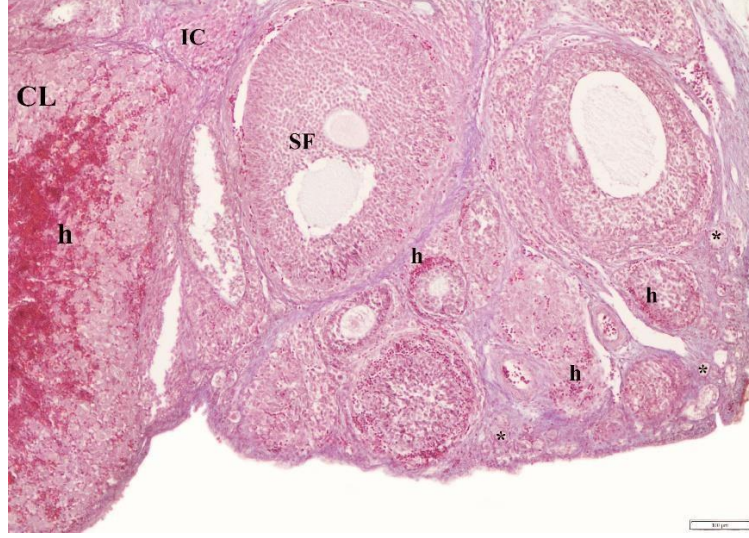
Şekil 4. 21.Torsiyon grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. *: Primordiyal folikül, SF: Sekonder folikül, a: Atretik folikül, CL: Korpus Luteum, h: Hemoraji, Ok: Hiperemi. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 μ m.



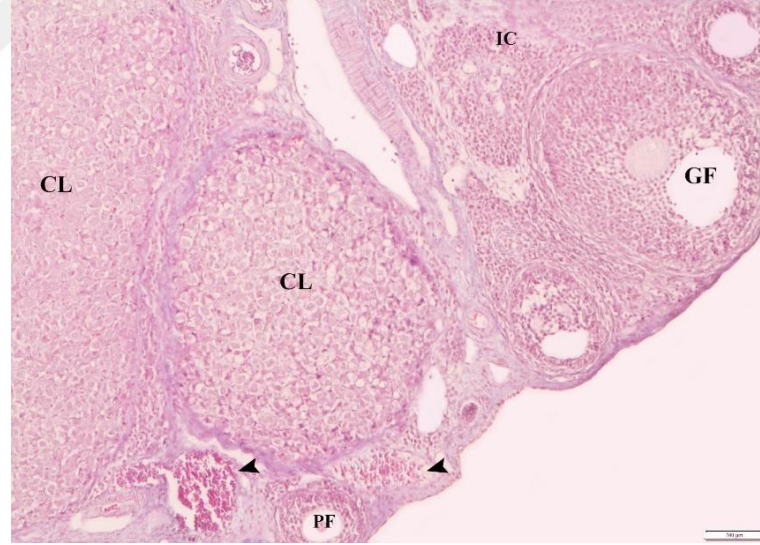
Şekil 4. 22. Torsiyon grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. CL: Korpus Luteum, IC: İntersitisyel hücreler, SF: Sekonder folikül, Ok: Hiperemi, a: Atretik folikül, h; Hemoraji. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 μ m.



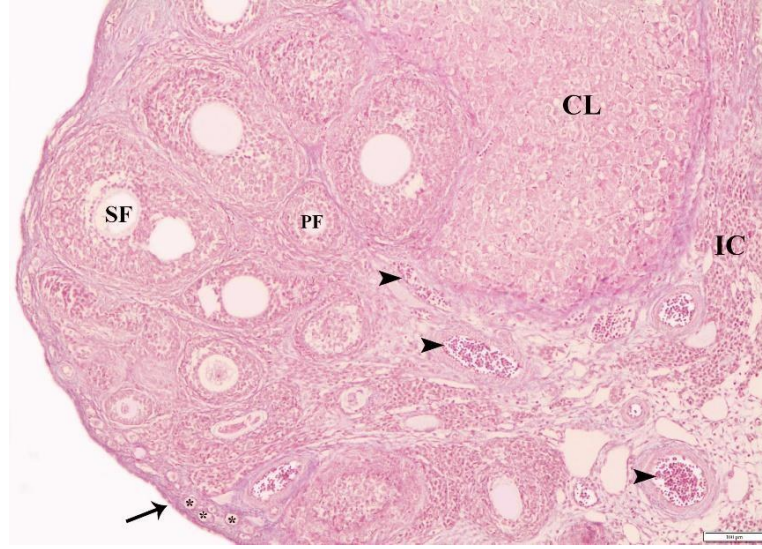
Şekil 4. 23. T/D grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. CL: Korpus Luteum, SF: Sekonder folikül, Ok: Hiperemi, h; Hemoraji. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 μ m.



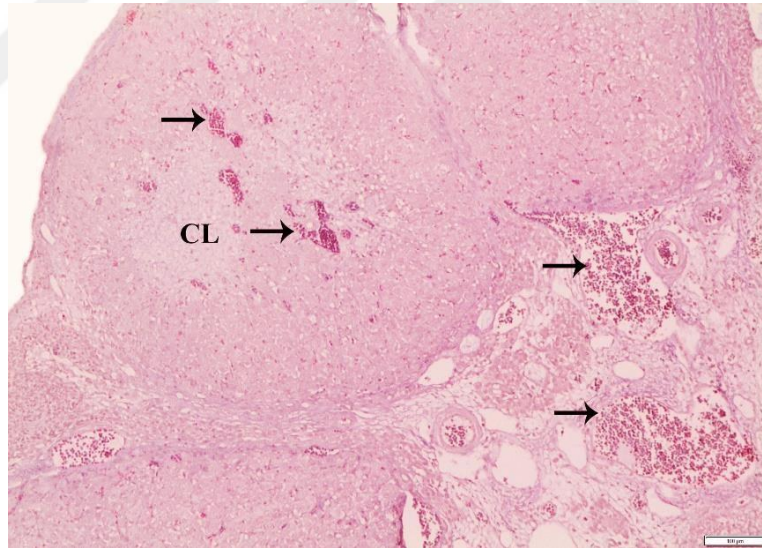
Şekil 4. 24. T/D grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. *: Primordiyal folikül, SF: Sekonder folikül, CL: Korpus Luteum, IC: İntersitisyel hücreler, h; Hemoraji. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 µm.



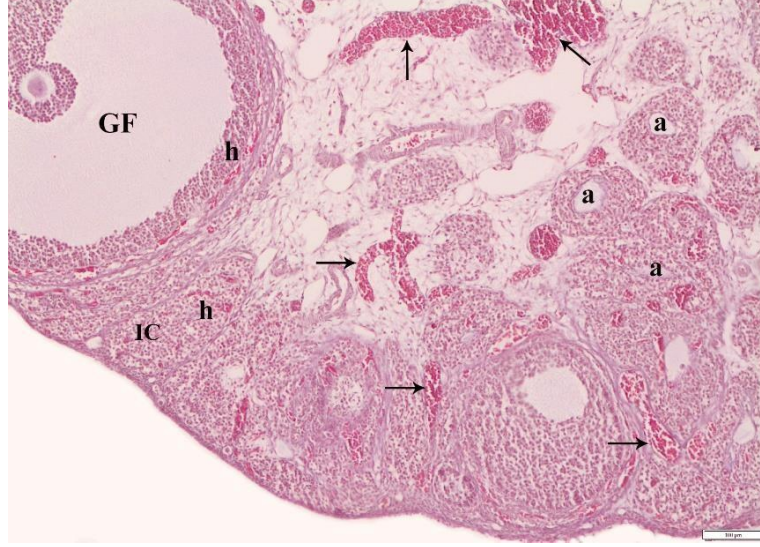
Şekil 4. 25. T/D + DMSO grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. PF: Primer folikül, GF: Graaf folikülü, CL: Korpus luteum, IC: İntersitisyel hücreler, Ok başı: Hiperemi. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 µm.



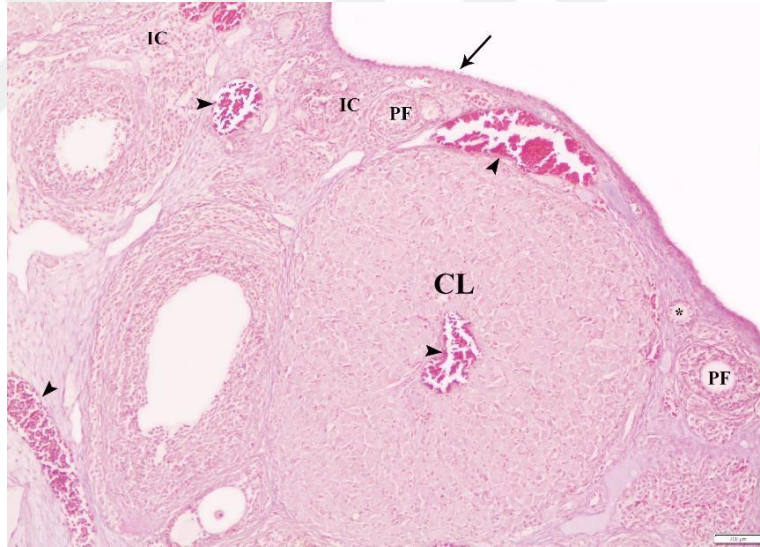
Şekil 4. 26. T/D + DMSO grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. *: Primordiyal folikül, PF: Primer Folikül, SF: Sekonder folikül, CL: Korpus luteum, IC: İntersitisel hücreler, Ok başı: Hiperemi, Ok. Germinatif epitel. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 µm.



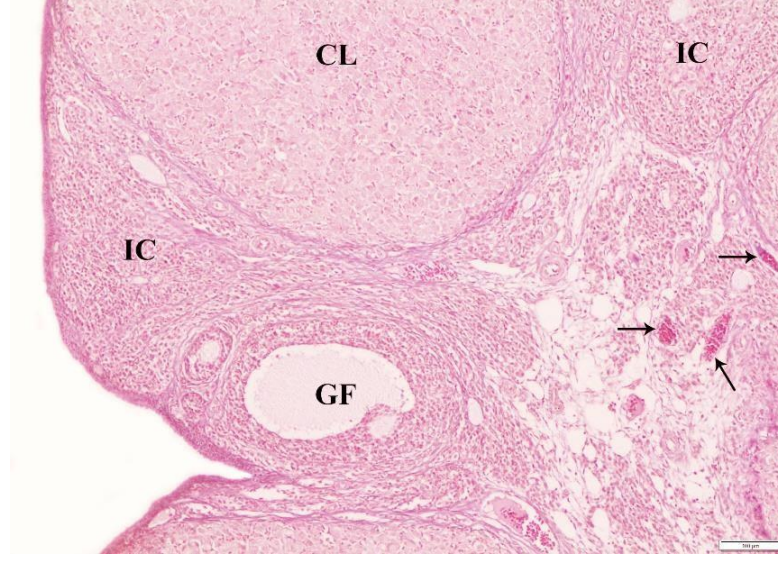
Şekil 4. 27. T/D +Rutin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. CL: Korpus Luteum, Ok: Hiperemi. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 µm.



Şekil 4. 28. T/D+ Rutin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. GF: Graaf folikülü, a: Atretik folikül IC: İntersitsiyel hücreler, h; Hemoraji, Ok: Hiperemi. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 μ m.



Şekil 4. 29. T/D + Taksifolin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. *: Primordiyal folikül, PF: Primer folikül, CL: Korpus luteum, IC: İntersitsiyel hücreler, Ok: Germinatif epitel, Ok başı: Hiperemi. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 μ m.



Şekil 4. 30. T/D+Taksifolin grubu; Rat ovaryumunun histolojik kesiti. GF: Graaf folikülü, CL: Korpus luteum, IC: İntersitisyel hücreler, Ok: Hiperemi. Crosman'ın modifiye üçlü boyama tekniği, Bar: 100 µm.

5. TARTIŞMA

Ovaryum torsiyonu daha çok üreme çağındaki kadınlarda (adölesan) görülse de prepubertal veya postmenapozal dönemde de karşılaşılabilen bir olgudur (Green ve ark. 2003, Mashiach ve ark. 2011). Adneksal torsiyon, ovaryum dokusunda iskemi meydana gelmesine neden olan bir olgu olup adneksin (over ve fallop tüpleri) infundibulopelvik ve tuboovaryen ligamanın eksenini etrafında en az tam bir tur dönmesi olarak tanımlanır (Akalin 2014).

Torsiyon sonucunda oluşan iskemide, organ/dokuyu besleyen damarların (arter/vena) tıkanması sonucunda organ/dokuya giden kan akımı azalmakta ve buna bağlı olarak meydana gelen yetersiz perfüzyon sebebiyle doku ve hücrelerin oksijenden (O_2) yoksun kalması (hipoksi) gibi durumlar ortaya çıkmaktadır (Özkaya 2010).

Detorsiyon işlemiyle meydana gelen reperfüzyon (perfüzyonun yeniden sağlanması) sırasında hücrelere yeniden O_2 girişi meydana gelir. İlaç veya mekanik müdahale uygulamaları ile yapılabilen reperfüzyonun hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjiyi yeniden sağlanması ve oluşan toksik metabolitlerin atılması gibi yararlı etkileri bulunmaktadır. Ancak reperfüzyon sırasında oluşan SOR'leri ve iskemik dönemde aktifleşen fosfolipaz A_2 'nin membranlardaki yağ asitlerini parçalaması iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açtığı bilinmektedir (Akalin 2014).

Hücrelerin metabolizmaları sırasında sürekli olarak SOR (OH, süperoksit, hidrojen peroksit) üretilmektedir. Başlıca SOR kaynağı mitokondri olmakla beraber birçok organelde ve sitoplazmada SOR oluşabilmektedir (Okado-Matsumoto ve Fridovich 2001, Brand 2010).

Organizmada torsiyon/detorsiyon sonrasında hücrelerin sahip olduğu antioksidan potansiyel yetersiz kalmaktadır. Torsiyon/detorsiyon (İ/R) sırasında ve sonrasında kalp, testis, böbrek ve karaciğer dokularında ve kanda MDA/LPO düzeylerinin arttığı, SOD, GPx, CAT gibi bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı rapor edilmiştir (Balcı ve ark. 2019, Eken ve Kurnaz 2019, Tang ve ark. 2019).

Yağ asitlerinin metabolizmasında üretilmekte olan MDA reaktif bir ara ürün olup protein ve DNA gibi birçok biyomoleküle bağlanarak biyoaktivitelerini etkilemektedir

(Vance ve Vance 2002). Oksidatif stres biyomarkeri olarak kabul edilen MDA birçok metabolik bozukluğun teşhisinde günümüzde yaygın olarak halen kullanılmaktadır (Moldovan ve Moldovan 2004, Yin ve ark. 2011, Kanno ve ark. 2012, Ghosh ve ark. 2019, Shetty ve ark. 2021). Sağlıklı rat ovaryum dokusunda (kontrol grubu) MDA düzeyleri, Behrooz-Lak ve ark. (2018) tarafından Wistar ırkında 5.7 ± 0.19 $\mu\text{mol/g}$ protein, Yaman Tunç ve ark. (2016) tarafından Wistar ırkında 11.1 ± 0.4 nmol/mg doku, Deniz ve ark. (2022) tarafından Sprague-Dawley ırkında 161.5 nmol/g doku olarak bildirilmiştir. Serumda ise ratlarda Yaman Tunç ve ark. (2016) tarafından 14.1 ± 3.3 nmol/ml, Akalın (2014) tarafından Wistar ırkında 2.02 $\mu\text{mol/L}$ olarak, Ağartan (2017) tarafından Wistar albino ratlarda 15.41 nmol/ml, Soni ve ark. (2016) tarafından Sprague-Dawley ırkında 1.01 ± 0.04 nmol/ml, Ren ve ark. (2019) tarafından 0,30 nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada Sprague-Dawley ratlarda elde edilen ovaryum ($50,41 \pm 6,99$ nmol/gdoku) MDA düzeyleri araştırmacıların bildirdiği düzeylerden biraz düşük olarak, plazma MDA ($0,30 \pm 0,007$ nmol/L) düzeyleri araştırmacıların bildirdiği düzeylerle uyumlu olarak tespit edilmiştir.

Ovaryum I/R hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon), Wistar ratlarda, torsiyon sonrasında serum ve doku MDA düzeylerinin sham grubuna göre önemli düzeyde değişmediği, diğer yandan T/D sonrasında serum MDA düzeylerinin önemli düzeyde yükseldiği Akalın (2014) tarafından bildirilmiştir. Yine, Deniz ve ark. (2022)'nin rat ovaryum IR hasarı çalışmasında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku MDA düzeylerinin IR grubunda kontrol grubuna (yalnızca serum fizyolojik grubu) göre istatistiksel olarak önemsiz düzeyde yükseldiğini bildirmişlerdir. Diğer yandan, Ali ve ark. (2019), Wistar rat ovaryum I/R hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) T/D grubunda doku MDA düzeylerinin sham grubuna göre önemli düzeyde arttığını bildirmiştir. Ali ve ark. (2022) diğer bir çalışmalarında Sprague-Dawley rat ovaryumlarında T/D (3 saat torsiyon, 24 saat detorsiyon) ile oluşturulan I/R hasarında, I/R grubunda doku MDA düzeylerinin sham grubuna göre anlamlı olarak yükseldiğini rapor etmişlerdir. Behrooz-Lak ve ark (2018), Wistar rat ovaryum (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) I/R hasarında, T/D grubunun doku MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($p < 0,01$), T grubuna göre ise azaldığını bildirmiştir. Başka bir Wistar rat ovaryum I/R hasarı çalışmasında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku MDA düzeylerinin T ve T/D gruplarında sham grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($p < 0,01$), buna karşın T/D grubunda

T grubuna göre azalma görüldüğü ancak istatistiksel bir değeri olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmanın serum MDA düzeylerinde ise T grubunda sham grubuna göre anlamsız bir artış olduğu, T/D grubunda ise T ve sham grubuna göre anlamsız olarak azalma olduğu bildirilmiştir (Yaman Tunç ve ark. 2016). Sunulan çalışmada bazı araştırmacıların (Ali ve ark. 2019, Deniz ve ark. 2022) bulguları ile uyumlu olarak, ovaryum dokusu MDA düzeyleri sham, T ve T/D gruplarında kontrol grubu ile kıyaslandığında artarken, istatistiki önem sadece T grubunda gözlemlendi ($p < 0,001$). Ancak, T ve T/D gruplarında, sham gruba kıyasla MDA düzeylerindeki artış istatistiksel olarak önemli düzeyde değildi. Plazma MDA düzeyleri incelendiğinde, sham ve T gruplarında kontrol gruba kıyasla önemli bir yükselme gözlenirken ($p < 0,001$), T/D grubunda önemsiz bir düşme belirlendi. Diğer yandan T/D grubu MDA düzeyleri sham ve T gruplarına göre önemli düzeyde düşük olarak belirlendi ($p < 0,001$). Sunulan çalışmada, T ve T/D işlemlerinin, MDA yönünden, sham grubuna göre dokuda önemli bir değişime neden olmadığı, diğer yandan plazmada sham grubuna göre düşmüş olması, kanda MDA molekülünün farklı antioksidan mekanizmalar ile bertaraf edilmiş olabileceğini düşündürmüştür. Yine, iskemi sonrasında reperfüzyon uygulamasının MDA yönünden iskemi uygulanmasına göre olumsuz etkisinin azaldığı öngörülebilir.

Yağ asidi metabolizmasında üretilen LPO oksidatif stres biyomarkırı olarak kabul edilmekte olup bazı metabolik bozuklukların teşhisinde kullanılmaktadır (Moldovan ve Moldovan 2004, Yin ve ark. 2011, Kanno ve ark. 2012, Ghosh ve ark. 2019, Shetty ve ark. 2021). Yapılan çalışmalarda, kontrol grubu ovaryum dokusunda LPO düzeyleri Koç ve ark. 2019 tarafından 46 nmol/g doku ($0,046 \mu\text{mol/g doku}$), Ghosh ve ark. 2022 tarafından 20 mmol/mg doku ($20 \mu\text{mol/g doku}$), Çığır ve ark. 2015 tarafından 0,6 nmol/g doku ($0,0006 \mu\text{mol/g doku}$) olarak bildirilmiştir. Serumda Abd-Elkareem ve ark (2022) tarafından $1,284 \pm 0,095 \text{ nmol/mL}$ ($1,284 \mu\text{mol/L}$), Yang ve ark (2016) tarafından 500 nmol/L ($0,5 \mu\text{mol/L}$), Khaksar ve ark (2017) tarafından 2,9 $\mu\text{mol/L}$, Türkalp ve Kaptanağası (1994) tarafından 3,49 nmol/ml ($3,49 \mu\text{mol/L}$), Yavuz ve Kurtoğlu (2014) tarafından 5,31 $\mu\text{mol/L}$ olarak bildirilmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen ovaryum ($0,39 \pm 0,02 \mu\text{mol/g doku}$) ve plazma LPO düzeyleri ($3,16 \pm 0,23 \mu\text{mol/L}$) araştırmacıların bildirdiği düzeylerin arasında bulunmuştur.

Çığır ve ark (2015) yaptıkları bir çalışmada Wistar rat ovaryum İ/R (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) hasarında doku LPO düzeylerinin İ/R grubunda kontrol

grubuna göre (sadece laporektemi yapılmış) anlamlı olarak arttığını bildirmiştir ($p<0,05$). Bir başka çalışmada Sprague-Dawley rat ovaryum İ/R hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku LPO düzeylerinde İ/R grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış ($p<0,0001$) olduğu bildirilmiştir (Koç ve ark. 2019). Ghosh ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada Wister strain ovaryum İ/R hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku LPO düzeylerinde İ/R grubunda sham grubuna göre anlamlı bir artış olduğu bildirmiştir ($p<0,01$). Sunulan çalışmada da her ne kadar istatistiksel olarak önemli olmasa da sham, T ve T/D grupları doku LPO düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı, yine plazma LPO düzeylerinin sham ve T gruplarında kontrol grubuna göre yükseldiği tespit edildi. Sunulan çalışmada, MDA düzeylerinde olduğu gibi, doku ve plazmada LPO düzeyleri T/D grubunda T grubuna göre düşük olarak belirlendi.

Peroksinitrit oluşumu reperfüzyon etiyolojisinde yer alan temel mekanizmalardan biridir. Peoksinitrit oluşumuna neden olan ajanlardan biri nitrik oksittir (NO). Nitrik oksit endotel kökenli, son derece hızlı ve kısa süreli etkiye sahip, tüm vasküler sistemde eksprese edilen bir vazodilatatör ajandır (Demirci ve ark. 2004). Yapılan literatür taramalarında, kontrol grubu rat ovaryum NO düzeyleri farklı araştırmacılar tarafından oldukça geniş bir aralıkta bildirilmiştir; Ghosh ve ark. (2022) Wister strain ratlarda 120 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ doku (12000 $\mu\text{mol}/\text{g}$ doku), Yaman Tunç ve ark. (2016) Wistar ırkında 14,2 nmol/mg doku (14,2 $\mu\text{mol}/\text{g}$ doku), Akalın (2014) Sprague-Dawley ırkında 0,95 nmol/mg doku (0,95 $\mu\text{mol}/\text{g}$ doku), Ali ve ark. (2022) Sprague-Dawley ırkında 50,47 nmol/g doku (0,050 $\mu\text{mol}/\text{g}$ doku) olarak bildirmişlerdir. Dokuda olduğu gibi serum NO düzeyleri de ratlarda geniş bir aralıkta rapor edilmiştir; Yaman Tunç ve ark. (2016) 132,9 nmol/ml (132,9 $\mu\text{mol}/\text{L}$), Xu ve ark (2012) Sprague-Dawley ırkında 13.58 ± 1.83 $\mu\text{mol}/\text{L}$, Soytürk ve ark. (2012) Wistar albino ırkında 5,92 $\mu\text{mol}/\text{L}$, Famurewa ve ark. (2018) Wistar ırkında 0,45 $\mu\text{mol}/\text{L}$ olarak bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada elde edilen kontrol grubu ovaryum NO düzeyleri ($0,38 \pm 0,03$ $\mu\text{mol}/\text{L}$) ve plazma NO düzeyleri ($10,49 \pm 0,88$ $\mu\text{mol}/\text{L}$) olarak elde edilmiş ve araştırmacıların bulduğu düzeyler aralığında olduğu gözlemlendi.

Yapılan literatür taramalarında, ovaryum T ve T/D uygulaması sonrası İ ve İ/R hasarı oluşturulan ratlarda ovaryum NO düzeyleri değişiminin birbiriyle çelişkili olduğu görülmüştür; Ghosh ve ark. (2022) Wistar strain rat ovaryum İ/R hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) ovaryum NO düzeylerinin İ/R grubunda, sham grubuna göre, önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir ($p<0,01$). Diğer bir çalışmada Wistar rat

ovaryumlarında İ/R hasarı sonrasında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) ovaryum NO düzeyleri İ/R grubunda, sham grubuna göre, önemli düzeyde ($p<0,01$) azalmıştır (Banerjee ve ark. 2021). Ovaryum İ/R hasarında Wistar rat ovaryum NO düzeylerinin sham grubuna göre önemsiz düzeyde azaldığını bildiren bir çalışma da yer almaktadır (Akalin 2014). Diğer yandan Ali ve ark. (2022) Sprague–Dawley ırkı ratlarda ovaryum İ/R hasarı (3 saat torsiyon, 24 saat detorsiyon) sonrasında ovaryum NO düzeylerinin İ/R grubunda, sham grubuna göre önemli düzeyde arttığını rapor etmişlerdir ($p<0,01$). Başka bir çalışmada da Wistar ratlarda ovaryum İ/R hasarı sonrasında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) ovaryum NO düzeylerinin torsiyon ve torsiyon/detorsiyon uygulanan gruplarda, sham grubuna göre önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir ($p<0,01$, $p<0,05$, sırasıyla). Çalışmada, torsiyon/detorsiyon grubunda torsiyon grubuna göre önemsiz bir azalma olduğu da gözlenmiştir. Aynı çalışmada plazma NO düzeyleri torsiyon grubunda, sham grubuna göre önemsiz bir artış gösterirken, torsiyon/detorsiyon grubunda, sham grubuna göre önemli bir azalma ($p<0,05$) göstermiştir (Yaman Tunç ve ark. 2016). Sunulan çalışmada Ali ve ark. (2022) ve Yaman Tunç ve ark. (2016)'ın bulgularıyla uyumlu olarak, ovaryumda iskemi uygulanan grupta NO düzeylerinin kontrol ($p<0,05$) ve sham gruplarına göre ($p>0,05$) yükseldiği belirlendi. Ayrıca, Yaman Tunç ve ark. (2016)'nın bulgularıyla uyumlu olarak, T/D grubunda NO düzeyleri T grubuna göre önemsiz düzeyde azaldı. Plazma NO düzeyleri ise iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarı sonrasında sham grubuna göre önemli düzeyde değişmedi.

Başlıca karaciğerde sentezlenmekte olan seruloplazmin (Cp) inflamasyon ve doku hasarı gibi metabolik durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteini olup (Fox ve ark. 1995, McPearson 1996), SOR oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek, dokularda ve plazmada bulunan serbest radikallerin yol açtığı hasarı engellediği bildirilmiştir (Burtis ve Ashwood 1999, Floris ve ark. 2000).

Yapılan literatür taramalarında ovaryum T ve T/D uygulaması sonrasında Cp düzeylerinin incelendiği az sayıda literatüre rastlanılmıştır. Atasever ve Bakacak (2017) Wistar rat ovaryum İ/R hasarı (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) uyguladıkları çalışmalarında Cp düzeylerinin (Ölçüm metodu ve birim belirtilmemiş) T ve T/D gruplarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük olduğunu bildirmişlerdir ($p<0,01$). Aynı çalışmada T ve T/D grupları arasında önemli değişim gözlenmemiştir. Diğer yandan Lazar (2017) ovaryum T ve T/D gruplarında serum Cp düzeylerinin kontrol gruba göre değişmediğini

bildirmişlerdir. Yine Kılıç ve ark. (2016) ratlarda ovaryum torsiyon detorsiyonu (2 saat torsiyon, 2 saat detorsiyon) hasarında, sham, T ve T/D grupları arasında kan seruloplazmin düzeylerinin değişmediğini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada önemsiz düzeyde de olsa T grubunda, sham ve kontrol gruplarına göre, artış olduğu, T/D grubunda ise sham ($p>0,05$) ve T grubuna ($p<0,01$) göre önemli düzeyde bir azalma olduğu, ayrıca T/D+DMSO grubunda sham, T ve T/D grupları arasında bir fark olmadığı belirlendi. Sunulan çalışmada rutinin ovaryum torsiyon/detorsiyon modelinde doku seruloplazmin düzeylerine etkisi ilk defa sunulan çalışmada ortaya konuldu. T/D+ DMSO +Rutin grubu Cp düzeyleri T/D+DMSO grubuna göre önemli düzeyde düşük olarak belirlendi.

Endojen bir antioksidan olan GSH, organizmada başta antioksidasyon olmak üzere birçok önemli fonksiyona sahiptir (Sies 1999, Diaz Vivancos ve ark. 2010). Glutasyon serbest oksijen radikalleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyon ürünleri olan MDA ve 4-HNE moleküllerinin detoksifikasyonunda antioksidan olarak görev yapmaktadır (Yadav ve ark. 2008, Zhong ve ark. 2013). Ovaryum dokusunda GSH düzeyleri Koç ve ark. (2019) tarafından Sprague-Dawley ırkında 3,5 mmol/mg doku ($3,5 \times 10^6$ nmol/g doku), Abdelzaher ve ark. (2021) tarafından Wistar albino ırkında 200 μ mol/g doku (200×10^3 nmol/g doku), Refaie ve El-Hussieny (2018) tarafından Wistar ratlarda 8,6 μ mol/g doku (8600 nmol/g doku), Karaçor ve ark. (2020) tarafından Sprague-dawley ratlarda 2064.8 nmol/g doku, Deniz ve ark.(2022) tarafından 2,9 nmol/g doku olarak bildirilmiştir. Serum GSH düzeyleri Bahrami ve ark. (2016) Wistar ırkında 70 μ mol/ml (70×10^3 nmol/ml), Adams ve ark. (1983) tarafından 16.5 μ mol/L (16.5 nmol/ml), Genç (2020) tarafından Sprague-Dawley ırkında 1.45 nmol/ml olarak bildirilmiştir. Çok geniş bir aralıkta seyreden ovaryum ve plazma GSH düzeyleri dikkate alındığında, sunulan çalışmada doku GSH ($706,89 \pm 134,10$ nmol/g doku) ve plazma GSH düzeyleri ($13,38 \pm 1,35$ nmol/ml) araştırmacıların bildirdikleri değerlerin arasında belirlenmiştir.

Ovaryum iskemi reperfüzyon hasarında, ovaryum ve serum GSH düzeyleri, çeşitli araştırmacılar tarafından, kontrol gruplarına göre önemli ya da önemsiz düzeylerde azalmış olarak bildirilmektedir. Wistar strain ratlarda ovaryum IR hasarı yapılan grupta (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon), sham grubuna göre anlamlı azalma ($p<0,001$), Koç ve ark. (2019) Sprague-Dawley ovaryum İ/R hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku GSH düzeylerinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre anlamlı

azalma ($p<0,0001$), Refaie ve El-Hussieny (2018) Wistar ovaryum IR oku hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku GSH düzeyinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma ($p<0,05$), Dirik ve ark. (2021) ile Ghosh ve ark. (2022) Wistar ırkında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon), T/D grubunda serum ve doku GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı azalma ($p<0,05$) olduğunu bildirirken, Deniz ve ark. (2022) Sprague Dawley ırkında, doku GSH düzeylerinin iskemi ve İ/R gruplarında kontrole göre önemsiz düzeyde düştüğünü, Kozlu ve ark. (2021) da Sprague Dawley ovaryum IR doku hasarında (3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon) doku GSH düzeylerinin İ/R grubunda kontrole göre önemsiz düzeyde düştüğünü bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada her ne kadar istatistiki olarak önemli olmasa da doku ve plazma T/D grubunda sham ve T gruplarına göre bir azalma olduğu gözlemlendi.

Glutasyon peroksidaz H_2O_2 molekülünü H_2O 'ya parçalayarak hücreyi oksidatif strese karşı koruyan önemli enzimlerden birisidir. Ovaryum dokusu GPx aktivitesi, Melekoğlu ve ark. (2018) tarafından Wistar albino ırkında 596 ± 0.54 U/mg protein (596×10^3 U/g protein), Kheradmand ve ark (2010) tarafından Wistar ırkında 8,83 U/mg protein (8830 U/g protein), Behrooz-Lak ve ark. (2018) tarafından Wistar ırkında 39,6 U/ g protein, Kavak ve ark. (2018) tarafından Sprague-Dawley ırkında 43,03 U/g protein, olarak bildirilmiştir. Serum GPx aktivitesi, (Ren ve ark. (2019) tarafından albino ratlarda 0,57 U/ml (577 U/L), Nuhu ve ark. (2019) tarafından Sprague-Dawley ırkında 1,5 U/ml (1500 U/L), Vakili ve ark. (2020) tarafından Sprague-Dawley ırkında 2200 U/L olarak bildirilmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen ovaryum ($59,21 \pm 4,94$ U/g protein) ve serum GPx aktiviteleri ($755,63 \pm 24,64$ U/L) literatür değerlerin arasında belirlenmiştir.

Ovaryum torsiyon, torsiyon/detorsiyon hasarında, doku GPx aktivitesinin değiştiğini bildiren literatürler bulunmaktadır (Baş ve ark. 2013, Melekoğlu ve ark. 2018, Dirik ve ark. 2021). Dirik ve ark. (2021), Wistar ratlarda ovaryum I/R hasarı sonrasında, T/D grubunda ovaryum ve serum GPx aktivitelerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde düştüğünü ($p<0,05$) bildirmişlerdir. Yine Melekoğlu ve ark. (2018) ile Baş ve ark. (2013) Wistar ratlarda ovaryum I/R hasarı sonrasında, doku GPx aktivitesinin sham ve kontrol gruplarına göre önemli düzeyde düştüğünü rapor etmiştir. Kavak ve ark. (2018) ise sham grubu ile karşılaştırıldığında T/D ($p<0,05$) grubunda GPx aktivitesinin düştüğünü bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da doku GPx aktivitesinin T/D grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz de olsa düşük olduğu tespit edildi.

Kontrol, sham, T ve T/DT gruplarının histolojik bulguları incelendiğinde, sunulan çalışmada yapılan literatür taramalarında elde edilen bilgilerle uyumlu olarak (CakirGungor ve ark. 2014, Nayki ve ark. 2018), kontrol grubunda sağlıklı ovaryum histolojisi gözlenirken, sham grubunda normal histolojik bulgular elde edildi bununla birlikte, operatif stres kaynaklı olduğu düşünülen küçük kanama odaklarına da rastlandı.

Bashandy ve ark. (2018) rat ovaryumunda yaptıkları çalışmada torsiyon uygulanan grupta yaygın hemoraji gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Şahin ve ark. (2020) ise torsiyon gruplarında folikül dejenerasyonu, hiperemi ve hemorajide artış tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar sunulan çalışmaya ait torsiyon grubundaki bulgular ile uyumlu olup ilave olarak atretik folikül sayısında da kontrol grubuna göre artış tespit edildi. Yedi yaşındaki bir kız çocuğunda yapılan vaka sunumunda sağ ovaryum torsiyonu nedeniyle cerrahi müdahale sonucu alınan ovaryumun mikroskopik incelemesinde bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer olarak normal primordiyal foliküller de görülmüştür (Şahin ve ark. 2008). Ovaryum torsiyon-detorsiyonu uygulanan ratlarda ise Şahin ve ark. (2020) ciddi doku hasarı şekillendiğini ve foliküler dejenerasyonun belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Çığşar ve ark. (2015), rat ovaryumunda, torsiyon-detorsiyon grubunda venöz ve kapillar damarların tahrip olması sonucu şiddetli hemoraji gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Ayrıca Kozlu ve ark. (2021) ratlarda yaptıkları çalışmada torsiyon-detorsiyon grubunda medulla bölgesindeki damarlarda, korteks bölgesindeki foliküllerin etrafında, intersitisyel alanlarda ve korpus luteumda yoğun hiperemi ve hemoraji gördüklerini ve kontrol grubuna kıyasla bu grupta da atretik folikül sayısında artış olduğunu bildirmişlerdir. Benzer olarak Gökalp N. (2015) torsiyon grubunda 1 ve torsiyon-detorsiyon grubunda da 4 ratta hemoraji gördüklerini, hipereminin ise iki gruptaki tüm ratlarda görüldüğünü bildirmişlerdir. Sunulan çalışmanın bulgularının yukarıda bahsedilen çalışmalarla uyumluluk gösterdiği; T grubunda doku hasarı, hemoraji, hiperemi ve atretik folikül sayısının sham ve kontrol grubuna göre arttığı, T/D grubunda ilave olarak hiperemi ve hemorajinin daha yüksek düzeyde olduğu ve foliküler dejenerasyonun şekillendiği tespit edildi ancak dejenere olmamış primordiyal foliküller gözlenmedi. Bununla birlikte başka bir çalışmada (Karaca ve ark. 2009), T/D grubunun sadece torsiyon uygulanan gruba göre daha iyi histopatolojik sonuçlara sahip olduğu bildirilirken yapılan bu çalışmada T/D grubunun hiperemi ve hemoraji açısından torsiyon grubuna göre daha şiddetli seyrettiği görüldü.

Bitkilerde yaygın olarak bulunan flavonoidlerin antioksidan özellikleri nedeniyle, birçok hastalığı önleyici oldukları ve dolayısı ile sağlığı olumlu etkiledikleri düşünülmektedir (Salaritabar ve ark. 2017). Bu amaçla dışardan organizmaya alınan flavonoidler, hem endojen antioksidanların etkilerini artırabilmekte hem de farklı mekanizmalarla serbest radikallere karşı organizmaya yardımcı olduğu bilinmektedir (Sunil ve Xu 2019).

Bir flavonoid olan rutin antioksidan, antiinflamatuvar, vazoprotektif, sitoprotektif, nöroprotektif, antilösemik, antikarsinogenik ve kardiyoprotektif etkileri bildirilmiştir (Arjumand ve ark. 2011, Lin ve ark. 2012, Aziza ve ark. 2014, Ganeshpurkar ve Saluja 2017, Singh ve ark. 2019).

Sunulan çalışmada, rutin ovaryum T ve T/D hasarındaki etkileri, rutin bağırsaklardan emiliminin yavaş olması nedeniyle (Manach ve ark. 1997, Carbonaro ve Grant 2005), i.p. yolla uygulanmıştır. Rutinin suda çözünürlüğü oldukça düşük olduğundan (Gullon ve ark. 2017), rutini çözündürme amaçlı olarak DMSO kullanıldı ve DMSO'nun etkilerini de ortaya koymak amacıyla T/D+DMSO grubu oluşturuldu.

Yapılan literatür taramalarında rutin ovaryum T ve T/D hasarı üzerine olası iyileştirici etkilerinin ortaya konulduğu sadece bir adet çalışmaya rastlanıldı. İlgili çalışmada Wistar albino ratlara 2 saat perfüzyon, 2 saat reperfüzyon (torsiyon/detorsiyon) uygulaması sonrasında 50 mg/kg dozda intraperitoneal yolla rutin (Sigma, St. Louis, MO, USA, distile suda çözündürülen) uygulanmıştır (Nayki ve ark. 2018). Çalışmada 3 grup oluşturulmuş; herhangi bir işlem yapılmadan ovaryumları alınan grup (kontrol), 2 saat torsiyon ve ardından 2 saat reperfüzyon uygulanan grup (T/D) ve torsiyon+detorsiyon + rutin uygulanan grup. Rutin detorsiyon işleminden 1 saat önce uygulanmış ve deney sonunda ovaryumlar çıkarılmıştır. İlgili çalışmada sham grubu oluşturulmamıştır. Sonuç olarak T/D grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde MDA artışı ve GSH düşüşü gözlenmiş, rutin uygulamasının bu değişimleri T/D grubuna göre düzelttiği belirtilmiştir. Sunulan çalışmada da T/D grubunda kontrol grubuna göre MDA artışı ve GSH düşüşü belirlenmiş olsa da istatistiksel fark belirlenmemiştir. Ancak ilgili araştırmacıların sham grubu olmadığından T/D grubunun kontrol grubu ile karşılaştırmasının, MDA ve GSH düzeylerindeki değişimlerin yeterli düzeyde incelenmesini engellediği kanısındayız. Zira sunulan çalışmada T/D grubu, sham grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin değişmediği, GSH düzeylerinin önemsiz düzeyde azaldığı belirlendi. T/D+DMSO

grubunda, T/D grubu ile kıyaslandığında, doku MDA düzeylerinin önemli düzeyde düştüğü gözlemlendi. Bu durum DMSO'nun düşük dozlarında bile (0,176 g/kg) antioksidan etkinlik yapabildiğini göstermesi açısından önemlidir. Ergun ve ark. (2010) 1.5 g/kg dozda uyguladıkları DMSO'nun ovaryum torsiyon/detorsiyon hasarında iyileştirici etkilerini bildirmişlerdir; torsiyon-detorsiyon gerçekleştirdikleri gruba i.p 1,5 mg/kg dozda DMSO uygulamış ve sadece torsiyon-detorsiyon şekillendirilen gruba göre hiperemi, intersitisyel alandaki hemoraji ve polimorf nükleer hücre infiltrasyonunun azaldığını belirtmiş ancak DMSO'nun oluşan doku hasarını tamamen ortadan kaldıramadığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada her ne kadar Ergün ve ark. (2010)'ın kullandığı dozun yaklaşık 1/8'i düzeyinde kullanılmış olsa da DMSO'nun antioksidan etkinliğinin varlığından söz edilebilir. Diğer yandan Soyman ve ark. (2017) ratlarda ovaryum torsiyon ve detorsiyonu gerçekleştirdikleri gruplardan birine detorsiyondan 1 saat önce 0,3 ml %0,9 NaCl + 0,2 ml DMSO'yu i.p. olarak uygulamış ve bu grupta foliküler dejenerasyon, hiperemi ve hemoraji gibi histopatolojik hasar skorlarının ($p>0.05$) sham grubuna göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışma sonuçları Ergün ve ark. (2010) ile uyumluluk gösterirken, Soyman ve ark. (2017)'dan farklı olarak T/D+DMSO grubunda hiperemi ve hemoraji açısından sham grubu ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiş ayrıca atretik folikül yoğunluğunun da sham ve kontrol hariç diğer gruplara yakın olduğu görülmüştür.

DMSO'nun sunulan çalışmada antioksidan etki gösterdiğini düşünmemizi sağlayan bir diğer bulgu da hem dokuda hem de plazmada GSH düzeylerinin, T/D+DMSO grubunda T/D grubuna göre yükselmiş olmasıdır.

Sunulan çalışmada T/D+rutin grubunda, T/D+DMSO grubu ile kıyaslandığında, MDA düzeylerinin değişmediği gözlemlendi. DMSO içinde çözündürülen rutin, suda çözündürülen rutin (Nayki ve ark. 2018)'e kıyasla daha iyi emileceği varsayıldığında, oldukça yüksek bir dozda uygulandığında, prooksidan bir etkinlik göstermiş olabileceği ve DMSO'nun bu etkiyi biraz da olsa engellediği düşünülebilir. Flavonoidlerin doza bağlı ve taşıdıkları hidroksil grubu sayısına göre antioksidan ve prooksidan olduğu bildirilmektedir; yüksek dozlarda ve hidroksil sayısının artışıyla bağlı olarak prooksidan etkinliğinin ön plana çıktığı düşünülmektedir (Jomova ve ark. 2019). Nayki ve ark. (2018), ovaryum torsiyon-detorsiyonu gerçekleştirilen ratlara i.p. 50 mg/kg rutin uygulaması sonucunda hemorajinin şiddetinde ve dejenere foliküllerin yoğunluğunda azalma olduğunu ancak vasküler konjesyonda bir değişiklik oluşmadığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmadaki

T/D+rutin grubunda da benzer şekilde T/D grubuna kıyasla hemorajinin azaldığı ve foliküllerde doku bütünlüğünün daha iyi olduğu görülmüş ayrıca hiperemi ve atretik folikül açısından T/D grubuna benzediği tespit edilmiştir. Diğer yandan T/D+rutin grubunun histolojik bulguları T/D+DMSO grubu ile benzerlik göstermiştir. Ayrıca T/D+rutin grubunda doku GSH düzeyleri, T/D+DMSO grubu ile benzer olarak belirlendiğinden, rutinin uygulanan doz ve uygulama yoluyla prooksidan etkinlikgösterdiği düşünülmektedir. Histolojik olarak da T/D+rutin grubunda, T/D+DMSO grubuna göre, hemoraji ve hipereminin arttığı gözlemlendiğinden, rutinin uygulanan doz ve yöntem ile ovaryum dokusu üzerinde iyileştirici etkinliğinin olduğu söylenememektedir. Yapılan literatür taramalarında ovaryum torsiyon-detorsiyonunda rutinin kullanılması ile ilgili kaynakların kısıtlı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte rutinin ovaryum doku hasarı üzerindeki koruyucu etkisi (Lins ve ark. 2020) yanında böbrek (Korkmaz ve Kolankaya 2010) ve testis (Wei ve ark. 2011) torsiyon-detorsiyonunda kullanımı ile ilgili çalışmalara da rastlanmıştır. Rutinin ratlarda testis T/D'u sonrasında 30 mg/kg dozda, i.v., (çözündürücü belirtilmemiş) uygulaması, T/D grubuna göre doku MDA düzeyini düşürdüğü, T/D grubunda düşen SOD ve CAT aktivitelerini artırdığı, histopatolojik olarak doku hasarını azalttığı (Wei ve ark. 2011) bildirilmiştir. Wistar albino ratlarda böbrek iskemi/reperfüzyonu uygulamasında (45 dakika perfüzyon, 3 saat reperfüzyon) reperfüzyondan 1 saat önce uygulanan 1 g/kg dozda serum fizyolojik içinde çözündürülen rutin i.p. yolla uygulanmış ve I/R grubunda meydana gelen artmış MDA ve azalmış GSH düzeylerini tersine çevirerek histopatolojiyi düzelttiği bildirilmiştir (Korkmaz ve Kolankaya 2010). Yine ratlarda artritiste rutinin iyileştirici etkinliğinin ortaya konulduğu bir çalışmada, rutin 80 mg/kg dozda serum fizyolojik içinde i.p. yolla uygulanmıştır (Guardia ve ark. 2001). Rutinin serum fizyolojik içinde çok düşük düzeyde çözündüğü düşünülerek i.p. yolla emilen miktarının 1 g/kg veya 80 mg/kg'ın oldukça altında olabileceği varsayılabilir.

Flavonoidlerin flavonon alt sınıfından olan taksifolin (3,5,7,3,4-pentahidroksi flavonon veya dihidrokuersetin) turuncgiller ve soğanda bol miktarda bulunan, antiradikal özelliğe sahip güçlü bir antioksidandır (Rice-Evans ve ark. 1996, Menaa ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2019). Taksifolinin antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, antikanser ve antioksidan etkileri rapor edilmiştir (Itaya ve Igarashi 1992, Kuang ve ark. 2017).

Sunulan bu çalışmada, antioksidan ve vazoprotektif etkileri de bulunan taksifolinin rat ovaryum T/D hasarında olası iyileştirici etkileri araştırıldı. Yapılan literatür taramalarında taksifolinin ovaryum T ve T/D hasarı üzerine olası iyileştirici etkilerinin ortaya konulduğu sadece bir adet çalışmaya rastlanıldı. İlgili çalışmada Wistar albino ratlara 2 saat perfüzyon, 2 saat reperfüzyon (torsiyon/detorsiyon) uygulaması sonrasında 50 mg/kg dozda oral yolla taksifolin (Evalar Company, Russia, serum fizyolojik içinde) uygulanmıştır (Kiremitli ve ark. 2021). Çalışmada 3 grup oluşturulmuş; serum fizyolojik uygulanan sham grubu, 2 saat torsiyon / 2 saat detorsiyon uygulanan grup (T/D) ve torsiyon+detorsiyon + taksifolin uygulanan grup (T/D+taksifolin). Taksifolin anestezi uygulanmasından 1 saat önce uygulanmış, aynı zaman içerisinde sham ve T/D gruplarına da serum fizyolojik oral yolla verilmiş ve deney sonunda ovaryumlar çıkarılmıştır. Çalışmada kontrol grubu oluşturulmamıştır. Çalışmanın doku MDA bulguları incelendiğinde; T/D grubunda sham grubuna göre MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığı ($p<0,001$), taksifolin uygulanmasının artan MDA düzeyini azalttığı ($p<0,001$) bildirilmiştir. Çalışmanın doku total GSH düzeyleri incelendiğinde; T/D grubunda sham grubuna göre anlamlı ($p<0,001$) bir azalma olduğu, taksifolin uygulanmasının T/D grubuna göre total GSH düzeyini anlamlı olarak artırdığını bildirmişlerdir. Öte yandan çalışmada kontrol ve torsiyon grupları oluşturulmadığından anılan gruplardaki MDA ve GSH düzeylerindeki değişimler ortaya konulmamıştır. Sunulan çalışmada doku MDA düzeyleri incelendiğinde T ve T/D gruplarında sham grubuna göre önemsiz, kontrol grubuna göre önemli bir artış dikkati çekti ($p<0,001$). Çalışmada T/D+DMSO grubunda sham, T ve T/D gruplarına göre doku MDA düzeyinin önemli düzeyde azalması ($p<0,001$) DMSO'nun antioksidan etkisinin bir sonucu olarak karşımıza çıkmıştır. DMSO'nun (1.5 mg/kg dozda, i.p.) ovaryum T/D modelinde antioksidan etkinliğinin araştırıldığı çalışmada (Ergün ve ark.2010) T/D+DMSO grubunda ovaryum MDA düzeylerinin, T/D grubuna göre önemsiz bir düşüş ($p>0,05$) gösterdiği, plazma MDA düzeylerinin ise önemli düzeyde ($p<0,05$) düşüş gösterdiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada doku NO düzeyleri önemli ($p<0,05$), plazma NO düzeyleri önemsiz düzeyde düşmüştür. Sunulan çalışmada bir çözüldürücü ajan olarak uygulanan DMSO'nun (0,176 mg/kg dozda, i.p.), T/D grubuna göre ovaryumda MDA düzeylerini önemli düzeyde düşürdüğü, GSH düzeylerini önemli, GPx aktivitelerini önemsiz düzeyde artırdığı, NO düzeylerini ise değiştirmedığı belirlendi. Taksifolinin etkinliğini araştırmak üzere oluşturulan T/D+DMSO + taksifolin grubunda ise T/D+DMSO

grubuna göre ovaryum ve plazmada MDA düzeylerinde önemsiz artışa, GSH düzeylerinde önemli, GPx aktivitesinde önemsiz düşüşe neden olmasının taksifolinin uygulanan doz ve uygulama yöntemi ile antioksidan bir özellik göstermediğini hatta prooksidan etkinlik gösterdiğini düşündürmektedir. Histolojik bulgular değerlendirildiğinde, taksifolinin iyileştirici etkinliğinden ziyade prooksidan bir etkinlik ile T/D+DMSO grubuna göre hemorajiyi ve dokudaki hasarı artırdığı gözlemlendi. Bu çalışmada, DMSO içinde çözündürülen ve i.p. yolla uygulanan taksifolinin çözünme ve emilim yönünden yüksek düzeylerinin elde edildiği ve böylece prooksidan bir etkinlik gösterdiği sonucuna varılabilir. Taksifolinin yüksek dozlarda prooksidan olabileceğini bildiren literatürler bulunmaktadır (Dickancaite ve ark. 1998, Jomova ve ark. 2019). Kiremitli ve ark. (2021) ratlarda ovaryum torsiyon-detorsiyonu oluşturduktan sonra oral yolla 50 mg/kg taksifolin uygulaması sonrasında Taksifolin verilen grubun sadece torsiyon-detorsiyon oluşturdukları gruba göre ovaryumun korteks ve medullasında belirgin düzelme gösterdiğini, hipereminin hafiflediğini ve normal foliküler yapı ile gelişen folikül sayısında artış olduğunu, ancak atretik foliküllerde ve korpus luteumda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Ratlarda yapılan farklı bir çalışmada Ince ve ark. (2021) antipsikotik özellikteki klopazin ve haloperidol etken maddelerinin oksidatif stres sonucu ovaryumda oluşturduğu üreme bozukluğu üzerine taksifolinin koruyucu etkisini incelemişler ve bu antioksidan maddenin primordiyal, primer ve sekonder foliküllerde meydana gelen şiddetli dejenerasyon ile vakuolizasyonu azalttığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte taksifolinin ovaryum üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır ancak taksifolinin mide hasarına (Çimen 2020), karaciğer (Eken ve Kurnaz 2019), miyokardiyal (Tang ve ark. 2019) ve böbrek iskemi reperfüzyon hasarına (Balci ve ark 2019) karşı koruyucu etkisini bildiren histopatolojik çalışmalar literatürlerde yer almaktadır.

Diğer organ T/D modellerinde, taksifolinin iyileştirici etkinlikleri bildirilmiştir; Wistar albino erkek rat böbreklerinde oluşturulan T/D hasarında (1 saat T, 6 saat D), anesteziden 1 saat önce uygulanan taksifolinin (50 mg/kg, distile su içinde, oral yolla) doku MDA düzeylerini azalttığı, ($p<0,001$), GSH düzeylerini artırdığı, histopatolojik olarak vasküler dilatasyon, kanama ve glomüler hasarı iyileştirdiği bildirilmiştir (Balci ve ark. 2019). Erkek rat miyokardında oluşturulan I/R hasarında (30 dakika torsiyon, 60 dakika detorsiyon) doku GPx aktiviteleri incelendiğinde I/R grubunda sham grubuna göre anlamlı azalma olduğu ($p<0,01$), I/R + 5 μ M taksifolin ($p<0,05$) ve I/R+ 15 μ M

taksifolin ($p<0,01$) gruplarının GPx aktivite düzeylerinde I/R grubuna göre anlamlı bir artış olduğu ifade edilmiştir. Çalışmanın doku MDA düzeyleri incelendiğinde I/R grubunda sham grubuna göre anlamlı bir artış olduğu ($p<0,01$) , I/R + 5 μ M taksifolin ve I/R+ 15 μ M taksifolin gruplarında I/R grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu belirtilmiştir ($p<0,01$). Aynı çalışmada doku SOD aktivitelerine bakıldığında I/R grubunda sham grubuna göre anlamlı azalma olduğu ($p<0,01$) öte yandan I/R + 5 μ M taksifolin ($p<0,05$) ve I/R+ 15 μ M taksifolin ($p<0,01$) gruplarının SOD aktivite düzeylerinin I/R grubuna göre anlamlı olarak artırdığı ifade edilmiştir. Histopatolojik bulgu değerlendirilmesinde ise I/R grubunda görülen hasarın I/R+ 15 μ M taksifolin grubunda anlamlı olarak düzeltildiği bildirilmiştir (Tang ve ark. 2019). Wistar albino erkek ratlarda yapılan bir başka çalışmada karaciğerde T/D ile oluşturulan (1 saat torsiyon, 6 saat detorsiyon) İ/R hasarında doku MDA düzeylerinde sham grubuna göre İ/R grubunda anlamlı bir artış olduğu ($p<0,001$), İ/R + taksifolin grubunda (50 mg/kg uygulama yolu belirtilmemiştir) İ/R grubuna göre anlamlı bir düşüş olduğu ifade edilmiştir ($p<0,001$). Çalışmada doku GSH düzeyleri incelendiğinde İ/R grubunda sham grubuna göre anlamlı bir artış olduğu ($p<0,001$), İ/R + taksifolin grubunda İ/R grubuna göre anlamlı bir artış olduğu ifade belirtilmiştir ($p<0,001$). Aynı çalışmanın histopatolojik bulgu değerlendirilmesinde İ/R ile oluşan hasarın taksifolin uygulamasıyla anlamlı olacak şekilde azaldığı bildirilmiştir (Eken ve Kurnaz 2019).

Sunulan çalışmada taksifolinin ovaryum T ve T/D hasarındaki etkileri, taksifolinin suda çözünmesinin çok düşük olması (Radaeva ve ark. 1997, Chernukha ve ark. 2009), dolayısıyla emiliminin ve organizma tarafından kullanımının yavaş olması (Shikov ve ark. 2009, Zinchenko ve ark. 2011) nedeniyle i.p. yolla ilk kez ortaya konuldu ve taksifolini çözündürme amaçlı olarak DMSO kullanıldı.

6. SONUÇ

Çalışmada taksifolin ve rutin DMSO içinde çözündürülerek emilim düzeyinin yükseldiği ve diğer araştırmacıların uygulama dozlarına göre (%0.9'luk NaCl veya su içerisinde çözündürüldüğünde) oldukça yüksek dozlara ulaştığı ve prooksidan bir etkinlik gösterdikleri düşünülmektedir. Ayrıca, DMSO'nun uygulanan dozunda (0,176 mg/kg, i.p.) ovaryum T/D hasarı üzerinde iyileştirici etkileri hem biyokimyasal hem de histolojik olarak ortaya konuldu. Ovaryum T/D hasarı üzerine antioksidan etkinlikli maddelerin etkileri çalışılırken, etken maddenin çözündürüldüğü çözücünün kimyasal özellikleri ile antioksidanın verilme yönteminin, etkinliğini önemli düzeyde değiştirebildiği düşünülmektedir. Antioksidan moleküllerin yüksek dozlarda prooksidan etkinlik gösterebileceği dikkate alınmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. **Abarikwu SO, Olufemi PD, Lawrence CJ, Wekere FC, Ochulor AC ve ark.** Rutin, An Antioxidant Flavonoid, Induces Glutathione And Glutathione Peroxidase Activities To Protect Against Ethanol Effects In Cadmium-Induced Oxidative Stress in The Testis Of Adult Rats. *Andrologia*, **2017**, s. 49 (7), e12696.
2. **Abdelzaher WY, Abdel-Hafez SMN, Rofaail RR, Ali AHS, Hegazy A ve ark.** The Protective Effect of Fenofibrate, Triptorelin, and Their Combination Against Premature Ovarian Failure in Rats. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **2021**, s. 394:137–149
3. **Abd-Elkareem M, Soliman M, Abd El-Rahman MAM, Nasser S. Abou Khalil NS.** The Protective Effect of Nigella Sativa Seeds Against Monosodium Glutamate-Induced Hepatic Dysfunction in Rats. *Toxicology Reports*, **2022**, s.9:147–153.
4. **Adams JD Jr, Lauterburg BH, Mitchell JR.** Plasma Glutathione and Glutathione Disulfide in The Rat: Regulation and Response to Oxidative Stress. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **1983**, 227:(3)749-754.
5. **Aebi H.** Catalase in vitro assay methods. *Methods in Enzymology*, **1984**, s. 105: 121-126.
6. **Agrawal PK, Agrawal C, Blunden G.** Rutin: A Potential Antiviral for Repurposing as a SARS- CoV-2 Main Protease (M^{pro}) Inhibitor. *Natural Product Communications*, **2021**, s.16(4): 1–12. DOI: 10.1177/ 1934 578X 21991723
7. Ağartan ES. Sıçanlarda ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarı: 3',4'-dihydroxyflavonol'un lipid peroksidasyonuna etkisi. Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Konya, **2017**.
8. Akalın F. Sivelestat ve edaravone'nın detorsiyone sıçan overindeki iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi. Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir, **2014**.
9. **Akdemir A, Erbas O, Gode F, Ergenoglu M, Yeniel O, ve ark.** Protective Effect of Oxytocin on Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Peptides*, **2014**, s. 55:126–130
10. **Akinmoladun AC, Oladejo CO, Josiah SS, Famusiwa CD, Ojo OB ve ark.** Catechin, Quercetin and Taxifolin Improve Redox And Biochemical Imbalances in Rotenone-Induced Hepatocellular Dysfunction: Relevance For Therapy in Pesticide-Induced Liver Toxicity? *Pathophysiology*, **2018**, s. 25:365–371.
11. **Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, **1995**.
12. **Ali FF, Ahmed AF, Ali DME.** Underlying Mechanisms Behind The Protective Effect of Angiotensin (1–7) in Experimental Rat Model of Ovarian Ischemia Reperfusion Injury. *Life Sciences*, **2019**, s. 235:116840. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116840>
13. **Ali FF, Mohemer SA, Ali DME.** Administration of Hemin Ameliorates Ovarian Ischemia Reperfusion Injury Via Modulation Of Heme Oxygenase-1 and p-JNK/p-NF-κBp65/iNOS Signaling Pathway. *Life Sciences*, **2022**, s. 296: 120431
14. **Altınar A, Atalay H, Tanay B.** Bir Antioksidan Olarak E Vitamini. *Balikesir Saglik Bilimleri Dergisi*, **2017**, Cilt:6 Sayı:3.
15. **Anderson ME, Meister A.** Transport and Direct Utilization of Gamma- Glutamylcyst(e)ine For Glutathione Synthesis. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, **1983**, s.80:707–711. doi:10.1073/pnas.80.3.707.
16. **Aouffen M, Paquin J, De Grandpré E, Nadeau R, Mateescu MA.** Deglycosylated Ceruloplasmin Maintains Its Enzymatic, Antioxidant, Cardioprotective, and Neuroprotective Properties. *Biochemistry and Cell Biology*, **2001**, s.79:489- 497.
17. **Arjumand W, Seth A, Sultana S.** Rutin Attenuates Cisplatin Induced Renal Inflammation and Apoptosis by Reducing NFκB, TNF-α and Caspase-3 Expression in Wistar Rats. *Food and Chemical Toxicology*, **2011**, s. 49(9):2013-2021.
18. **Atasever M, Bakacak Z.** Nigella Sativa Oil Protects the Rat Ovary from Oxidative Injury Due to Ischemia-Reperfusion. *Medical Science Monitor*, **2017**, s. 23: 5027-5033

19. **Ayala A, Munoz MF, Argüelles S.** Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2014**, Article ID 360438, 31 pages. Erişim: <http://dx.doi.org/10.11552014/360438/>
20. **Aydoğdu N, Kanter M, Erbaş H, Kaymak K.** Kadmiyuma Bağlı Karaciğer Hasarında Taurin, Melatonin ve Asetilsisteinin Nitrik Oksit, Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidanlar Üzerindeki Etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*, **2007**, s.29(2):89-96.
21. **Aziz N, Jamil RT.** Biochemistry, xanthine oxidase. (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing), **2021**. Erişim: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545245/>
22. **Aziza SA, Azab Mel-S, El-Shall SK.** Ameliorating Role of Rutin on Oxidative Stress Induced by Iron Overload in Hepatic Tissue of Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **2014**, s. 17(8):964-77.
23. **Bahrani S, Shahriari A, Tavalla M, Azadmanesh S, Hamidinejat H.** Blood Levels of Oxidant/Antioxidant Parameters in Rats Infected with *Toxoplasma gondii*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, Article ID 8045969, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8045969>
24. **Balcı MG, Eken H, Gulaboğlu M.** The Effect of Taxifolin in the Treatment of Renal Damage Induced by Ischemia Reperfusion in Rats. *Eurasian Journal of Medical Investigation*, **2019**, s.3(2), 150-155.
25. **Baldelli S, Aquilano K, Ciriolo MR.** Punctum on Two Different Transcription Factors Regulated by PGC-1alpha:Nuclear Factor Erythroid-Derived 2-Like2 And Nuclear Respiratoryfactor 2. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2013**, s. 1830:4137–4146. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.006.
26. **Banerjee O, Singh S, Bose A, Kundu S, Banerjee M ve ark.** Therapeutic Potential of L-arginine in a Rat Model of Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury. *Environmental and Experimental Biology*, **2021**, s. 19:81–88
27. **Bashandy MA, Badawy Khair NS.** Ischemia–reperfusion induced injury of rat ovary and the possible protective effect of amlodipine: Histological, immunohistochemical and biochemical study. *The Egyptian Journal of Histology*, **2018**, s. 41(4):487-502
28. **Baş H, Kara Ö, Kara M, Pandır D.** Protective Effect of Vardenafil on Ischemia–Reperfusion Injury in Rat Ovary. *Turkish Journal of Medical Science*, **2013**, s. 43:684-689 DOI: 10.3906/sag-1207-108
29. **Baudouin-Cornu P, Lagniel G, Kumar C, Huang ME, Labarre J. ()**. Glutathione Degradation is a Key Determinant of Glutathione Homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, **2012**, s. 287:4552–4561.
30. **Beecher, G.R.** Overview Of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *Journal of Nutrition*, **2003**, s. 133:3248–3254.
31. **Behrooz-Lak T, Ebrahim M, Zarei L, Pourjabali M, Farhad N ve ark.** Systemic Administration of Curcumin Nanoparticles Protects Ischemia-Reperfusion Injury in Ovaries: An Animal Model Study. *Revista da Associação Médica Brasileira*, **2018**, s. 64(1):22-31.
32. **Belhan S, Özkaraca M, Özdek U, Kömüroğlu AU.** Protective Role of Chrysin on Doxorubicin-Induced Oxidative Stress and DNA Damage in Rat Testes. *Andrologia*, **2020**, s. 52:9.
33. **Belhan S, Yıldırım S, Karasu A, Kömüroğlu AU, Özdek U.** Investigation of The Protective Role of Chrysin Within The Framework of Oxidative and Inflammatory Markers in Experimental Testicular İschaemia/Reperfusion Injury In Rats. *Andrologia*, **2020**, s. 52:9.
34. Beutler E. Red cell metabolism. In: A Manual of Biochemical Methods. New York: Grune Strottan Sayfa: 67-69. 1975
35. **Bianchini A, Musci G, Calabrese L.** Inhibition of Endothelial Nitric-Oxidesynthase by Ceruloplasmin. *Journal of Biological Chemistry*, **1999**, s. 274: 20265–20270.
36. **Blackney MJ, Cox R, Shepherd D, Parker JD.** Cloning and Expression Analysis of Drosophila Extracellular Cu Zn Superoxide Dismutase. *Bioscience Reports*, **2014**, s. 34(6):e00164. <https://doi.org/10.1042/BSR20140133>
37. **Boyle SP, Dobson VL, Duthie SJ, Hinselwood DC, Kyle JA ve ark.** Bioavailability and Efficiency of Rutin as an Antioxidant: A Human Supplementation Study. *European Journal of Clinical Nutrition*, **2000**, s.54 (10):774–782.
38. **Brand MD.** The Sites and Topology Of Mitochondrial Superoxide Production. *Experimental Gerontology*, **2010**, s.45:466–472.
39. **Browne RW, Armstrong D.** HPLC Analysis of Lipidderived Polyunsaturated Fatty Acid Peroxidation Products in Oxidatively Modified Human Plasma. *Clinical Chemistry*, **2000**, s. 46:829– 836.
40. **Burtis CA, Ashwood ER.** Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Edition, W.B. Saunders Company Chapter 20, **1999**, s.477- 507.

41. **Cakir Gungor AN, Gencer M, Karaca T, Hacivelioglu S, Uysal A ve ark.** The effect of hesperetin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **2014**, s. 290(4):763-769.
42. **Cappelli-Bigazzi M, Ambrosio G, Musci G, Battaglia C, Bonaccorsi di Pati M C ve ark.** Ceruloplasmin Impairs Endothelium-Dependent Relaxation of Rabbit Aorta. *American Journal of Physiology*, **1997**, s. 273: 2843-2849.
43. **Carbonaro M, Grant G.** Absorption of Quercetin and Rutin In Rat Small İntestine. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **2005**, s.49:(3) 178-182.
44. **Carr AC, Frei B.** Toward A New Recommended Dietary Allowance For Vitamin C Based on Antioxidant and Health Effects in Humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, **1999**, s. 69(6): 1086- 1107.
45. **Chapron C, Capella-Allouc S, Dubuisson JB.** Treatment of Adnexal Torsion Using Operative Laparoscopy. *Human Reproduction*, **1996**, s. 11:998-1003.
46. **Chen HW, Jiang WS, Tzeng CR.** Nitric Oxide as a Regulator In Preimplantation Embryo Development and Apoptosis. *Fertil and Sterility*, **2001**, s. 75:(6)1163-1171.
47. **Chen Y, Shertzer HG, Schneider SN, Nebert DW, Dalton TP.** Glutamate Cysteine Ligase Catalysis: Dependence on ATP and Modifier Subunit For Regulation of Tissue Glutathione Levels. *Journal of Biological Chemistry*, **2005**, s. 280:33766-33774.doi: 10.1074/jbc.M504604200.
48. **Chernukha YL, Kononenko VA.** Test Report – Solubility of Dihydroquercetin in Different Types of Solutions, Ametis Joint Stock Company, Internal Report, **2009**.
49. **Colombo JP, Richterich R.** Zur Bestimmung des Caeruloplasmin im Plasma. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, **1964**, s.94:715- 720.
50. **Cotelle N.** Role of Flavonoids in Oxidative Stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2001**, s. 1(6):569-590.
51. **Çığsar G, Keleş ON, Can S, Karaca M, Can İ, ve ark.** The Protective Effects of Osajin on Ischemia/Reperfusion Injury to Rat Ovaries: Biochemical and Histopathological Evaluation. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2015**, s.21(5):753-760.
52. **Çimen O.** Taksifolinin Sıçanlarda Akrilamidle İndüklenen Mide Hasarına Karşı Koruyucu Etkisinin Histopatolojik Değerlendirilmesi. *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2020**, s. 23(3):418-422.
53. **Das A, Baidya R, Chakraborty T, Samanta AK, Roy S.** Pharmacological Basis and New Insights of Taxifolin: A Comprehensive Review *Biomed Pharmacother*, **2021**, s. 142:112004
54. **Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N.** A Review of Recent Studies on Malondialdehyde as Toxic Molecule and Biological Marker of Oxidative Stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **2005**, s. 15(4):316-328.
55. **Demir M, Yılmaz B, Kalyoncu Ş, Tuncer M, Bozdağ Z ve ark.** Metformin Reduces Ovarian Ischemia Reperfusion Injury in Rats Byimproving Oxidative/Nitrosative Stress. **2021**, *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, **2021**, s.60:45-50.
56. **Demirci İ, Delibaşı T, Kayahan İK, Demirci EBS.** Akut İskemik Serebrovasküler Olayda Reperfüzyon Hasarı Engellenebilir Mi? Moleküler Mekanizmalara Yönelik Gelişmeler. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, **2004**, s. 2(3):53-56.
57. **Deniz E, Topcu A, Ozturk A, Ozturk SD, Arpa M ve ark.** The Effects of Vitamin B12 on the TLR-4/NF-Kb Signaling Pathway in Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury-Related Inflammation. *International Immunopharmacology*, **2022**, s. 107:108676. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108676>
58. **Denk H, Künzele H, Plenck H, Rüsehoff J, Sellner W.** Romeis Microscopische Technic. 17, Neubearbeitete Auflage, Urban and Schwarzenberg, München, **1989**, s. 439-450.
59. **Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM.** Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, Article ID 1245049. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
60. **Dickancaite E, Nemeikaite A, Kalvelyte A, Cenas N.** Prooxidant Character of Flavonoid Cytotoxicity: Structure-Activity Relationships. *Biochemistry and Molecular Biology International*, **1998**, s. 45:923-930
61. **Diaz Vivancos P, Wolff T, Markovic J, Pallard´ o FV, Foyer CH.** A Nuclear Glutathione Cycle Within The Cell Cycle. *Biochemical Journal*, **2010**, s.431(2):169-178.
62. **Dickinson DA, Forman HJ.** Cellular Glutathione and Thiols Metabolism. *Biochemical Pharmacology*, **2002**, s. 64:1019-1026.doi:10.1016/S0006- 2952(02)01172-3.

63. **Dirik D, Kömüroğlu AU, Koşal V, Başbuğan Y, Özdek U ve ark.** Protective Effects of Chrysin in Rats With Ovarian Torsion. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2021**, s. 27(4): 417- 424,. DOI: 10.9775/kvfd.2021.25357.
64. **Dokuyucu R, Karateke A, Gökçe H, Kurt RK, Özcan O ve ark.** Antioxidant Effect of Erdosteine and Lipoic Acid in Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2014**, s.183:23–2724.
65. **Duan S, Chen C.** S-nitrosylation/denitrosylation and Apoptosis of Immune Cells. *Cellular & Molecular Immunology*, **2007**, s.vol. 4(5):353–358.
66. **Eken H, Kurnaz E.** Biochemical and Histopathological Evaluation of Taxifolin: An Experimental Study in a Rat Model of Liver Ischemia Reperfusion Injury. *Journal of Surgery and Medicine*, **2019**, s. 3(7):494-497. DOI: 10.28982/josam.587598
67. **Ellgaard L, Ruddock LW.** The Human Protein Disulphide Isomerase Family: Substrate Interactions and Functional Properties. *EMBO Reports*, **2005**, s. 6 (1):28–32.
68. **Ellman G.** Tissue Sulphydryl Groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **1959**, s. 82: 70-77.
69. **Enogieru AB, Haylett W, Hiss DC1, Bardiën S, Ekpo OE.** Rutin as a Potent Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2018**, s. 6241017.
70. **Ercan CM, Çoksüer H, Keskin U, Karaşahin KE, Alanbay İ ve ark.** Adneksiyal Torsiyon Tedavisinde Laparoskopik Yaklaşım Sonuçlarımız. *Gülhane Tıp Dergisi*, **2011**, s; 53:243-247
71. **Ergün Y, Koç A, Dolapçioğlu K, Akaydın Y, Doğruer G ve ark.** The Protective Effect of Erythropoietin and Dimethylsulfoxide on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Ovary. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **2010**, s.152(2):186-90.
72. **Erkal N, İsenlik BS, Çağlar M, Sahillioğlu B, Kumru S.** Management of Adnexal torsion. *Jornal of Clinical and Experimental Investigations*, **2014**, s. 5 (1): 7-11. doi: 10.5799/ahinjs.01.2014.01.0350
73. **Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H.** Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, Malonaldehyde and Related Aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, **1991**, s.11(1):81–128.
74. **Famurewa AC, Folawiyo AM, Enohnyaket EB, Azubuike-Osu SO, Abi I ve ark.** Beneficial Role of Virgin Coconut Oil Supplementation Against Acute Methotrexate Chemotherapy-Induced Oxidative Toxicity and Inflammation in Rats. *Integrative Medicine Research*, **2018**, s. 257-263
75. **Fink SP, Reddy GR, Marnett LJ.** Mutagenicity in Escherichia Coli of The Major DNA Adduct Derived From Ttraversohe Endogenous Mutagen Malondialdehyde. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1997**, s. 94(16):8652–8657.
76. **Fleming RE, Whitman IP, Gitlin JD.** Induction of Ceruloplasmin Gene Expression in Rat Lung During Inflammation and Hyperoxida. *American Journal of Physiology*, **1991**, s. 260: 68- 74.
77. **Floris G, Medda R, Padiglia A, Musci G.** The Physiopathological Significance of Ceruloplasmin. A Possible Therapeutic Approach. *Biochemical Pharmacology*, **2000**, s. 60:1735- 1741.
78. **Forman HJ, Zhang H, Rinna A.** Glutathione: Overview of Its Protective Roles, Measurement, and Biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, **2009**, s. 30:1–12. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006
79. **Formica JV, Regelson W.** Review of the Biology of Quercetin and Related Bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, **1995**, s. 33(12): 1061-1080.
80. **Fox PL, Mukhopadhyay C, Ehrenwald E** Structure, Oxidant Activity and Cardiovascular Mechanisms of Human Ceruloplasmin. *Life Sciences*, **1995**, s. 56 (21):1749- 1758.
81. **Fridovich I.** Superoxide Anion Radical (O₂⁻), Superoxide Dismutases, and Related Matters. *Journal of Biological Chemistry*, **1997**, s. 272:18515–18517. https:// doi.org/ 10.1074/ jbc.272.30 .18515
82. **Fruhworth GO, Loidl A, Hermetter A.** Oxidized Phospholipids: From Molecular Properties To Disease. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease*, **2007**, s. 1772(7):718–736.
83. **Galato D, Ckless K, Susin MF.** Antioxidant Capacity of Phenolic and Related Compounds: Correlation Among Electrochemical, Visible Spectroscopy Methods and Structure–Antioxidant Activity. *Redox Report*, **2001**, s. 6:243–250. https://doi. org/10.1179/135100001101536391.
84. **Gali RR, Board PG.** Identification of An Essential Cysteine Residue in Human Glutathione Synthase. *Biochemical Journal*, **1997**, s. 321:207–210.
85. **Ganeshpurkar A, Saluja AK.** The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2017**, s. 25(2):149-164.
86. **Gelen V, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A.** Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Hemorajik Sistitte Mesane Kontraktilitesi ve Histopatolojisi Üzerine Rutin'in Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **2018**, s. 13(3): 337-346.

87. **Gencer M, Karaca T, Güngör ANC, Hacivelioglu SÖ, Demirtaş S ve ark.** The Protective Effect of Quercetin on IMA Levels and Apoptosis in Experimental Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2014**, p. 177:135-140
88. **Genç M.** The Effects on the Growth Performance, Some Serum Oxidative and Nitrosative Stress Parameters of the Stocking Density in the Sprague-Dawley Rats. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi*, **2020**, s. 23(5):1359-1365.
89. **Genestra M.** Oxy Radicals, Redox-Sensitive Signalling Cascades and Antioxidants. *Cellular Signalling*, **2007**, 19:1807–1819.
90. **Ghosh D, Mukharjee S, Rajkumar R.** Arginine as A Potential Therapy against Ischemic/Reperfusion Injury in Rat Model. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **2022**, 10.22376/Ijpbs.ijpbs 2022;doi 2022.13.1.b29-36
91. **Ghosh S, Serafini R, Love CC, Teague SR, Hernández-Avilés C, ve ark.** Effects of Media and Promoters on Different Lipid Peroxidation Assays in Stallion Sperm. *Animal Reproduction Science*, **2019**, s. 211:106199. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106199>
92. **Gitlin JD.** Transcriptional Regulation of Ceruloplasmin Gene Expression During Inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, **1988**, s. 263:6281- 6287.
93. Gökarp N. Ratlarda deneysel over torsiyonunda iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine hidrojen zengin salin solüsyonu'nun koruyucu etkisi. Uzmanlık tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara **2015**.
94. **Grace PA.** Ischaemia-reperfusion Injury. *British Journal of Surgery*, **1994**, s. 81(5): 637-647.
95. **Green AR, Ashwood T, Odergren T, Jackson DM.** Nitrones as Neuro Protective Agents in Cerebral Ischemia, With Particular Reference To NXY-059. *Pharmacology and Therapeutics*, **2003**, s.100(3):195-214.
96. **Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE.** Anti-inflammatory Properties of Plant Flavonoids. Effects of Rutin, Quercetin And Hesperidin on Adjuvant Arthritis in Rat. *Il Farmaco*, **2001**, s.56(9):683-687.
97. **Gugliandolo E, Cordaro M, Siracusa R, D'Amico R, Peritore AF ve ark.** Novel Combination of COX-2 Inhibitor and Antioxidant Therapy for Modulating Oxidative Stress Associated with Intestinal Ischemic Reperfusion Injury and Endotoxemia. *Antioxidants*, **2020**, 9: 930; doi:10.3390/antiox9100930
98. **Gull'on B, Lú-Chau TA, Moreira MT, Lema JM, Eibes G.** Rutin: A Review on Extraction, Identification and Purification Methods, Biological Activities and Approaches To Enhance Its Bioavailability. *Trends in Food Science and Technology*, **2017**, s. 67:220–235.
99. **Gupta MB, Bhalla TN, Gupta GP, Mitra CR, Bhargava KP.** Anti-Inflammatory Activity of Taxifolin. *Japanese Journal of Pharmacology*, **1971**, s. 21:377-382.
100. **Hacı Z, Karaca M, Keleş ON, Börekçi B, Odabaşoğlu F ve ark.** Protective Effects of Amlodipine on Ischemia-Reperfusion Injury of Rat Ovary: Biochemical and Histopathologic Evaluation. *Fertility and Sterility*, **2008**, s. 90:2408-2415.
101. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochemical Journal*, **1984**, s. 219(1):1–14.
102. **Huang Y, Li W, Kong ANT,** Anti-oxidative Stress Regulator NF-E2-Related Factor 2 Mediates The Adaptive Induction of Antioxidant and Detoxifying Enzymes By Lipid Peroxidation Metabolite 4-hydroxynonenal. *Cell & Bioscience*, **2012**, 2(1):40.
103. **Ince S, Ozer M, Kadioglu BG, Kuzucu M, Ozkaraca M ve ark.** The Effect of Taxifolin on Oxidative Ovarian Damage And Reproductive Dysfunctions Induced by Antipsychotic Drugs in Female Rats. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, **2021**, 47(6):2140-2148.
104. **Ishii T, Itoh K, Ruiz E, Leake D, Unoki H ve ark.** Role of Nrf2 in The Regulation of CD36 and Stress Protein Expression in Murine Macrophages: Activation by Oxidatively Modified LDL and 4-Hydroxynonenal. *Circulation Research*, **2004**, s. 94(5):609–616.
105. **Itaya S, Igarashi K.** Effects of Taxifolin on The Serum Cholesterol Level in Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **1992**, s. 56(9): 1492-1494.
106. **Ji C, Rouzer CA, Marnett LJ, Pietenpol JA.** Induction of Cell Cycle Arrest by The Endogenous Product of Lipid Peroxidation, Malondialdehyde. *Carcinogenesis*, **1998**, s. 19(7):1275– 1283.
107. **Jomová K, Hudcová L, Lauro P, Simunková M, Alwasel SH ve ark.** A Switch between Antioxidant and Prooxidant Properties of the Phenolic Compounds Myricetin, Morin, 3',4'-Dihydroxyflavone, Taxifolin and 4-Hydroxy-Coumarin in the Presence of Copper(II) Ions: A Spectroscopic, Absorption Titration and DNA Damage Study. *Molecules* **2019**, 24, 4335; doi:10.3390/molecules24234335

108. **Jones DP, Park Y, Gletsu-Miller N, Liang Y, Yu T, ve ark.** Dietary Sulfur Amino Acid Effects On Fasting Plasma Cysteine/Cystine Redox Potential in Humans. *Nutrition*, **2011**, s. 27(2): 199–205.
109. **Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik Muhtar A.** Biyokimya. Nobel Yayınları, Ankara, **2013**.
110. **Kanno T, Nakamura K, Ikai H, Kikuchi K, Sasaki K, ve ark.** Literature Review of The Role of Hydroxyl Radicals in Chemically-Induced Mutagenicity and Carcinogenicity For The Risk Assessment of A Disinfection System Utilizing Photolysis of Hydrogen Peroxide. *Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition*, **2012**, S.51(1): 9–14.
111. **Kapešová J, Petrášková L, Markošová K, Rebroš M, Michael Kotik M ve ark.** Bioproduction of Quercetin and Rutinose Catalyzed by Rutinosidase: Novel Concept of “Solid State Biocatalysis”. *International Journal of Molecular Sciences*, **2019**, s. 20(5):1112.
112. **Karaca M, Odabasoglu F, Kumtepe Y, Albayrak A, Cadirci E ve ark.** Protective Effects of Erythropoietin on Ischemia/Reperfusion Injury of Rat Ovary. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2009**, 144(2):157-162.
113. **Karamiş SA, Toktay E, Unal D, Selli J, Karamiş M ve ark.** The Protective Effects of Beta-Carotene Against Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Ovarian Tissue. *Acta Histochemica*, **2015**, s. 117:790–797.
114. **Karaçor T, Dogan T, Elibol E, Bulbul M, Nacar MC.** Effects of İloprost on Experimental Ischemia and Reperfusion Injury in Rat Ovary. *BIOTECHNIC & HISTOCHEMISTRY*, **2020**, s. 95:(5)373–380.
115. **Katsuki H, Okuda S.** Arachidonic Acid as A Neurotoxic and Neurotrophic Substance. *Progress in Neurobiology*, **1995**, s. 46:607-636.
116. **Kavak EÇ, Bulmuş FG, Kavak SG, Kocaman N.** Magnesium: does it reduce ischemia/reperfusion injury in an adnexal torsion rat model? *Drug Design, Development and Therapy* **2018**, s. 12:409– 415.
117. **Khaksar MR, Rahimifard M, Baeri M, Maqbool F, Navaei-Nigjeh M ve ark.** Protective Effects of Cerium Oxide And Yttrium Oxide Nanoparticles On Reduction of Oxidative Stress Induced By Sub-Acute Exposure Todiazinon in The Rat Pancreas. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **2017**, s. 41:79–90.
118. **Khan R, Khan AQ, Qamar W, Lateef A, Tahir M ve ark.** Chrysin Protects Against Cisplatin-Induced Colon. Toxicity Via Amelioration of Oxidative Stress and Apoptosis: Probable Role of p38MAPK and p53. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2012**, s. 258 (3): 315-329. DOI: 10.1016/j.taap.2011.11.013.
119. **Kharbanda KK, Shubert KA, Wyatt TA, Sorrell MF, Tuma DJ.** Effect of Malondialdehyde-Acetaldehydeprotein Adducts on The Protein Kinase C-Dependent Secretion of Urokinase-Type Plasminogen Activator in Hepatic Stellate Cells. *Biochemical Pharmacology*, **2002**, s. 63(3):553– 562.
120. **Kheradmand A, Masoud Alirezai M, Birjand M.** Ghrelin Promotes Antioxidant Enzyme Activity and Reduces Lipid Peroxidation in The Rat Ovary. *Regulatory Peptides*, **2010**, s. 162:84–89.
121. **Kılıç A, Uyanıkoğlu H, İncebiyık A.** Rat Overinde İskemi-Reperfüzyon Üzerine N-Asetil Sistein ve Resveratrol’ün Koruyucu Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*, **2016**, s. 43 (2): 229-236.
122. **Kiremitli S, Kiremitli T, Umit Nayki U, Yılmaz N, Turkler C ve ark.** Taxifolin Attenuates Ischemia-Reperfusion Induced Oxidative Ovarian Damage in Rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **2021**, s. 10(4):168-175. doi: 10.4103/2305-0500.321124
123. **Klil-Drori AJ, Ariel A.** 15-Lipoxygenases in Cancer: A Double-edged Sword? *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, **2013**, s. 106:16–22.
124. **Koç K, Erol HS, Colak S, Cerig S, Yildirim S ve ark.** The Protective Effect of Propolis on Rat Ovary Against Ischemia-Reperfusion Injury: Immunohistochemical, Biochemical and Histopathological Evaluations. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2019**, s. 111:631–637.
125. **Korkmaz A, Kolankaya D.** Protective Effect of Rutin on the Ischemia/Reprfusion Induced Damage in Rat Kidney. *Journal of Surgical Research*, **2010**, s. 164:309-315.
126. **Kostic DA, Dimitrijevic DS, Stojanovic GS, Palic IR, Dordevic A, ve ark.** Xanthine Oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry*, **2015**, Volume Article ID 294858, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/294858>
127. **Kozlu T, Güler F, Akalın Peker P, Kazak F, Ergün Y ve ark.** The Influence of Theranekron® on Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity in Rat Ovaries, Intact and With Ischemia-Reperfusion Injury. *Veterinarski Arhiv*, **2021**, s. 91(1):85-92.

128. **Kuang H, Tang Z, Zhang C, Wang Z, Li W ve ark.** Taxifolin Activates the Nrf2 Anti-Oxidative Stress Pathway in Mouse Skin Epidermal JB6 P+ Cells Through Epigenetic Modifications. *International Journal Molecular Sciences*, **2017**, s. 18(7): 1546.
129. **Kumar KA, Arunasree KM, Roy KR, Reddy NP, Aparna A ve ark.** Effects of (15S)-Hydroperoxyeicosatetraenoic Acid and (15S)-Hydroxyeicosatetraenoic Acid on The Acute-Lymphoblasticleukaemia Cell Line Jurkat: Activation of The Fas-Mediated Death Pathway. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **2009**, s. 52(2):121–133. DOI: 10.1042/BA20070264.
130. **Lazăr C.** Ceruloplasmin in Experimental Ovarian Torsion/Detorsion. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. – Vol.1, №3, **2017**, s. DOI: 10.29256/v.01.03.2017.escbm01-14
131. **Lebovic DI, Kir M, Casey CL.** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Induces Regression of Endometrial Explants in A Rat Model Of Endometriosis. *Fertility and Sterility*, **2004**, s. 82:1008–1013.
132. **Li S, Yan T, Yang J, Oberley TD, Oberley LW.** The Role of Cellular Glutathione Peroxidase Redox Regulation in The Suppression of Tumor Cell Growth by Manganese Superoxide Dismutase. *Cancer Research*, **2000**, s. 60:3927–3939.
133. **Li Y, Schellhorn HE.** New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C. *Journal of Nutrition*, **2007**, s. 137(10): 2171-2184.
134. **Lin JP, Yang JS, Lin JJ, Lai KC, Lu HF ve ark.** Rutin Inhibits Human Leukemia Tumor Growth in A Murine Xenograft Model in Vivo. *Environmental Toxicology*, **2012**, s. 27(8):480-484.
135. **Lins TLB, Gouveia BB, Barberino RS, Silva RL, Monte AP ve ark.** Rutin Prevents Cisplatin-Induced Ovarian Damage Via Antioxidant Activity And Regulation of PTEN and FOXO3a Phosphorylation in Mouse Model. *Reproductive Toxicology*, **2020**, 98:209-217.
136. **Liochev SI, Fridovich I.** The Haber-Weiss Cycle—70 Years Later: An Alternative View. *Redox Report*, **2002**, s.7(1):55–57.
137. **Liu H, Zhong L, Zhang Y, Liu X, Liu JL ve ark.** Rutin Attenuates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Ovariectomized Rats Via Estrogen-Receptor-Mediated BDNF-Trkb and NGF-Trka Signaling. *Biochemistry and Cell Biology*, **2018**, s. 96(5):672-681.
138. **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein Measurement With Pholin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **1951**, s.193: 265-275.
139. **Lu SC.** Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2013**, s. 1830(5):3143–3153. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.09.008
140. **Lushchak VI.** Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. *Journal of Amino Acids*, **2012**, Article ID 736837, 26 pages. doi:10.1155/2012/736837
141. **Maciej J, Schäff CT, Kanitz E, Tuchscherer A, Bruckmaier RM ve ark.** Bioavailability of The Flavonol Quercetin in Neonatal Calves After Oral Administration of Quercetin Aglycone or Rutin. *Journal of Dairy Science*, **2015**, s. 98(6):3906-3917.
142. **Mahipal SVK, Subhashini J, Reddy MC, Reddy MM, Anilkumar K ve ark.** Effect of 15-Lipoxygenase Metabolites, 15-(S)-HPETE and 15-(S)-HETE on Chronic Myelogenous Leukemia Cell Line K-562: Reactive Oxygen Species (ROS) Mediate Caspase-Dependent Apoptosis. *Biochemical Pharmacology*, **2007**, s. 74(2):202–214. DOI: 10.1016/j.bcp.2007.04.005.
143. **Manach M, Morand C, Demigné C, Texier O, Régérat F ve ark. Révész.** Bioavailability of Rutin and Quercetin in Rats. *FEBS Lett*, **1997**, s. 409(1):12–16.
144. **Marnett LJ.** Lipid Peroxidation-DNA Damage by Malondialdehyde. *Mutation Research*, **1999**, s. 424(1-2):83–95.
145. **Mas-Bargues C, Escrivá C, Dromant M, Borrás C, Viña J.** Lipid Peroxidation As Measured By Chromatographic Determination of Malondialdehyde. Human Plasma Reference Values in Health and Disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2021**, s. 709(30):108941. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108941>.
146. **Mashiach R, Melamed N, Gilad N, Ben-Shitrit G, Meizner I.** Sonographic Diagnosis of Ovarian Torsion: Accuracy and Predictive Factors. *Journal of Ultrasound in Medicine*, **2011**, s. 30(9):1205–1210.
147. **Massey KA, Nicolaou A.** Lipidomics of Polyunsaturatedfatty-Acid-Derived Oxygenatedmetabolites. *Biochemical Society Transactions*, **2011**, s. 39(5):1240–1246.
148. **McGovern PG, Noah R, Koenigsberg R, Little AB.** Adnexal Torsion and Pulmonary Embolism: Case Report and Review of The Literature. *Obstetrical and Gynecological Survey*, **1999**, s. 54(9):601-8.
149. **McPearson RA.** Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method. In: Henry JB, editor, W.B. Saunders Company, Philadelphia, **1996**, s. 237- 57.

150. **Melekoğlu R, Çiftçi O, Eraslan S, Alan S, Başak N.** The Protective Effects of Glycyrrhetic Acid and Chrysin against Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Ovaries. *BioMed Research International*, **2018**, Article ID 5421308, <https://doi.org/10.1155/2018/5421308>.
151. **Menaa F, Menaa A, Tréton J.** Polyphenols Against Skin Aging, In: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S (eds), *Polyphenols in Human Health and Disease*, Academic Press, **2014**, s. 819-830.
152. **Miller DM, Singh IN, Wang JA, Hall ED.** Administration of The Nrf2-ARE Activators Sulforaphane and Carnosic Acid Attenuates 4-hydroxy-2-nonenal-induced Mitochondrial Dysfunction Ex Vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, **2013**, s. 57:1–9.
153. **Moldovan L, Moldovan NI.** Oxygen Free Radicals and Redox Biology of Organelles. *Histochemistry and Cell Biology*, **2004**, s. 122(4):395–412.
154. **Nafees S, Rashid S, Ali N, Hasan SK, Sultana S.** Rutin Ameliorates Cyclophosphamide Induced Oxidative Stress and Inflammation in Wistar Rats: Role Of Nfkb/MAPK Pathway. *Chemico Biol Interact*, **2015**, s. 231:98-107.
155. **Nandi A, Yan LL, Jana CK, Das N.** Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2019**, Article ID 9613090, 19 pages, <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>.
156. National Center for Biotechnology Information, PubChem Compound Summary for CID 439533, Taxifolin, **2021**. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Taxifolin/>>.
157. **Nayki C, Nayki U, Cimen FK, Kulhan M, Yapca ÖE ve ark.** The Effect of Rutin on Ovarian Ischemia-Reperfusion Injury in A Rat Model, *Gynecological Endocrinology*, **2018**, s. DOI: 10.1080/09513590.2018.1450378
158. **Newcomer ME, Brash AR** The Structural Basis for Specificity in Lipooxygenase Catalysis. *Protein Science*, **2015**, s. 24(3): 298–309. doi: 10.1002/pro.2626
159. **Nijveldt RJ, Van NEL, Van HDE, Boelens PG, Van NK ve ark.** Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **2001**, s. 74(4): 418-425.
160. **Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ.** Malondialdehyde, A Product of Lipid Peroxidation, Is Mutagenic in Human Cells. *Journal of Biological Chemistry*, **2003**, s. vol. 278(33):31426–31433.
161. **Nuhu F, Seymour AM, Bhandari S.** Impact of Intravenous Iron on Oxidative Stress and Mitochondrial Function in Experimental Chronic Kidney Disease. *Antioxidants*, **2019**, 8: 498. doi:10.3390/antiox8100498
162. **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*, **1979**, s. 95: 351-358.
163. **Okado-Matsumoto A, Fridovich I.** Subcellular Distribution of Superoxide Dismutases (SOD) in Rat Liver: Cu,Zn-SOD in Mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, **2001**, s. 276(42):38388– 38393.
164. **Ornellas FM, Ornellas DS, Martini SV, Castiglione RC, Ventura GM ve ark.** Bone Marrow-Derived Mononuclear Cell Therapy Accelerates Renal Ischemia Reperfusion Injury Recovery by Modulating Inflammatory, Antioxidant and Apoptotic Related Molecules. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **2017**, s. 41:1736-1752.
165. **Osaki S, Johnson DA, Frieden E.** The Possible Significance of The Ferrous Oxidase Activity of Ceruloplasmin in Normal Human Serum. *The Journal of Biological Chemistry*, **1966**, s. 241:2746-2751.
166. **Osmanağaoğlu MA, Kesim M, Yuluğ E, Mentese A, Karahan SC.** Ovarian-protective Effects of Clotrimazole on Ovarian Ischemia/Reperfusion Injury in A Rat Ovarian-Torsion Model. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, **2012**, s. 74:125-30.
167. **Özkaya, O.** Ratlarda intestinal iskemi reperfüzyon hasarına levosimendan'ın etkileri. Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Aaknesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İzmir, **2010**.
168. **Öztürk, F.** Fındıktaki fenolik bileşiklerin spektrofotometrik yöntemlerle karşılaştırmalı olarak tayini. Yüksek lisans tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Programı, İstanbul, **2012**.
169. **Panche AN, Diwan AD ve Chandra SR.** Flavonoids: An Overview. *Journal of Nutritional Science*, **2016**, s. 5(e47):1-15.
170. **Parashar U, Uppal T.** Ovarian Torsion—An Overview. *O&G Magazine*, **2011**, s. 13(1):34–35.

171. **Perman JA, Werlin SL, Grand RJ, Watkins JB.** Laboratory Measures of Copper Metabolism in The Differentiation of Chronic Active Hepatitis and Wilson Disease in Children. *The Journal of Pediatrics*, **1979**, s. 94: 564- 568.
172. **Petersen DR, Doorn JA.** Serial Review: 4-Hydroxynonenal As a Signaling Molecule. *Free Radical Biology & Medicine*, **2004**, s. 37(7):937–945. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.012
173. **Pizzimenti S, Ciamporcero E, Daga M, Pettazzoni P, Arcaro A ve ark.** Interaction of Aldehydes Derived From Lipid Peroxidation and Membrane Proteins. *Frontiers in Physiology*, **2013**, s. 4:article 242.
174. **Pocsi I, Prade RA, Penninckx MJ.** Glutathione, Altruistic Metabolite in Fungi. *Advances in Microbial Physiology*, **2004**, s. 49:1–76.
175. **Pompella A, Corti A, Paolicchi A, Giommarelli C, Zunino F.** Gamma-glutamyltransferase, Redox Regulation and Cancer Drug Resistance. *Current Opinion in Pharmacology*, **2007**, s. 7:360–366. doi:10.1016/j.coph.2007.04.004
176. **Poole RK.** Nitric Oxide and Nitrosative Stress Tolerance in Bacteria. *Biochemical Society Transactions*, **2005**, s. 33(1):176–180.
177. **Quillin SP, Siegel MI.** Transabdominal Color Doppler Ultrasonography of The Painful Adolescent Ovary. *Journal of Ultrasound in Medicine*, **1994**, s. 13:549-555.
178. **Radaeva IA, Shulkina SM, Kalugin VV.** Development of a perspective trend for the production of parapharmaceutical products with dihydroquercetin, in: Proceedings of the International Conference, Scientific and Practical Aspects in the Improvement of Quality of Products for Children and Gerodietetic Nutrition, Moscow, The Russian Federation, **1997**, s. 207–213.
179. **Rao AM, Hatcher JF, Dempsey RJ.** Lipid Metabolism in Ischemic Neuronal Death. *Recent Research Developments in Neurochemistry*, **1999**, s. 2:533-549.
180. **Refaie MMM, El-Hussieny M.** Protective Effect of Pioglitazone on Ovarian Ischemia Reperfusion Injury of Female Rats Via Modulation of Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma and Heme-Oxygenase 1. *International Immunopharmacology*, **2018**, s. 62:7–14.
181. **Ren SX, Zhanga B, Lina Y, Maa DS, Lib H.** Mechanistic Evaluation of Anti-Arthritic Activity of B-Methylphenylalanine in Experimental Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2019**, s. 113, 108730
182. **Riahi Y, Cohen G, Shamni O Sasson S.** Signaling and Cytotoxic Functions of 4-hydroxyalkenals. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, **2010**, s. 299(6):879–886.
183. **Ribeiro D, Fernandes E, Freitas M.** Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease! Flavonoids As Modulators Of Neutrophils' Oxidative Burst: Structure-Activity Relationship, Polyphen. 2nd Ed., *Mech Action Hum Health Dis*, **2018**, s. 261–276. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813006-3.00020-9>.
184. **Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G.** Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology and Medicine*, **1996**, s. 20(7): 933-956.
185. **Salaritabar A, Darvishi B, Hadjiakhoondi F, Manayi A, Sureda A, ve ark.** Therapeutic Potential of Flavonoids in Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *World Journal of Gastroenterology*, **2017**, s. 23(28): 5097-5114.
186. **Sato M, Murakami K, Uno M, Nakagawa Y, Katayama S, ve ark.,** Site-specific Inhibitory Mechanism for Amyloid B42 Aggregation by Catechol-Type Flavonoids Targeting The Lys Residues. *The Journal of Biological Chemistry*, **2013**, s. 288:23212–23224, <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.464222>.
187. **Schaur RJ.** Basic Aspects of The Biochemical Reactivity of 4- hydroxynonenal. *Molecular Aspects of Medicine*, **2003**, s. 24(4- 5):149–159.
188. **Schneider C, Tallman KA, Porter NA, Brash AR.** Two Distinct Pathways of Formation of 4-Hydroxynonenal. Mechanisms of Nonenzymatic Transformation of The 9- and 13- Hydroperoxides of Linoleic Acid To 4-Hydroxyalkenals. *Journal of Biological Chemistry*, **2001**, s. 276(24):20831–20838.
189. **Schroder M, Kaufman R. J.** ER Stress and The Unfolded Protein Response. *Mutation Research*, **2005**, s. 569(1-2):29–63.
190. **Scriven P, Brown NJ, Pockley AG, Wyld L.** The Unfolded Protein Response and Cancer: A Brighter Future Unfolding? *Journal of Molecular Medicine*, **2007**, s. 85(4):331–341.
191. **Semwal R, Joshi SK, Semwal RB, Semwal DK.** Health Benefits and Limitations of Rutin - A Natural Flavonoid With High Nutraceutical Value. *Phytochemistry Letters*, **2021**, s. 46:119–128. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.10.006>

192. **Shenbagam M, Nalini N.** Dose Response Effect of Rutin A Dietary Antioxidant on Alcohol-Induced Prooxidant and Antioxidant Imbalance - A Histopathologic Study. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, **2011**, s. 25(4):493-502.
193. **Shetty S, Anushree U, Kumar R, Bharati S.** Mitochondria-targeted Antioxidant, Mito TEMPO Mitigates Initiation Phase of *N-Nitrosodiethylamine*-induced Hepatocarcinogenesis. *Mitochondrion*, **2021**, s. 58:123–130. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2021.03.001>
194. **Shikov AN, Pozharitskaya ON, Miroshnyk I, Mirza S, I.N. Urakova IN ve ark.** Nanodispersions of Taxifolin: Impact of Solid-State Properties on Dissolution Behavior, *International Journal of Pharmaceutics*, **2009**, s. 377:148–152.
195. **Sies H.** Glutathione and Its Role in Cellular Functions. *Free Radical Biology and Medicine*, **1999**, s. 27(9-10):916–921.
196. **Singh S, Khan AR, Gupta AK.** Role of Glutathione in Cancer Pathophysiology and Therapeutic Interventions. *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, **2011**, s. 9(4):303-316.
197. **Singh S, Singh DK, Meena A, Dubey V, Masood N ve ark.** Rutin Protects T-Butyl Hydroperoxide-Induced Oxidative Impairment Via Modulating The Nrf2 and iNOS Activity. *Phytomedicine*, **2019**, s. 55:92-104.
198. **Soni KK, Kim HK, Choi BR, Karna KK, You JH ve ark.** Dose-dependent Effects of Cisplatin on The Severity of Testicular Injury in Sprague Dawley Rats: Reactive Oxygen Species and Endoplasmic Reticulum Stress. *Drug Design, Development and Therapy*, **2016**, s. 10:3959–3968.
199. **Soyman Z, Kelekçi S, Veysel SAL, Şevket O, Bayindir N ve ark.** Effects of Apigenin On Experimental Ischemia/Reperfusion Injury in The Rat Ovary. *Balkan Medical Journal*, **2017**, 34(5):444-449.
200. **Soytürk M, Saygılı SM, Baskın H, Sağol Ö, Yılmaz O ve ark.** Effectiveness of *Saccharomyces Boulardii* in A Rat Model of Colitis. *World Journal of Gastroenterology*, **2012**, s. 18(44): 6452-6460.
201. **Sroka Z, Cisowski W.** Hydrogen Peroxide Scavenging, Antioxidant and Anti-Radical Activity of Some Phenolic Acids. *Food and Chemical Toxicology*, **2003**, s. 41:753–758. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(02\)00329-0](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(02)00329-0).
202. **Sunil C, Xu B.** An Insight into The Health-Promoting Effects of Taxifolin (Dihydroquercetin). *Phytochemistry*, **2019**, s. 166.
203. **Stavric B.** Role of Chemopreventers in Human Diet. *Clinical Biochemistry*, **1994**, s. 27(5): 319- 332.
204. **Şahin Ç, Yıldırım N, Hortu İ, Akdemir A, Özşener S ve ark.** Tadalafil Attenuates Ischemic Damage as Well as Reperfusion Injury in The Rat Ovary. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, **2020**, 21(1):35
205. **Şahin D, Çetiner H, Gence A, Celayir A.** Right Ovarian Torsion And Left Ovarian Serous Cystadenoma in A Seven-Years Old Girl: A Case Report. *Turkish Journal of Pathology*, **2008**, s. 24(2):125-129.
206. **Tang Z, Yang C, Zuo B, Zhang Y, Wu G, ve ark.** Taxifolin Protects Rat Against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury By Modulating The Mitochondrial Apoptosis Pathway. *PeerJ*, **2019**, 7: e6383. DOI: 10.7717/peerj.6383
207. **Tapas AR, Sakarkar DM, Kakde RB.** Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2008**, s. 7:1089–1099, <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14693>.
208. **Taşkın O, Birincioğlu M, Aydın A, Buhur A, Burak F ve ark.** The Effects of Twisted Ischaemic Adnexa Managed Bt Detorsion on Ovarian Viability and Histology: An Ischaemia-reperfusion Rodent Model. *Human Reproduction*, **1998**, s. 13:2823-2827.
209. **Taylor CG, Nagy LE, Bray TM.** Nutritional and hormonal regulation of glutathione homeostasis. *Current Topics in Cellular Regulation*, **1996**, s. 34:189–208. doi: 10.1016/S0070-2137(96)80007-0
210. **Thilakarathna SH, Rupasinghe HPV.** Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. *Nutrients*, **2013**, s. 5(9):3367–3387.
211. **Tian C, Guo Y, Chang Y, Zhao J, Cui C, Liu M.** Dose-Effect Relationship on Anti-Inflammatory Activity on LPS Induced RAW 264.7 Cells and Antioxidant Activity of Rutin in Vitro. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **2019**, s. 76(3):511–522.
212. **Topal F, Nar M, Gocer H, Kalin P, Kocyigit UM ve ark.** Antioxidant Activity of Taxifolin: An Activity–structure Relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **2015**, s. 31:674–683, <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1057723>.
213. **Trinh TW, Kennedy AM.** Fetal Ovarian Cysts: Review of Imaging Spectrum, Differential Diagnosis, Management, and Outcome. *Radiographics*, **2015**, s. 35(2):621–635.

214. **Traverso N, Menini S, Maineri EP, Patriarca S, Odetti P ve ark.** Malondialdehyde, a Lipoperoxidation-Derived Aldehyde, Can Bring About Secondary Oxidative Damage To Proteins. *Journals of Gerontology A: Biological Sciences and Medical Sciences*, **2004**, s. 59(9):890–895.
215. **Trouillas P, Marsal P, Siri D, Lazzaroni R, Duroux JL.** A DFT Study of The Reactivity of OH Groups in Quercetin and Taxifolin Antioxidants: The Specificity of the 3-OH Site. *Food Chemistry*, **2006**, s. 97(4): 679-688.
216. **Tu BP, Weissman J S.** Oxidative Protein Folding in Eukaryotes: Mechanisms and Consequences. *The Journal of Cell Biology*, **2004**, s.164(3):341–346.
217. **Tuma DJ.** Role of Malondialdehyde-Acetaldehyde Adducts In Liver Injury. *Free Radical Biology and Medicine*, **2002**, s. 32(4):303–308.
218. **Tuma DJ, Kearley ML, Thiele GM, Worrall S, Haver A ve ark.** Elucidation of Reaction Scheme Describing Malondialdehyde—acetaldehyde— protein Adduct Formation. *Chemical Research in Toxicology*, **2001**, s.14(7):822–832.
219. **Türkalp I, Kaptanağası A.** Plasma Lipid Peroxide Levels in Type II Diabetics: Relationship with Long Term Diabetic Complications. *Marmara Medical Journal*, **1994**, s. 7/4.
220. **Vakili S, Zal F, Mostafavipour Z, Savardashtaki A, Khorchani MJ ve ark.** Effects of Quercetin and Vitamin E Onovariectomy-Induced Oxidative Stress in Rat Serum and Tibia. *Archives of Biological Sciences*, **2020**, s. 72(1):95-104
221. **Vance E, Vance JE.** Biochemistry: Biochemistry of Lipids. Lipoproteins and Membranes, 4th edition, 2002.
222. **VanderVeen LA, Hashim MF, Shyr Y, Marnett LJ.** Induction of Frameshift and Base Pair Substitution Mutations by The Major DNA Adduct of The Endogenous Carcinogen Malondialdehyde. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2003**, s. 100(24):14247–14252.
223. **Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J.** Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **2004**, s. 266: 37-56.
224. **Volinsky R, Kinnunen PKJ.** Oxidized Phosphatidylcholines in Membrane-Level Cellular Signaling: From Biophysics To Physiology and Molecular Pathology. *FEBS Journal*, **2013**, s. 280(12):2806–2816.
225. **Wang Y, Wang W, Chang C, Liou K, Sung Y ve ark.** Taxifolin Ameliorates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats Through its Anti-Oxidative Effect and Modulation of NF-kappa B Activation. *Journal of Biomedical Science*, **2006**, s. 13(1):127–141. DOI 10.1007/s11373-005-9031-0
226. **Wei SM, Yan ZZ, Zou J.** Protective Effect of Rutin on Testicular Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of Pediatric Surgery*, **2011**, s. 46:1419-1424.
227. **Weismann D, Hartvigsen K, Lauer N, Bennet KL, Scholl HPN ve ark.** Complement Factor H Binds Malondialdehyde Epitopes and Protects From Oxidative Stress. *Nature*, **2011**, s. 478(7367):76–81. doi: 10.1038/nature10449
228. **Willis MS, Klassen LW, Carlson DL, Brouse CF, Thiele GM.** Malondialdehyde-acetaldehyde Haptenated Protein Binds Macrophage Scavenger Receptor(s) and Induces Lysosomal Damage. *International Immunopharmacology*, **2004**, s. 4(7):885–899.
229. **Xu Y, Wang G, Li C, Zhang M, Zhao H ve ark.** Pu-erh Tea Reduces Nitric Oxide Levels in Rats by Inhibiting Inducible Nitric Oxide Synthase Expression Through Toll-Like Receptor 4. *International Journal of Molecular Sciences*, **2012**, s. 13:7174-7185.
230. **Yadav UCS, Ramana KV, Awasthi YC, Srivastava SK.** Glutathione Level Regulates HNE – Induced Genotoxicity in Human Erythroleukemia Cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2008**, s. 227(2): 257–264.
231. **Yaman Tunç S, Agacayak E, Icen MS, Turgut A, Alabalik U ve ark.** Protective Effects of Honokiol on Ischemia/Reperfusion Injury of Rat Ovary: An Experimental Study. *Drug Design, Development and Therapy*, **2016**, s. 10:1077–1083
232. **Yamauchi J, Miyazaki T, Iwasaki S, Kishi I, Kuroshima M ve ark.** Effects of Nitric Oxide on Ovulation and Ovarian Steroidogenesis and Prostaglandin Production in the Rabbit. *Endocrinol*, **1997**, s. 138(9):3630-3637
233. **Yang LG, Song ZX, Yin H, Wang YY, Shu GF ve ark.** Low n-6/n-3 PUFA Ratio Improves Lipid Metabolism, Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Function in Rats Using Plant Oils as n-3 Fatty Acid Source. *Lipids*, **2016**, s. 51:49–59.
234. **Yavuz H, Kurtoğlu F.** The Effects of L-Carnitine on Blood and Tissue Parameters of Male Rats Fed With Different Levels of Fish Oil. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, **2014**, s. 30:(3)138-144

235. **Yin H, Xu L, Porter NA.** Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chemical Reviews*, **2011**, s. 111(10):5944–5972.
236. **Yuce A, Kocak N, Ozen H, Gurakan F.** Wilson's Disease Patients With Normal Ceruloplasmin Levels. *The Turkish Journal of Pediatrics*, **1999**, s. 41: 99- 102.
237. **Zhang H, Forman HJ.** Redox Regulation of Gammaglutamyl Transpeptidase. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **2009**, s. 41(5):509–515.
238. **Zhang HQ, Wang YJ, Yang GT, Gao QL, Tang MX.** Taxifolin Inhibits Receptor Activator of NF- κ B Ligand-Induced Osteoclastogenesis of Human Bone Marrow-Derived Macrophages in Vitro and Prevents Lipopolysaccharide-Induced Bone Loss in Vivo. *Pharmacology*, **2019**, s. 103: 101-109.
239. **Zhong Z, Zeng T, Xie K, Zhang C, Jingjing Chen, ve ark.** Elevation of 4-hydroxynonenal and Malondialdehyde Modified Protein Levels in Cerebral Cortex With Cognitive Dysfunction in Rats Exposed To 1-Bromopropane. *Toxicology*, **2013**, s. 5(306):16-23. doi: 10.1016/j.tox.2013.01.022
240. **Zinchenko VP, Kim Iu A, Iu ST, Bronnikov GE.** Biological Activity of Water-Soluble Nanostructures of Dihydroquercetin With Cyclodextrins. *Biofizika*, **2011**, s. 56:433–438.
241. **Zito E.** ERO1: A Protein Disulfide Oxidase and H₂O₂ Producer. *Free Radical Biology & Medicine*, **2015**, s. 83:299–304.



ÖZGEÇMİŞ

İlkokulu Malatya Erkenek Hürriyet İlkokulu'nda okudu. Ortaokul öğrenimini Açıköğretim Ortaokulu'nda tamamladı. Lise öğrenimini Açıköğretim Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında girdiği Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nden, 2011 yılında mezun oldu. 2011 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde başladığı Yüksek Lisans eğitimini 2015 yılında tamamladı. 2018 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya Ortak Doktora programına başladı. İyi derecede İngilizce, başlangıç düzeyde Almanca ve Rusça bilmektedir.