

HSG İŞLEMİNİN OVER YÜZEY EPİTELİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ: DENEYSSEL ÇALIŞMA

Ekrem SAPMAZ*, Nusret AKPOLAT**, Aygen ÇELİK*, Tansel SAPMAZ***, Şehmuz PALA*, Fethi HANAY*

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anadolı, Elazığ

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anadolı, Elazığ

*** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anadolı, Elazığ

ÖZET

Amaç: HSG işlemi esnasında kullanılan lipiodol, tetrasiklin ve radyasyonun rat over yüzey epitelı üzerine etkisinin incelenmesi.

Materyal ve Metod: 40 adet erişkin, düzenli sıklusa sahip Wistar albino cinsi dişi rat, estrus fazında, rastgele, dört gruba ayrıldı.

G1: (n=10): Batın açılıp kapatılan ve X ray uygulanmayan grup.

G2: (n=10): Batın açılıp kapatılan ve X ray uygulanan grup.

G3: (n=10): Batın açılıp her bir uterin horna 0.1 ml Lipiodol uygulanan grup.

G4: (n=10): Batın açılıp 10mg/kg/ip. Tetrasiklin uygulanıp, 15 dakika sonra her bir uterin horna 0.1 ml Lipiodol uygulanan grup.

Batınları kapatılan G2, G3 ve G4'teki ratlara 2 şer dakika ara ile 3 kez tüm vücut radyasyonu uygulandı (toplam doz=15-20 miliRad). Tüm ratların 3 saat sonra batınları tekrar açıldı, sol ooferektomi yapıldı. Sol over örnekleri formaldehitte tespit edildi.

Hematoksilen Eozin ile boyanan preparatlarda Tabakalanma, tafting, kromatin düzensizliği, nukleus kontür düzensizliği, nukleus boyutunda artış, Nukleus/Stoplazma oranında artış, pleomorfizm, nukleoli varlığı, mitoz ve hiperkromazi incelendi. Her bir parametre için ordinal skala (yok=0 puan, az var=1 puan, var=2 puan, çok var=3 puan) oluşturuldu ve hepsi toplanarak toplam over yüzey epitel değişikliği puanı hesaplandı.

Verilerin istatistiksel analizi için One Way Anova kullanıldı. Post Hoc test olarak Tukey HSD test kullanıldı ve $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: G2'de diğer gruplara göre nukleoli varlığı ve mitoz değerleri benzer ($p>0.05$, Tukey HSD test), diğer tüm parametreler (tabakalanma, tafting, kromatin düzensizliği, nukleus kontür düzensizliği, nukleus boyutunda artış, Nukleus/Stoplazma oranında artış, pleomorfizm ve hiperkromazi) anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$, Tukey HSD test).

G2'deki zararlı etki lipiodol kullanımı ile azalmakta, tetrasiklin eklenmesi bu zararlı etkiyi dahada azaltmaktadır.

Sonuç: HSG işlemi esnasında lipiodol ve tetrasiklin kullanımı radyasyonun over yüzey epitelı üzerine olan kanserojen etkilerini önlemektedir.

Anahtar kelimeler: lipiodol, over yüzey epitelı, radyasyon, rat, tetrasiklin

SUMMARY

Examination of the Effect of HSG Procedure on Ovarian Surface Epithelium: Experimental Study

Objective: To examine the effect of lipiodol, tetracycline and radiation used during HSG procedure on ovarian surface epithelium in rats.

Material and method: Forty Wistar albino species, adult, female rats that had regular cycles were randomly allocated to 4 groups in the estrus phase.

G1: (n=10): The group in which the abdomen was opened and closed without X ray application.

G2: (n=10): The group in which the abdomen was opened and closed, and X ray was applied.

G3: (n=10): The group in which the abdomen was opened and 0,1 ml. lipiodol was applied to each uterine horn.

Yazışma adresi: Ekrem Sapmaz, PK:60, Elazığ

e-posta: ekremlangaza@hotmail.com

İkinci e-posta: aygencelik@yahoo.com

Alındığı tarihi: 13.12.06, revizyon tarihi: 29.3.06, kabul tarihi: 6.3.06

G4: (n=10): The group in which the abdomen was opened, and 10 mg/kg/ip tetracycline application was followed, after 15 minutes, by 0,1 ml lipiodol application to each uterine horn.

After their abdomens were closed, the rats in G2, G3 and G4 were exposed to 3 times whole body radiation with 2-minute intervals (total dose = 15-20 miliRad). The abdomens of all rats were re-opened after 3 hours and left oophorectomy was performed. Samples of left ovaries were fixated in formaldehyde. After the preparations were stained with hematoxylin eosin, stratification, tafting, chromatin irregularity, nuclear contour irregularity, increase in nucleus size, increase in nucleus/cytoplasm rate, pleomorphism, presence of nucleoli, mitosis and hyperchromasia were examined. An ordinal scale was formed for each parameter (none=0 points, slightly present=1 point, present= 2 points, markedly present=3 points) and total points of change in ovarian surface epithelium was calculated by adding all.

One Way Anova was used in the statistical analysis of data. Tukey HSD test was employed as Post Hoc test and $p<0,05$ was considered significant.

Results: *Presence of nucleoli and mitosis values were found similar ($p>0,05$, Tukey HSD test), but all other parameters (stratification, tafting, chromatin irregularity, nuclear contour irregularity, increase in nucleus size, increase in nucleus/cytoplasm rate, pleomorphism, and hyperchromasia) were significantly higher in G2, when compared to other groups ($p<0,05$, Tukey, HSD test). The detrimental effect seen in G2 diminishes with lipiodol use and is further reduced by the addition of tetracycline.*

Conclusion: *Use of lipiodol and tetracycline prevents the cancerous effects of radiation on ovarian surface epithelium.*

Key words: *lipiodol, ovarian surface epithelium, radiation, rat, tetracycline*

GİRİŞ

Günümüzde insanlar, bir çok şekilde radyasyona maruz kalmaktadır. Örneğin, elektronik aletler, uçak yolculuğu, evlerde kullanılan radon cihazları veya nükleer reaktörlerden sızıntı sonucu radyasyona maruz kalınabilir. Ayrıca kanser hastalarının tedavisi veya diagnostik işlemler (histerosalpingografi, intravenöz pyelografi vb) esnasında da radyasyona maruz kalınmaktadır⁽¹⁾.

İyonize radyasyon enerji partikülleri içerir ve canlı doku veya hücrelere penetre olur. İyonize radyasyonun absorbe edilen enerjisi, makromoleküllerdeki (nükleik asit), membran lipidleri ve proteinlerdeki kimyasal bağları kırar^(2,3). Ayrıca radyasyon dokuda ve hücrede reaktif oksijen moleküllerinin (ROS) sentezini başlatır. ROS'leri ise DNA ve membran lipidlerinde hasara neden olur. Bu olaya lipid peroksidasyonu denir⁽⁴⁾. Lipid peroksidasyonu, hücre kültürlerinde kollajen üretimini uyarır. Dokuda fibrozis ortaya çıkar^(5,6). Hücreler ROS'lerine karşı antioksidan enzim (Süperoksit dismutaz, Glutatyon peroksidaz) ve antioksidan etkiye sahip hormonla (melatonin) veya ilaçlarla (PGE-1, Vitamin E, Vitamin C, Tetrasiklin) karşı koymaya çalışır^(7,8).

HSG çekme işlemi, genellikle floroskopi eşliğinde yapılır ve bu esnada hasta radyasyona maruz kalır. HSG'nin radyasyon etkisinden kaçınmak için MRI kullanılmıştır^(9,10). Ancak her yerde MRI aleti olmadığı,

maliyeti ve yorumlanmasının zorlukları düşünülürse, HSG'nin infertilite hastalarında vazgeçilmez bir tetkik olduğu anlaşılacaktır.

Tetrasiklin geniş spektrumlu bir antibiyotik olup, HSG işleminden önce ve sonrasında enfeksiyon gelişimini önlemek için kullanılır⁽¹¹⁾.

Oksitetrasiklin tetrasiklin grubu bir antibiyotiktir. Lökosit aktivitesini çeşitli basamaklarda (kemotaksis, adezyon, degranulasyon, süperoksit üretimi, nötrofil kollajenaz aktivitesini) inhibe eder^(12,13).

Amaç: HSG işlemi esnasında kullanılan lipiodol, tetrasiklin ve radyasyonun rat over yüzey epiteli üzerine etkisinin incelenmesi.

MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel hayvanları laboratuvarında yapıldı. 40 adet düzenli siklusa sahip, 200-230 g ağırlığında, 5 aylık, erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat 12 saat ışık (08-22), 12 saat karanlık fotoperiyodunda ve 21-23 C0 sabit sıcaklıktaki odada, standart pellet yemi ve şehir suyu ile beslendi. Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesinden izin alındı. Deneiden 18 saat önce oral beslenme kesildi, sadece su içmelerine izin verildi. Vajinal sitoloji takibinde estrus fazında tespit edilen ratlara anestezi sağlamak amacıyla 400 mg/kg/IP dozunda kloral hidrat uygulandı. Ratlar sırt

üstü operasyon masasına yatırıldı. Batın orta hat insizyonla açıldı. Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı.

G1: (n=10): Batın açılıp kapatılan ve X ray uygulanmayan grup.

G2: (n=10): Batın açılıp kapatılan ve X ray uygulanan grup.

G3: (n=10): Batın açılıp her bir uterin horna 0.1 ml LipiodolR amp.(Guerbet lab, Aulnay-sous-bois, France) uygulanan grup.

G4: (n=10): Batın açılıp 10mg/kg/ip. Oksitetrasiklin (Primamycin/LAR, Pfizer, İstanbul, Türkiye) uygulanıp, 15 dakika sonra her bir uterin horna 0.1 ml Lipiodol uygulanan grup.

Batınları kapatılan G2, G3 ve G4'teki ratlara 2 şer dakika ara ile 3 kez tüm vücut radyasyonu uygulandı (Toplam doz=15-20 miliRad, Villa-Genius HF-80. Çift masa, çift tüp röntgen cihazı. 1994, İtalya).

Ratlar çalışma süresince kan basıncı, kalp atımı ve ateş ölçümü için monitörize edildi. Tüm ratların 3 saat sonra batınları tekrar açıldı, sol over çıkarıldı. Over dokusu histolojik inceleme için %10'luk formaldehitte fikse edildi, parafin bloklara gömüldü, 4 mikrometre kalınlığında kesit alındı. Kesitler hematoksilin eozin ile boyandı. Işık mikroskopisi altında incelenen preparatlarda Over yüzey epitelinde Nieto JJ ve ark (14) önerdiği şekilde 9 parametreye ek olarak hiperkromazi'yi ekledik.

Sonuçta,

1. Tabakalanma,
2. Tafting,
3. Kromatin düzensizliği,
4. Nukleus kontür düzensizliği,
5. Nukleus boyutunda artış,
6. Nukleus/Stoplazma oranında artış,
7. Pleomorfizm,
8. Nukleoli varlığı,
9. Mitoz ve kendi eklediğimiz
10. Hiperkromazi varlığı incelendi.

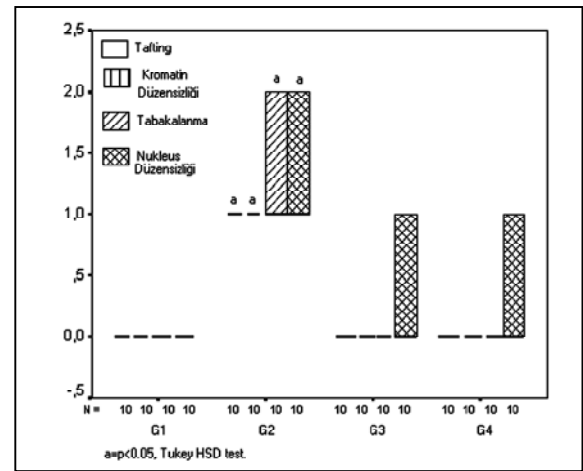
Her bir parametre için Nieto JJ ve ark. (yok=0puan, var=1 puan, çok var=2 puan)'nın oluşturduğu skalayı daha ayrıntılı bir ordinal skalaya (yok=0 puan, az var=1 puan, var=2, çok var=3 puan) dönüştürdük. Bir preparattaki tüm bileşenlerin değerleri ve toplanarak toplam over yüzey epitel değişikliği puanı hesaplandı. İstatistiksel analiz için SPSS 9.0 programı kullanıldı. Sürekli ve ordinal verilerin istatistiksel analizi için One Way Anova kullanıldı. Post Hoc Tukey HSD kullanıldı ve p<0.05 anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tüm ratlarda deney başarılı.

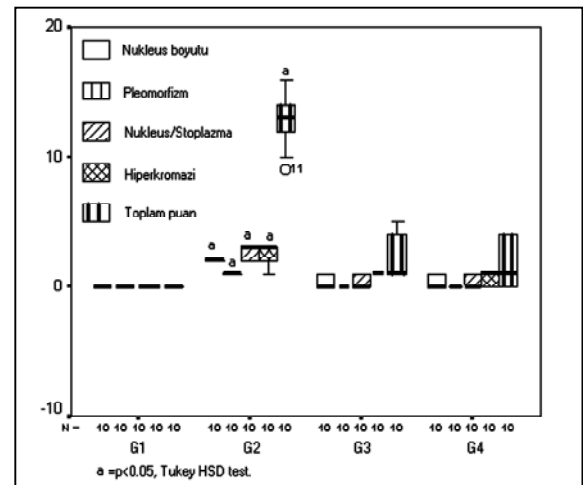
G2'de diğer gruplara göre nukleoli varlığı ve mitoz değerleri benzer (p>0.05, Tukey HSD test), diğer tüm parametreler anlamlı olarak artmış bulundu (p<0.05, Tukey HSD test).

G2'deki zararlı etki lipiodol kullanımı ile azalmakta, tetrasiklin eklenmesi bu zararlı etkiyi daha da azaltmaktadır. G2'deki artmış tabakalanma, tafting, kromatin düzensizliği, ve nukleus kontür düzensizliği Şekil 1'de saplı kutu grafiği şeklinde gösterildi.



Şekil 1: G2'de artmış tabakalanma, Tafting, Kromatin düzensizliği, nukleus kontür düzensizliğine ait saplı kutu grafiği

G2'deki artmış nukleus boyutu, Nukleus/Stoplazma oranı, pleomorfizm, Hiperkromazi ve toplam puana ait değerler Şekil 2'de saplı kutu grafiği şeklinde gösterildi.



Şekil 2: G2'deki artmış nukleus boyutu, pleomorfizm, nukleus/ stoplazma oranı, hiperkromazi ve toplam puana ait değerler saplı kutu grafiği şeklinde gösterildi.

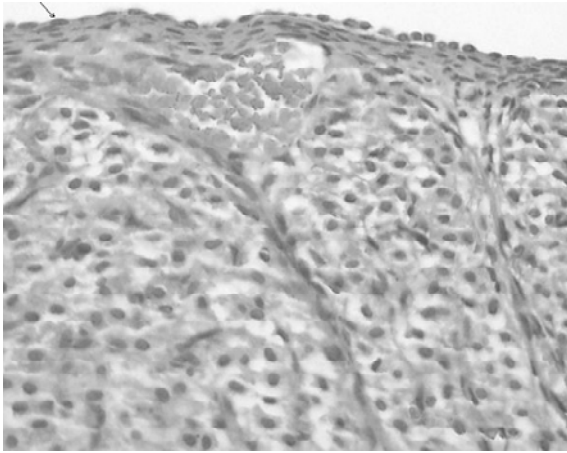
Gruplara ait incelenen Over yüzey epitelindeki değişikliklere ait tüm parametreler Tablo I'de gösterildi. Gruplara ait incelenen Over yüzey epitelindeki değişikliklere ait histo-patolojik preparatlar Resim 3a, 3b, 3c ve 3d'de gösterildi.

Tablo I: Tüm grupların Over yüzey epitelindeki değişikliklere ait incelenen parametreleri. Değerler ortalama±SD olarak gösterildi.

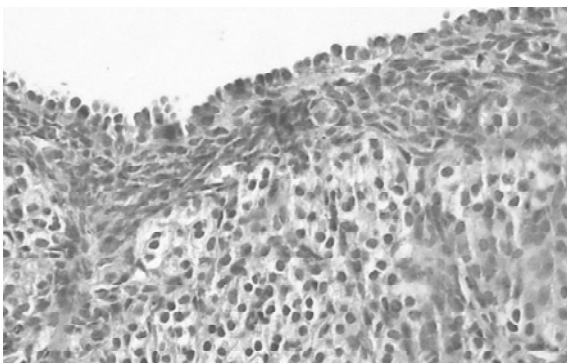
Parametre	G1	G2	G3	G4	P
Tabakalanma	0±0	1,4±0,5	0±0	0±0	*
Tafting	0,001±0,3	1±0,4	0±0	0±0	*
Kromatin düzensizliği	0±0	1±0	0±0	0±0	*
Nukleus kontür düzensizliği	0±0	1,4±0,5	0,4±0,5	0,3±0,3	*
Nukleus boyutunda artış	0±0	1,9±0,3	0,4±0,5	0,3±0,3	*
Nukleus/stoplazma oranında artış	0±0	2,6±0,5	0,4±0,5	0,3±0,3	*
Nukleoli varlığı	0±0	0±0	0±0	0±0	NS
Mitoz	0±0	0±0	0±0	NS	
Hiperkromazi	0±0	2,4±0,8	1±0	0,7±0,5	*
Pleomorfizm	0±0	1±0	0±0	0±0	*
Toplam	0,001±0,3	12,7±2	2,3±1,7	1,6±1,7	*

NS= $p>0.05$, One Way Anova.

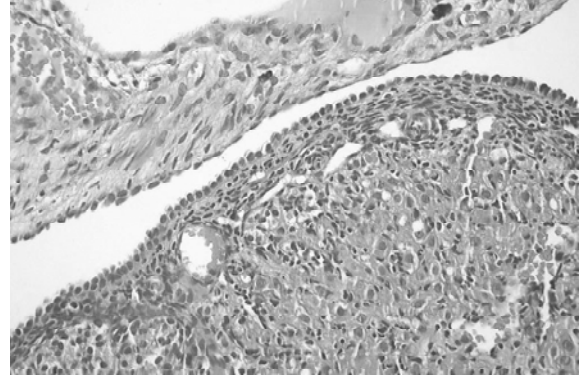
*= $p<0.05$, Tukey HSD test.



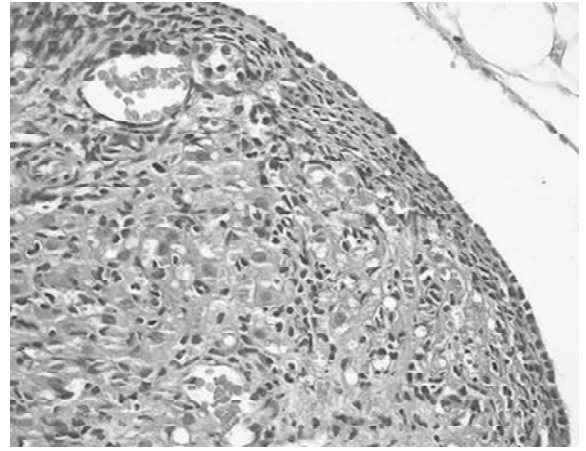
Şekil 3a: Kontrol grubuna ait normal over yüzey epiteli. Işık mikroskobu. HEX400.



Şekil 3b: Radyasyon grubuna ait ve displazik değişikliklerin görüldüğü over yüzey epiteli. Işık mikroskobu. HEX400.



Şekil 3c: Lipiodol grubuna ait ve displazik değişikliklerin gerilediği over yüzey epiteli. Işık mikroskobu. HEX400.



Şekil 3d: Lipiodol ve tetrasiklin grubuna ait ve displazik değişikliklerin bariz gerilediği over yüzey epiteli. Işık mikroskobu. HEX400.

TARTIŞMA

Ratlar da HSG işlemi için kullanılan radyasyon, tabakalanma, tafting, kromatin düzensizliği, nukleus kontür düzensizliği, nukleus boyutunda artış, Nukleus/Stoplazma oranında artış, pleomorfizm ve hiperkromaziye anlamlı olarak artırmaktadır. Lipiodolün tek başına veya tetrasiklin ile birlikte kullanımı radyasyonun zararlı etkilerini önlemektedir. Pub-med'den yaptığımız taramaya göre çalışmamız bu konuda ilk olup (lipiodol, rat, over yüzey epiteli) orjinaldir. Lee CJ ve ark.⁽¹⁵⁾ yaptığı çalışmada, farelere gama radyasyon uygulayıp, primordial ve primer foliküllerdeki hasarı incelemişler, en etkili hasarın 3. saatte çıktığını, 6. ve 12. saatte bu etkinin azaldığını tespit etmişlerdir. Bizde bu nedenle 3. saatte örneklerimizi topladık.

Çalışmamızda, HSG çekilen ratlarda nukleoli varlığı ve mitoz parametreleri hariç diğer tüm parametrelerde (tabakalanma, tafting, kromatin düzensizliği, nukleus

kontür düzensizliği, nukleus boyutunda artış, Nukleus/Stoplazma oranında artış, pleomorfizm ve hiperkromazi artış tespit edildi. Radyasyon, over yüzey epitelinde kanserojen değişiklikleri başlatmakta olup, bulgularımız radyasyonun normal hücreler üzerine olan etkisi ile uyumludur⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Lipiodol kullandığımız ratlarda anlamlı olarak olumsuz over yüzey epitel değişiklikleri azaldı.

Lipiodol (Ethiodol =Ethiodized poppy seed oil) içindeki poppy seed oil, çeşitli yağ moleküllerinden meydana gelir. Büyük oranda linoleik asid (C₁₈H₃₂O₂) ve çoklu doymamış yağ asitlerinden omega serisini içerir⁽¹⁹⁾. Linoleik asit güçlü bir antioksidan olup, vücutta bir çok olumlu olayı gerçekleştirir. Antikanserojeniktir. İmmün fonksiyonları modüle eder, ateroskleroza, diabeti ve obeziteyi önler⁽¹⁾.

Lipiodol kullandığımız gruplarda daha az over yüzey epitel değişikliğinin görülmesinin nedeni linoleik asidin yararlı etkilerine bağlı olabilir. Bulgularımız uyumludur. Lipiodol kemoembolizasyon vakalarında da kullanılır⁽²¹⁻²⁴⁾. Karaciğer hücreleri tarafından yakalanan lipiodol uzun bir süre karaciğer hücrelerinde tutulur. İnsan hepatoma hücrelerinde antiproliferatif ve sitotoksik etki yapar. Sitotoksik etkisi özellikle makrofajlar ve kanser hücrelerinde ortaya çıkarken, normal insan karaciğer hücrelerinde daha az ortaya çıkar^(21,22). Lipiodol over tarafından tutuluyor olabilir ve bu tutulan lipiodol özellikle kanserojen yönde gelişim gösterecek over yüzey epiteline sitotoksik etki yapmış olabilir. Bu nedenle lipiodol grubunda kanserojen değişiklikler daha az ortaya çıkmış olabilir. Ayrıca overdeki oksijen radikalleri normalde nötrofil ve makrofajlar tarafından üretilir, C.Luteum ve foliküllerde ikamet eder⁽²⁵⁾. Lipiodol makrofajlar üzerine sitotoksik etki yaparak ROS üretimini inhibe etmekte, bu da lipiodol grubunda kanserojen değişikliklerin daha az ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Kemoembolizasyon vakalarında kullanılan Cis-Platin gibi antitümoral ajanların, karaciğer hücrelerindeki, intrasellüler miktarları, lipiodol tarafından artırılır ve kemoembolizasyonun başarı şansı artar^(23,24). Bizim çalışmamızda Lipiodol, kullandığımız oksitetrasiklinin intraovaryan konsantrasyonunu artırıp, intraovaryan konsantrasyonu artan oksitetrasiklin, overlerdeki nötrofillerden ROS üretimini azaltıyor olabilir. Çünkü, oksitetrasiklin kullandığımız grupta yüzey epitel değişiklikleri anlamlı olmasa da lipiodol grubuna nazaran daha az bulundu. Bulgularımız uyumludur.

Radyasyon etkisine bağlı olarak büyük damarlarda (Koroner, pulmoner, torasik aorta, brachial, renal ve ilio-femoral) radyasyon arteriti (arter içinde ülsere plaklar) ve o arter tarafından beslenen organda hipoksi, iskemi ortaya çıkar⁽²⁶⁻²⁸⁾. G2'deki ratlarda ilio-femoral veya uterin arterlerde G3 ve G4'e göre daha şiddetli radyasyon arteriti gelişmiş olabilir. Aynı şiddete radyasyon arteriti gelişmiş olsa dahi, lipiodolün ve oksitetrasiklinin (antioksidan, antimakrofaj, antinötrofilik) yararlı etkilerinden G2 mahrum kalmakta, bu nedenle G2'de daha şiddetli hipoksik etki ve ROS'lerinde daha fazla artma ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle G2'de over yüzey epitel değişiklikleri oldukça kötüleşmiştir. Bulgularımız uyumludur.

Lipiodol antioksidan, makrofaj üzerine sitotoksik etki yapan bir ilaçtır. Oksitetrasiklin ise nötrofil fonksiyonlarını baskılar. HSG işleminde kullanılan lipiodol, kanser hücrelerine ve makrofaj üzerine sitotoksik ve antioksidan özellikleri ile overdeki hasarı azaltmakta, intraovaryan konsantrasyonunu artırdığı oksitetrasiklin ise nötrofilleri de baskılayarak bu olumlu etkiyi daha da artırmaktadır. Lipiodol ve oksitetrasiklin sinerjistik etki yapmaktadır.

Sonuç: HSG işlemi esnasında lipiodol ve terasiklin kullanımı radyasyonun over yüzey epitelini üzerine olan kanserojen etkilerini önlemektedir.

KAYNAKLAR

1. Jagetia GC, Reddy TK. Modulation of radiation-induced alteration in the antioxidant status of mice by naringin. Life Sci. 2005 Jul 1; 77(7): 780- 94. Epub 2005
2. Lett JT. Damage to cellular DNA from particulate radiations, the efficacy of its processing and the radiosensitivity of mammalian cells. Emphasis on DNA double strand breaks and chromatin breaks. Radiat Environ Biophys. 1992; 31(4): 257- 77.
3. Dainiak N, Tan BJ. Utility of biological membranes as indicators for radiation exposure: alterations in membrane structure and function over time. Stem Cells. 1995; 1: 142- 52.
4. Taysi S, Polat F, Gul M, Sari RA, Bakan E. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int. 2002; 21(5): 200- 4.
5. Bedossa P, Houglum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen alpha 1(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a link to tissue fibrosis? Hepatology. 1994;19(5): 1262- 71.

6. Lee KS, Buck M, Hougum K, Chojkier M. Activation of hepatic stellate cells by TGF alpha and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myc expression. *J Clin Invest.* 1995 Nov; 96(5): 2461-
7. Sapmaz E, Ayar A, Celik H, Sapmaz T, Kilic N, Yasar MA. Effects of melatonin and oxytetracycline in autologous intraperitoneal ovary transplantation in rats. *Neuro Endocrinol Lett.* 2003; 24(5): 350- 4.
8. Sapmaz E, İlhan N, Altungül A, Akpolat N. Ratlarda otolog subkutan over transplantasyonunda antioksidan olarak Vitamin C ve Vitamin E kullanımının etkisinin incelenmesi. *Türk Fertilité Dergisi*, 2002; 10, 99- 106.
9. Imaoka I, Wada A, Matsuo M, Yoshida M, Kitagaki H, Sugimura K. MR imaging of disorders associated with female infertility: use in diagnosis, treatment, and management. *Radiographics.* 2003; 23(6): 1401- 21.
10. Unterweger M, De Geyter C, Frohlich JM, Bongartz G, Wiesner W. Three-dimensional dynamic MR-hysterosalpingography; a new, low invasive, radiation-free and less painful radiological approach to female infertility. *Hum Reprod.* 2002 ; 17(12): 3138-41.
11. Chopra, I., and M. Roberts. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2001; 65: 232-60.
12. Gabler WL, Creamer HR. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J Periodontal Res.* 1991; 26(1): 52- 8.
13. 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.
14. Nieto JJ, Crow J, Sundaresan M, Constantinovici N, Perrett CW, MacLean AB, Hardiman PJ. Ovarian epithelial dysplasia in relation to ovulation induction and nulliparity. *Gynecol Oncol.* 2001; 82(2): 344- 9.
15. Lee CJ, Park HH, Do BR, Yoon Y, Kim JK. Natural and radiation-induced degeneration of primordial and primary follicles in mouse ovary. *Anim Reprod Sci.* 2000;59(1-2): 109- 17.
16. Preston RJ. Radiation biology: concepts for radiation protection. *Health Phys.* 2005; 88(6): 545- 56.
17. Prise KM, Folkard M, Michael BD. A review of the bystander effect and its implications for low-dose exposure. *Radiat Prot Dosimetry.* 2003; 104(4): 347- 55.
18. Feinendegen LE. Relative implications of protective responses versus damage induction at low dose and low-dose-rate exposures, using the microdose approach. *Radiat Prot Dosimetry.* 2003; 104(4): 337- 46.
19. Abe S, Otsuki M. Styrene maleic acid neocarzinostatin treatment for hepatocellular carcinoma. *Curr Med Chem Anti-Canc Agents.* 2002; 2(6): 715- 26.
20. Brown JM, McIntosh MK. Conjugated linoleic acid in humans: regulation of adiposity and insulin sensitivity. *J Nutr.* 2003; 133(10): 3041- 6.
21. Durand-Fontanier S, Simon A, Duroux JL, Descottes B, Delage C. Lipiodol ultra-fluid: an antitumor agent-in vitro study. *Anticancer Res.* 1999; 19(5B): 4357- 61.
22. Chou FI, Lui WY, Chi CW, Chan WK. I-131-lipiodol cytotoxicity in hepatoma cells. *Proc Natl Sci Counc Repub China B.* 1994; 18(4): 154- 60.
23. Kishimoto S, Miyazawa K, Fukushima S, Takeuchi Y. In vitro antitumor activity, intracellular accumulation, and DNA adduct formation of cis-[[((1R,2R)-1,2-cyclohexanediamine-N,N') bis (myristato)] platinum (II) suspended in lipiodol. *Jpn J Cancer Res.* 2000; 91(1): 99- 104.
24. Ikeda M, Maeda S, Shibata J, Muta R, Ashihara H, Tanaka M, Fujiyama S, Tomita K. Transcatheter arterial chemotherapy with and without embolization in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2004; 66(1): 24- 31.
25. Sugino N. Reactive oxygen species in ovarian physiology. *Reprod. Med. Biol.* 2005; 4: 31- 44.
26. Rubin DI, Schomberg PJ, Shepherd RF, Panneton JM. Arteritis and brachial plexus neuropathy as delayed complications of radiation therapy. *Mayo Clin Proc.* 2001; 76(8): 849- 52.
27. Kieran SM, Cahill RA, Sheehan S, Barry MC. Radiation-induced femoral arteritis. *Ir Med J.* 2004; 97(6): 179- 80.
28. Bigot JM, Mathieu D, Reizine D. Radiation arteriopathies. *Ann Med Interne (Paris).* 1983; 134(5): 411-