

Ratlarda Otolog İntraperitoneal Over Transplantasyonunda Antioksidan Olarak Melatonin ve Oksitetrasiklin Kullanımının Karşılaştırılması

COMPARISON OF MELATONIN AND OXYTETRACYCLINE AS ANTIOXIDANTS IN AUTOLOGOUS INTRA-PERITONEAL TRANSPLANTATION OF THE OVARY IN RATS

Ekrem SAPMAZ*, Nevin İLHAN**, Aygen ALTUNGÜL***, Nusret AKPOLAT****

* Yrd.Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

** Yrd.Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Biyokimya AD,

*** Araş.Gör.Dr., Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

**** Yrd.Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Patoloji AD, ELAZIĞ

Özet

Amaç: Ratlarda otolog intraperitoneal over transplantasyonunda melatonin ve oksitetrasiklinin antioksidan etkilerinin karşılaştırılması.

Çalışmanın Yapıldığı Yer: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D. Elazığ.

Materyal ve Metod: 28 adet erişkin, düzenli siklusu sahip Wistar albino cinsi dişi rat, estrus fazında, rastgele, tek kör 4 gruba ayrıldı. Grup 1 (n=7) kontrol, Grup 2 (n=7) bilateral ooforektomi ve intraperitoneal transplantasyon grubu, Grup 3 (n=7) 20 mcg/kg/İM melatonin ve Grup 4 (n=7)'e 10mg/kg/İM oksitetrasiklin uygulandı. G3 ve G4'de ilaç uygulandıktan on beş dakika sonra bilateral ooforektomi ve intraperitoneal transplantasyon uygulandı. Tüm ratlarda laboratuvar parametreleri olarak, oksidan sisteme ait ovarian doku ve plazma malondialdehit (MDA) düzeyleri ile antioksidan savunma sistemine ait süperoks dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri incelendi. Ayrıca histopatolojik olarak vajinal sitoloji ve ovarian nekroza ait bulgular incelendi. Verilerin istatistiksel analizinde Kruskal Wallis varyans analizi uygulandı. Anlamli bulunan parametreler için Mann-Whitney U testi ile gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldı ve p<0.03 anlamlı kabul edildi. Doku MDA düzeyi, over nekrozu, plazma MDA düzeyi, GSH-Px ve SOD düzeyleri arasında Spearman bağıntı analizi yapıldı.

Bulgular: Grup 2'de over nekrozu, doku ve plazma MDA düzeyleri anlamlı olarak diğer gruplara göre artmış bulundu (p<0.03, Mann-Whitney U testi). SOD ve GSH-Px düzeyleri ise diğer gruplara göre anlamlı olarak azalmıştı (p<0.03, Mann-Whitney U testi). Melatonin kullanımı over nekrozu ve doku MDA düzeyi üzerine oksitetrasiklin kullanımına göre daha etkili bulundu (p<0.03, Mann-Whitney U testi). SOD ve GSH-Px düzeyleri üzerine her iki antioksidan benzer etkinlikte idi (p>0.03, Mann Whitney U testi). Vajinal sitolojik inceleme tüm gruplarda benzer bulundu (p>0.03, Mann Whitney U testi). Spearman analizinde doku MDA düzeyi ile over nekrozu arasında pozitif yönde ($r_s=+0.9$, n=28, p<0.001), SOD düzeyi ile negatif yönde çok güçlü bağıntı tespit edildi ($r_s=-0.9$, n=28, p<0.001).

Sonuç: Ratlarda otolog intraperitoneal pelvik over transplantasyonunda antioksidan olarak Melatonin kullanımı oksitetrasiklin kullanımına göre daha etkili olabilir. Doku MDA düzeyi arttıkça over nekrozu artmakta, SOD düzeyi ise azalmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, Oksitetrasiklin, İntraperitoneal, Over transplantasyonu

T Klin Jinekolo Obst 2003, 13:141-145

Summary

Objective: To compare the effects of melatonin and oxitetracycline as antioxidants in autologous intraperitoneal transplantation of the ovary in rats.

Design: Experimental animal study.

Setting: Fırat University, School of Medicine, Obstetrics and Gynecology Department, Elazığ

Materials and Methods: 28 adult female Wistar albino rats with regular cycles were randomly divided into four single-blinded groups in the estrus phase. Group 1 (n=7) was the control group; Group 2 (n=7) bilateral oophorectomy and intraperitoneal transplantation group. Group 3 (n=7) received 20mcg/kg/İM melatonin and Group 4 (n=7) received 10 mg/kg/İM oxitetracycline. 15 minutes after the drug administration, bilateral oophorectomy and intraperitoneal transplantation applied to both of the Group 3 and to Group 4. Ovarian tissue and serum malondialdehyde(MDA) levels of the oxidant system and superoxide dismutase(SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels of the antioxidant defense system were examined. Vaginal cytology and ovarian necrosis were investigated histopathologically. Kruskal Wallis variance analysis was used in the statistical analysis of continuous and ordinal variables for parameters with significant differences, Mann Whitney U test as used for double comparisons, for which p<0.03 was considered significant. Correlations between tissue MDA level, ovarian necrosis, plasma MDA level, GSH-Px and SOD levels were investigated by Spearman's analysis.

Results: Plasma and tissue MDA levels and ovarian necrosis were found to be significantly higher in group 2 in comparison to the other groups (p<0.03, Mann-Whitney U test), while SOD and GSH-Px levels were significantly lower. Administration of melatonin was found to be more effective than oxitetracycline on ovarian necrosis and tissue MDA levels (p<0.03, Mann-Whitney U test). Both of the antioxidants had similar effects on SOD and GSH-Px levels. Vaginal cytologic investigation revealed similar results in all groups. A positive correlation was observed between tissue MDA levels and ovarian necrosis ($r_s=+0.9$, n=28, p<0.001); a strong negative correlation was observed between tissue MDA levels and SOD levels by Spearman correlation analysis ($r_s=-0.9$, n=28, p<0.001).

Conclusions: Use of melatonin as an antioxidant in autologous intraperitoneal ovarian transplantation in rats may be more effective than the use of oxitetracycline. As tissue MDA levels increase, SOD levels decrease, however ovarian necrosis increases.

Key Words: Intraperitoneal, Ovarian transplantation, Melatonin, oxitetracycline

T Klin J Gynecol Obst 2003, 13:141-145

Çocukluk çağı tümörlerinde kullanılan kemoterapi veya radyoterapiye veya serviks kanseri için uygulanan radyoterapiye bağlı olarak over yetmezliği gelişebilir (1-3). Pelvik radyasyonda uygulanan doz çok önemlidir. Pelvise uygulanan doz 50 Gy olduğunda %60, 80 Gy ve üzerindeki dozlarda ise %100 sıklıkla ovaryan yetmezlik ortaya çıkar (4). Over yetmezliği gelişen vakalarda estrogen eksikliğinin giderilmesi için ömür boyu hormon replasmanı zorunluluğu vardır. Oysa hipotalamik-hipofizier aksı düzenli işlev gören ve otoimmün hastalığı olmayan vakalarda ovaryan transplantasyon kronik ilaç kullanımına etkili bir seçenek olabilir (1). Bu basit operasyon sayesinde steroid hormon sekresyonu ve ovulasyon uzun süre normal seyredebilir. Ayrıca ooforektomi yapılan ratlarda uygulanan hormon replasman tedavisinin osteoporoz üzerine vücudun kendi ürettiği hormonlar kadar etkili olamadığı da tespit edilmiştir (5). Bu bulgu over transplantasyonunun değerini daha da artırmaktadır.

Over transplantasyonunda çözülmemiş en önemli konulardan birisi iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesidir (6). Melatonin veya oksitetrasiklin kullanımı bir çok organda iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili bulunmuştur. Melatonin esas olarak pineal glanddan salgılanır. Özellikle yüksek toksik etkiye sahip olan hidroksil radikalini detoksifiye eder. Ayrıca hem in-vitro hem de in-vivo deneyler sonucunda oksidatif hasara karşı hücre, doku ve organları koruduğu tespit edilmiştir (7-10).

Oksitetrasiklin tetrasiklin ailesine mensup bir antibiyotik olup, yapılan çalışmalarda nötrofillerin iskemik dokuya göçünü azalttığı, endotel hücrelerine lökosit adezyonunu engellediği, dokulardaki kollajen yıkımını önlediği ve nitrik oksit sentetazı inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle iskemi/reperfüzyon hasarını önlemek için organ deneylerinde kullanılmıştır (11-15).

Bu iki antioksidan ilacın overdeki iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkilerine ait karşılaştırmalı bir çalışma mevcut değildir.

Materyal ve Metod

Bu deneysel çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı hayvan deneyi laboratuvarında yapıldı. 28 adet, düzenli sıklusa sahip, 190-220 g ağırlığında, 12-14 haftalık, erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat 12 saat ışık, 12 saat karanlık fotoperiyodunda ve 21-23 C⁰ sabit sıcaklıktaki odada, standart pellet yemi ve şehir suyu ile beslendi (16). Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesinden izin alındı. Deneyden 18 saat önce oral beslenme kesildi, sadece su içmelerine izin verildi. Vajinal sitoloji takibi ile estrus fazında oldukları tespit edilen ratlara anestezi sağlamak amacıyla 400 mg/kg/intraperitoneal (IP) kloral hidrat uygulandı. Ratlar çalışma süresince kan basıncı, kalp atımı ve ateş ölçümü için monitörize edildi. Ratlar sırt üstü operasyon masasına

yatırıldı, batin orta hat insizyonla açıldı. Ratlar rastgele, 4 gruba ayrıldı. Grup 1 (kontrol grubu, n=7), batin açıldı, overler ve uterus gözlemlendi ve batin kapatıldı, Grup 2'de (n=7) bilateral ooforektomiye takiben, overler yağ dokusundan temizlendi, 2 eşit parçaya ayrıldı ve hemen her iki uterin hornun yanındaki vasküler pleksus yakınına 3/0 vikril (Ethicon, Edinburgh, İngiltere) ile dikildi. Grup 3'de (n=7) 20 mcg/kg/IM melatonin (Melatonin^R 1g flakon, N-acetyl-5-methoxytryptamine; Sigma Chemicals Co.), Grup 4'de ise (n=7) 10 mg/kg/IM oksitetrasiklin (Primamycin/LA^R; Pfizer, İstanbul, Türkiye) uygulandı. 15 dakika sonra bilateral ooforektomi yapıldı. Yağ dokusundan temizlenen overler, 2 eşit parçaya ayrıldı ve hemen her iki uterin hornun yanındaki vasküler pleksus yakınına 3/0 vikril ile dikildi. Batin tabakaları ve cilt 3/0 ipekle kapatıldı. Ratlar deney sonuna kadar ayrı ayrı yedışerli kafeslerde tutuldu.

Tüm ratlara klinik parametreler olarak ağırlık (g), uterin ağırlık (g) ve yaş (hafta) bakıldı. Laboratuvar parametreler için, oksidatif hasarın göstergesi (lipid peroksidasyonu) için ovaryan doku malondialdehiti (MDA) ve plazma MDA; antioksidan savunma sistemi enzimlerinden eritrosit süperoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri, estrogen sekresyonunun değerlendirilmesi için vajinal sitoloji bakıldı. Vajinal sitoloji Papanikola tekniği ile boyandı ve hücreler değerlendirilemez (0), atrofik (1), hipotrofik (2), trofik (3) puan olarak yorumlandı. Overde nekroza ait patolojik bulgular oluşturduğumuz nekroz skalasına göre (yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3 puan olarak) incelendi.

Postoperatif 10. günde anesteziye edilen tüm ratların, overleri ve uterusları çıkarıldı. Over dokusunun yarısı doku MDA'yi için alüminyum folyoya sarıldı ve (-) 70 C⁰'de derin dondurucuda saklandı. Geri kalanı patolojik inceleme için %10'luk formaldehitte fikse edildi, parafin bloklara gömüldü, 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hematoksilen eozin ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskopisi altında, oluşturduğumuz nekroz skalasına göre incelendi. Ratların vena cava inferiorundan alınan ve EDTA'lı tüplere konan 5ml kan örneklerinden ise plazma MDA, eritrosit SOD ve eritrosit GSH-Px düzeyleri incelendi.

Doku MDA düzeyi, Ohkawa ve ark.(17)'nin belirttiği yöntem ile nmol/g yaş doku olarak; **Plazma MDA düzeyi**, Satoh (18) ve Yagi (19)'nin yöntemi ile nmol/ mililitre olarak;

Eritrosit SOD düzeyi, RANSOD kit (Randox, Crumlin, İngiltere) kullanılarak ve hemoglobin düzeyi Drabkin (20) yöntemi ile U/g.Hb olarak; **Eritrosit GSH-Px düzeyi**, RANSEL kit (Randox, Crumlin, İngiltere) kullanılarak Paglia and Valentine (21) yöntemi ile U/g Hb olarak ölçüldü.

İstatistiksel analiz için SPSS 9.0 programı kullanıldı. Sürekli ve ordinal verilerin istatistiksel analizinde Kruskall Wallis varyans analizi kullanıldı. Anlamli bulunan parametreler için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı, $p < 0.03$ anlamlı kabul edildi. Doku MDA düzeyi, over nekrozu, plazma MDA düzeyi, GSH-Px ve SOD düzeyleri arasındaki bağıntılar Spearman ile incelendi (r_s, n, p).

Bulgular

Tüm ratlarda deney başarılı. Ratların ağırlık, yaş, uterin ağırlık ve vajinal sitoloji sonuçları benzer bulundu ($p > 0.05$, Kruskall Wallis Varyans analizi). Değerler Tablo 1'de gösterildi.

Intraperitoneal transplantasyon grubunda, over nekrozu, doku ve plazma MDA düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.03$, Mann-Whitney U testi).

Bu grupta SOD ve GSH-Px düzeyinde diğer gruplara göre anlamlı olarak azalma tespit edildi ($p < 0.03$, Mann-Whitney U testi).

Melatonin grubunda plazma MDA düzeyi düşük, SOD ve GSH-Px düzeyi oksitetrasiklin grubuna göre yüksek olmakla birlikte istatistiksel anlam tespit edilemedi ($p > 0.03$, Mann Whitney U testi). Değerler Tablo 2'de ayrıntılı olarak gösterildi.

Spearman bağıntı analizinde doku MDA düzeyi ile over nekrozu arasında pozitif yönde ($r_s = +0.9$, $n = 28$, $p < 0.001$), SOD düzeyi ile negatif yönde ($r_s = -0.9$, $n = 28$, $p < 0.001$) çok güçlü bağıntı tespit edildi.

Tartışma

Ratlarda otolog intraperitoneal over transplantasyonunda antioksidan olarak hem melatonin hem de oksitetrasiklin etkili bulundu. Ancak melatonin, gerek ovaryan nekroz, gerekse oksidan sistem ürünleri üzerine daha etkili bulunduğu için bu vakalarda melatonin kullanımını daha uygun olabilir.

Intraperitoneal transplantasyon yapılan grupta gerek doku, gerekse plazma MDA düzeyi yüksek bulundu. Artan MDA düzeyleri direkt olarak hücre hasarına neden olur. Ayrıca araşidonik asit metabolizmasına etki ederek tromboksan sentezini artırırken prostasiklin sentezini azaltır. Sonuçta trombosit agregasyonu, iskemik dokuya nötrofil göçünde artış ve vazokonstriksiyon ortaya çıkar. Bu da dokudaki hasarı arttırıcı yönde etki eder (22,23). Yaptığımız çalışmada doku MDA düzeyi en yüksek olan ikinci grupta over nekrozu da en yüksek bulundu. Over nekrozu ile doku MDA'yi arasındaki güçlü bağıntıda bu görüşü desteklemektedir. Bulgularımız literatürle uyumludur.

İskemi-reperfüzyon olaylarında dokuda artan MDA bir süre sonra plazmada da artmaya başlar. Plazma MDA'deki artış sonucunda karaciğer, böbrek, ince barsak

Tablo 1. Ratların yaş, ağırlık, uterin ağırlık ve vajinal sitoloji değerlerinin gruplara göre dağılımı. Değerler ortalama±SD olarak gösterildi.

Parametre	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p değeri
Yaş (hafta)	12.8±0.7	13.1±0.9	13.4±0.5	12.5±0.5	AD
Ağırlık(g)	202±7.5	198±7.5	200±8.6	200±7	AD
Uterin ağırlık(g)	0.5±0.005	0.5±0.05	0.5±0.005	0.5±0.06	AD
Vajinal sitoloji (puan)	2.8±0.3	2.3±0.5	2.7±0.5	2.5±0.5	AD

AD= Anlamli değil= $p > 0.05$, Kruskall Wallis varyans analizi

Tablo 2. Gruplara göre ovaryan histopatolojik değişiklikler, oksidan sistem ve antioksidan enzim düzeyleri. Değerler ortalama±SD olarak gösterildi.

Parametre	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p değeri
Overde nekroz (puan)	0.1±0.4 ³	2.4±0.5 ¹	0.3±0.5 ³	1.3±0.7 ²	*
Doku MDA (nmol/g.yaş doku)	19.8±1.6 ⁴	137±9.5 ¹	32±3 ³	39±2 ²	*
Plazma MDA (nmol/ml)	2±0.008 ²	4.4±0.5 ¹	1.9±0.07 ²	2±0.1 ²	*
Eritrosit GSH-Px (U/g.Hb)	7.3±0.5 ¹	3.8±0.7 ²	7.1±0.3 ¹	7±0.2 ¹	*
Eritrosit SOD (U/g.Hb)	2511±110 ¹	1540±15 ³	2085±18 ²	1920±14 ²	*

*= $p < 0.05$, Kruskall Wallis varyans analizi.

Not: Aynı satırdaki ortalamalar üzerindeki farklı rakamlar gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermekte olup ($p < 0.03$, Mann-Whitney U testi), ortalamalar büyükten küçüğe doğru sıralandı.

gibi diğer organlarda da hasar ortaya çıkar (24). Biz çalışmamızda sadece overi incelediğimiz için bu konuda bir yorum yapamıyoruz. Ancak plazma MDA'sının düşük olması diğer organ zararlarının da az görülmesine neden olabilir. Bu da melatonin kullanımı için ek bir destek olabilir. Barros ve ark. (25) yaptıkları çalışmada intraperitoneal otolog over transplantasyonu yaptıkları ratlarla kontrol grubunu vajinal sitolojik değişiklikler yönünden incelemişler ve benzer bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da vajinal smear sonuçları kontrol grubu ile diğer gruplarda benzerdir. Ancak overdeki iskemik dejenerasyon (nekroz), oksidan maddeler (doku ve plazma MDA) ve antioksidan savunma sistemleri (SOD, GSH-Px) açısından anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Bu nedenle ratlardaki over transplantasyonu deneylerinde sadece vajinal sitoloji takibinin kullanılmasının yeterli olmayacağı kanaatindeyiz.

Von Eye Corleta ve ark. (26) yaptıkları çalışmada overi total olarak veya dört parçaya bölerek subcutan olarak transplante etmişler, overin dört parçaya bölünmesinin histopatolojik olarak daha yararlı olduğunu tespit etmişlerdir. Çünkü, histopatolojik incelemede orta dereceli dejenerasyon, total transplantasyonda %45 oranında, dört parçaya bölünen over transplantasyonunda %12 oranında saptanmıştır. Callejo ve ark. (1) ise intraperitoneal transplantasyon yaptıkları çalışmalarında overi iki parçaya ayırıp transplante etmişlerdir. Çalışmamız intraperitoneal olduğu için biz de overi iki parça şeklinde transplante ettik. Asıl önemli olan nokta, Von Eye Corleta ve ark.'nın (26) çalışmasında vajinal sitoloji, uterin ağırlık ve östrojen üretiminin kontrol grubuyla, overin total olarak veya dörde bölündükten sonra transplante edildiği gruplarda benzer bulunmasıdır. Oysa aynı çalışmada histopatolojik incelemede yapılmış ve nekroz oranlarında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Over transplantasyonu çalışmalarında histopatolojik inceleme mutlaka yapılmalıdır. Hatta nekroz skalası yerine overdeki primordial foliküllerin ve overdeki nekroz volümünün stereolojik yöntemlerle hesaplanması ve bulunan değerlerin, gruplar arasında karşılaştırılması, nekroz skalasına göre daha da doğru sonuç verebilir.(27, 28).

İskemi-reperfüzyon olaylarında ortaya çıkan oksijen radikalleri (süperoksit, hidroksil, peroksil, alkoksil ve singlet oksijen radikalleri) tüm membranlardaki lipidler üzerinde yıkıcı etkiye neden olur. Bunlar içinde en etkili hidroksil radikalidir (29). Sonuçta hücre zarı, lizozom zarı, endoplazmik retikulum gibi hücre organellerinin zarları yıkılarak hücre harabiyeti ortaya çıkar. Bu olaya lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonunun göstergesi ise doku ve plazmadaki lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın ölçümüdür (30). Çalışmamızda hem doku hem de plazma MDA düzeyleri ölçülerek lipid peroksidasyonu eksiksiz tespit edilmeye çalışıldı. Doku MDA düzeyleri melatonin grubunda oksitetrasiklin grubu-

na göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Çünkü melatonin hidroksil radikalini direkt etkiyle detoksifiye eder (7). Oksitetrasiklin ise süperoksit anyon üretimini azaltır (13). Over nekroz puanı da yine melatonin grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu nedenlerden dolayı melatonin kullanımı oksitetrasiklin kullanımına göre daha etkili olabilir. Ancak oksitetrasiklin verilen grupta sadece intraperitoneal transplantasyon yapılan 2.gruba göre over nekrozu puanları ile doku ve plazma MDA değerleri anlamlı olarak düşük olduğu için oksitetrasiklin kullanımı ikinci seçenek olarak önerilebilir.

Organ transplantasyonlarında çok önemli olan mikrovasküler perfüzyon üzerinde melatonin olumlu yönde etkilidir. Çünkü melatonin endotel üzerine destekleyici etki yapar (8). Mikrovasküler perfüzyondaki bozulma organ transplantasyonlarındaki graft yetmezliğinin en önemli nedenidir (9). Bu nedenle over transplantasyonlarında melatonin tercih edilebilir. Ancak oksitetrasiklin de dokudaki kollajeni oksidatif hasara karşı korur. Bu nedenle kollajen içeriği yüksek organ transplantasyonlarında da oksitetrasiklin tercih edilebilir (14).

Melatonin oksijen radikallerinden hidroksil radikalı, singlet oksijen, peroksil radikalı ve süperoksit anyonu üzerine etkilidir. Nükleus DNA'sını, membran lipidlerini ve sitozolik proteinleri oksidatif hasardan korur. Ayrıca antioksidan sisteme ait olan SOD, GSH-Px, glutatyon reduktaz ile glikoz-6-fosfat dehidrogenazı destekler ve nitrik oksit sentetaz üzerine inhibitör etki yapar. Ayrıca melatonin hangi yolla verilirse verilsin kolayca absorbe edilir ve kan-beyin bariyeri, plasenta gibi morfofizyolojik bariyerleri hızla geçer. Nüfuz ettiği organdaki hücreleri oksidatif hasardan korur; ayrıca mitokondri üzerine de koruyucu etkisi vardır. İskemi-reperfüzyon olaylarında, özellikle reperfüzyon esnasında ortaya çıkan nötrofil infiltrasyonunu da azaltır (7-10).

Oksitetrasiklin lökosit aktivitesini bir çok yönden inhibe eder. Bunların arasında kemotaksis, adhezyon, degranulasyon, süperoksit oluşumunun, nötrofil kollajenaz aktivitesinin (MMP-8) ve doku yıkımının inhibisyonu yer alır. Tetrasiklin derivelerinin antiinflamatuvar etkinlikleri sırasıyla oksitetrasiklin/ tetrasiklin/ klortetrasiklin/ doksisisiklin şeklindedir. Spinal kord iskemisinde doksisisiklin etkili olarak bulunmuştur. Orta serebral arter oklüzyonu yapılan vakalarda antiinflamatuvar süreci geciktirerek elektrofizyolojik ve nörolojik anormallikleri anlamlı olarak azaltmıştır (10-15). Bizim çalışmamızda da oksitetrasiklin intraperitoneal transplantasyon grubuna göre etkili bulunmuştur. Ancak over nekrozu ve doku MDA düzeyine melatonin göre daha az etkili bulunmuştur.

Ortaya çıkan oksijen radikalleri ilk önce SOD, daha sonra katalaz ve GSH-Px tarafından temizlenir. Oksijen radikal üretiminde bir artış meydana geldiğinde bu enzim-

ler aşırı tüketilir ve göreceli bir yetmezlik ortaya çıkar. Sonuçta ortamdan uzaklaştırılmayan oksijen radikallerinin özellikle membranlar üzerine hasar oluşturucu etkileri ortaya çıkar ve hücreler nekroza uğrar (22,23).

Çalışmamız sonucunda ratlarda otolog intraperitoneal over transplantasyonunda antioksidan olarak melatonin kullanımı oksitetrasiklin kullanımına göre daha etkili bulundu.

Teşekkür

Hayvan deneylerinde kullandığımız ratların temini için gösterdikleri özveriden dolayı Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Hayvan Deneyleri merkezi yöneticilerine, Ayrıca 24-26 Mayıs 2002 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.B.D.'da yapılan "Uygulamalı Stereoloji Kursu"nu düzenleyen ve katılmamı sağlayan Prof Dr Meral Tekelioğlu, Doç Dr Belgin Can ile Doç Dr Adnan Korkmaz Hocalarıma da şükranlarımı sunarım.

KAYNAKLAR

- Callejo J, Jauregui MT, Valls C, Fernandez ME, Cabre S, Lailla JM. Heterotopic ovarian transplantation without vascular pedicle in syngeneic Lewis rats: six-month control of estradiol and follicle-stimulating hormone concentrations after intraperitoneal and subcutaneous implants. *Fertil Steril* 1999; 72(3):513-7.
- Marmor D. Fertility after antimetabolic treatments. *Bull Cancer* 1994; 81(9):764-9.
- Bidzinski M, Lemieszczuk B, Zielinski J. Evaluation of the hormonal function and features of the ultrasound picture of transposed ovary in cervical cancer patients after surgery and pelvic irradiation. *Eur J Gynaecol Oncol* 1993; 14 (Suppl):77-80.
- Cohen I, Speroff L. Premature ovarian failure: update. *Obstet Gynecol Surv* 1991; 46(3):156-62.
- Gallagher AC, Chambers TJ, Tobias JH. Distinct effects of ovarian transplantation and exogenous 17 β estradiol on cancellous bone of osteopenic ovariectomized rats. *Eur J Endocrinol* 1995; 133: 483-8.
- Kim SS, Battaglia DE, Soules MR. The future of human ovarian cryopreservation and transplantation: fertility and beyond. *Fertil Steril* 2001; 75(6):1049-56.
- Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci* 1997; 60(25):2255-71.
- Bertuglia S, Marchiafava PL, Colantuoni A. Melatonin prevents ischemia reperfusion injury in hamster cheek pouch microcirculation. *Cardiovasc Res* 1996; 31(6):947-52.
- Liu H, Wang L, Liu Y, Song J, Huang J, He S. Experimental study on liver microcirculation disturbance following transplantation and the protective effect of prostaglandin E1 in the rat. *Chin Med J* 1998; 111(12):1079-82.
- Reiter RJ, Tan DX, Qi W, Manchester LC, Karbownik M, Calvo JR. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept* 2000; 9(3-4):160-71.
- Clark WM, Calcagno FA, Gabler WL, Smith JR, Coull BM. Reduction of central nervous system reperfusion injury in rabbits using doxycycline treatment. *Stroke* 1994; 25(7):1411-5.
- Gabler WL, Creamer HR. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J Periodontal Res* 1991, 26(1):52-8.
- Gabler WL, Smith J, Tsukuda N. Comparison of doxycycline and a chemically modified tetracycline inhibition of leukocyte functions. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1992; 78(2):151-60.
- Lauhio A, Salo T, Ding Y, Kontinen YT, Nordstrom D, Tschesche H, Lahdevirta J, Golub LM, Sorsa T. In vivo inhibition of human neutrophil collagenase (MMP-8) activity during long-term combination therapy of doxycycline and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) in acute reactive arthritis. *Clin Exp Immunol* 1994; 98(1):21-8.
- Reasoner DK, Hindman BJ, Dexter F, Subieta A, Cutkomp J, Smith T. Doxycycline reduces early neurologic impairment after cerebral arterial air embolism in the rabbit. *Anesthesiology* 1997; 87(3):569-76.
- Principles of laboratory animal care. NIH 1985, publication no. 86-23.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2):351-8.
- Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90(1):37-43.
- Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984; 105:328-31.
- Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of hematology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1999: 1642-1710.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1):158-69.
- Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78(6):651-5.
- Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81(5):637-47.
- Turnage RH, Bagnasco J, Berger J, Guice KS, Oldham KT, Hinshaw DB. Hepatocellular oxidant stress following intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 1991; 51(6):467-71.
- Barros FV, Oliveira RM, Massote F, Megale R, Geber S. Intraperitoneal autologous ovarian transplantation. *Fertil Steril* 2001; 76: 218.
- von Eye Corleta H, Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril* 1998; 70(1):16-9.
- Agar E, Korkmaz A, Bosnak M, Demir S, Ayyıldız M, Marangoz C. Do cochlear nuclei contribute to auditory lateralization? A stereological evaluation of neuron numbers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108(7 Pt 1):661-5.
- Overgaard Larsen J, Tandrup T, Braendgaard H. The volume of Purkinje cells decreases in the cerebellum of acrylamide-intoxicated rats, but no cells are lost. *Acta Neuropathol (Berl)* 1994; 88(4):307-12.
- Richard MJ, Arnaud J, Jurkovitz C, Hachache T, Meftahi H, Laporte F, Foret M, Favier A, Cordonnier D. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991; 57(1):10-5.
- Tsai LY, Lee KT, Tsai SM, Lee SC, Yu HS. Changes of lipid peroxide levels in blood and liver tissue of patients with obstructive jaundice. *Clin Chim Acta* 1993; 215(1):41-50.

Geliş Tarihi: 14.08.2002

Yazışma Adresi: Dr.Ekrem SAPMAZ

Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD
ELAZIĞ
ekremlangaza@hotmail.com