

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

**DOKSORUBİSİN VE SİKLOFOSFAMİD
UYGULANMASININ SIÇAN OVER DOKULARINDA
MEYDANA GETİRDİĞİ DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE VİTAMİN
D' NİN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Şeyda YAVUZKIR

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Alpaslan AKYOL

ELAZIĞ
2014

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Mehmet Şimşek

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Alpaslan AKYOL

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği olan Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK'e, uzmanlık tezimin hazırlanmasında bana baştan sona titizlikle yol gösteren ve her aşamada değerli yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Alpaslan AKYOL'a, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, eğitimim süresince teorik ve pratik açıdan yardımlarını gördüğüm hocalarım Prof. Dr. Ekrem SAPMAZ, Yrd. Doç. Dr. Z. Sema ÖZKAN, Yrd. Doç. Dr. Burçin KAVAK ve Yrd. Doç. Dr. Remzi ATILGAN'a teşekkür ederim. Ayrıca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm araştırma görevlisi, hemşire ve personel arkadaşlarıma, tezimin hazırlanma aşamasında büyük emekleri olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalının tüm çalışanlarına, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan beni maddi ve manevi olarak hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kanser hastalığının, sık görülmesi ve yüksek oranda ölümlere yol açması, artan çevresel kanser yapıcı etkenler nedeni ile günümüzün önemli sağlık sorunlarından birisidir. Hastaların çoğu kadın olup Siklofosfamid ve Doksorubisin gibi kemoterapötik ajanlar kadınlardaki kanserlerde sık kullanılmaktadır. Bu kemoterapötik ajanlar germ hücrelerine belirgin toksik etkisi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Vitamin D hem anti-proliferatif etkiyle hem de anjiyogenezi inhibe ederek hücrelerin apoptozisi-ni engeller. Doksorubisin ve Siklofosfamid'in over dokusunda oluşturduğu hasar üzerine vitamin D'nin etkisi belli değildir. Bu çalışmada Doksorubisin ve Siklofosfamid uygulanan Sıçan Over dokusunda ve fonksiyonlarında meydana getirdiği değişiklikler üzerine vitamin D'nin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya otuz altı adet dişi rat alındı. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde rastgele, 6 gruba; Kontrol grubu, Doksorubisin grubu, Doksorubisin + Vitamin D grubu, Siklofosfamid grubu, Siklofosfamid + Vitamin D grubu, Vitamin D grubu ayrıldı. Deney sonunda tüm gruplardaki Ratlar anestezi altında dekapite edildi. Over dokuları hızla çıkarılıp histopatolojik kesitler alınıp over rezervi incelendi.

Kontrol grubu ve Vitamin D grubunda over rezervi iyi bulunurken diğer gruplarda over rezervinde azalma izlendi. En fazla azalmada Siklofosfamid grubunda izlendi.

Sonuç olarak, Biz çalışmamızda Vitamin D ek dozunun uygulamasının, siklofosfamid ve doksorubisin over dokusu üzerindeki sitotoksik etkisini önleyemediğini gördük.

Anahtar Kelimeler: Rat, Siklofosfamid, Doksorubisin, Vitamin D

ABSTRACT

Due to the incidence and high death rate, cancer is one of the important health problems together with environmental carcinogenic factors today. Cancer is the most frequently seen in females. Chemotherapeutic agents such as cyclophosphamide and doxorubicin were administered for the cancers seen in females. Previous studies indicated that these chemotherapeutic agents had an evident effect in germ cells. Vitamin D prevents apoptosis of cells by both inhibiting angiogenesis and proliferative effect. The effect of vitamin D on the damage of ovarium tissue by Cyclophosphamide and doxorubicin is not known yet.

In this study, it was aimed to investigate the effects of vitamin D on the changes in the functions and tissue of rat ovarium tissue of cyclophosphamide and doxorubicin administration.

36 female rats were used in the study. The rats were divided into six groups including 6 rats each: control group, doxorubicin group, doxorubicin plus vitamin D group, cyclophosphamide group, cyclophosphamide plus vitamin D group and vitamin D group. All rats were decapitated under anesthesia after the experiments. Ovarium tissues were immediately extracted and histopathologic sections were prepared and ovarium reserves were examined.

Whereas ovarium reserve was found good in control and vitamin D groups, decrease was observed in the ovarium reserves of the other groups. The max decrease was seen in cyclophosphamide group.

As a result it was seen that substantial dose of vitamin D had no preventive effect on cytotoxic effect of cyclophosphamide and doxorubicin.

Key Words: Rat, Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vitamin D

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

Biçimlendirdi: İngilizce (ABD)

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLOLİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Overler	1
1.1.2. Germ Hücrelerinin Kökeni ve Farklılaşması	2
1.1.3. Doğumdan Puberteye Kadar Over	3
1.1.4. Erişkin Overinde Folliküler Gelişim ve Steroidogenez	4
1.1.4. Primordial Follikül	4
1.1.5. Preantral Dönem	5
1.1.5.1. Preovulatuvar(Antral) Follikül	6
1.1.5.2. Ovulasyon	8
1.1.6. Korpus Luteum	98
1.1.7. Over Rezervi	109
1.1.8. Bazal Serum FSH	1140
1.1.8.1. Bazal FSH/LH oranı	1244
1.1.8.2. Bazal serum Estrodiol	1244
1.1.8.3. Bazal serum inhibin B	1244
1.1.8.4. Anti Mülleryan Hormon	1244
1.1.8.5. Clomiphene Citrate Challenge Test	1342
1.1.8.6. Gonadotropin releasing hormon -Agonist Stimülasyon Testi	1342
1.1.8.7. Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi	1443
1.1.8.8. Over Volümü ve Antral Follikül Sayımı	1443
1.1.8.9. Over biopsisi	1443
1.1.8.10. Fertilite Korunması Uygulamalarının Endikasyonları	1544

1.1.8.11. Kemoterapi Ve Radyoterapinin Gonadal Fonksiyonlar Üzerine Etkisi	<u>16</u> 15
1.1.8.12. Adriamisin	<u>18</u> 17
1.1.8.13. Siklofosfamid	<u>20</u> 19
1.2. Medikal Yöntemler	<u>22</u> 21
1.3. Cerrahi Yöntemler	<u>22</u> 21
2. GEREÇ VE YÖNTEM	<u>28</u>27
2.1. İstatistiksel değerlendirme:	<u>29</u> 28
3. BULGULAR	<u>30</u>29
3.1. Histolojik Bulgular	<u>30</u> 29
4. TARTIŞMA	<u>33</u>32
5. KAYNAKLAR	<u>37</u>36
6. ÖZGEÇMİŞ	<u>46</u>45

TABLOLİSTESİ

Tablo 1. Vitamin D'nin Kemik Dışı Etkileri

26

Tablo 2. Yaş ve ağırlıkların gruplar arasında dağılımı

30²⁹

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Dişi germ hücresinin mayoz bölünme evreleri.	3
Şekil 2.	Başlangıçtan ovulasyona kadar follikülogenezis'in aşamaları.	4
Şekil 3.	Evrelerine göre follikül içyapısı	8 7
Şekil 4.	Yaşla azalan follikül havuzu	11 40
Şekil 5.	Adriamisinin kimyasal yapısı.	20 49
Şekil 6.	Siklofosfamid yapısı ve metabolizması	21 20
Şekil 7.	Vitamin D fonksiyonları	26 25
Şekil 8.	Rat overlerinin çıkarılması.	29 28
Şekil 9.	Normal over dokuları	30 29
Şekil 10.	Vit D Normal over dokuları	31 29
Şekil 11.	Doksorubisin grubu	31 30
Şekil 12.	Doxorubicin + Vit D grubu	31 30
Şekil 13.	Siklofosfamid grubu	32 34
Şekil 14.	Siklofosfamid + vit D grubunda	32 34

KISALTMALAR LİSTESİ

AFS	: Antral follikül sayısı
AMH	: Anti-mülleryan hormon
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
E₂	: Östradiol
EFORT	: Ekzojen FSH overyan rezerv test
ET	: Embriyo transferi
FR	: Fertilizasyon oranı
FSH	: Folliküler stimülan hormon
GAST	: GnRH agonist stimülasyon test
GDF-9	: Oosit kaynaklı büyüme farklılaşma faktörü
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
IP	: İntraperitoneal
İVF	: İn vitro fertilizasyon
KLA	: Korpus Luteum Angiogenez
KOH	: Kontrollü overyan hiperstimülasyon
LH	: Luteinizan hormon
PFS	: Primer Follikül Sayısı
SFS	: Sekonder Follikül Sayısı
TSF	: Tersiyer Follikül Sayısı
VİT D₃	: D Vitamini
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

Biçimlendirdi: Yazı tipi: Kalın

1. GİRİŞ

Kanser hastalığının, sık görülmesi ve yüksek oranda ölümlere yol açması, artan çevresel kanser yapıcı etkenler nedeni ile günümüzün önemli sağlık sorunlarından birisidir. Dünyada her yıl 10 milyondan fazla yeni kanser olgusu ortaya çıkmakta ve 5 milyon insan kanserden ölmektedir. 2007 yılında 7.9 milyon kişinin ölümüne yol açmıştır; bu sayı tüm nedenlere bağlı ölümlerin % 13 'ünü oluşturmaktadır. Kanserden ölümlerin giderek artacağı ve 2030 yılında 12 milyon kişinin kanser nedeniyle öleceği tahmin edilmektedir.

Siklofosfamid ve Doksorubisin gibi kemoterapötik ajanlar kadınlardaki kanserlerde sık kullanılmaktadır. Bu kemoterapötik ajanlar germ hücrelerine belirgin toksik etkisi olduğu Yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Vitamin D hem anti-proliferatif etkiyle hem de anjiyogenezi inhibe ederek hücrelerin apoptozisi-ni engeller Ayrıca vitamin D, DNA'yı tamir eden genlerle, genomun bütünlüğünü sağlayan genlerin ekspresyonunu uyarmaktadır. Doksorubisin ve Siklofosfamid'in over dokusunda oluşturduğu hasar üzerine vitamin D in etkisi belli değildir. Bu çalışmada Doksorubisin ve Siklofosfamid uygulanmasının sıçan over dokusunda ve fonksiyonlarında meydana getirdiği değişiklikler üzerine vitamin D' in etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Overler

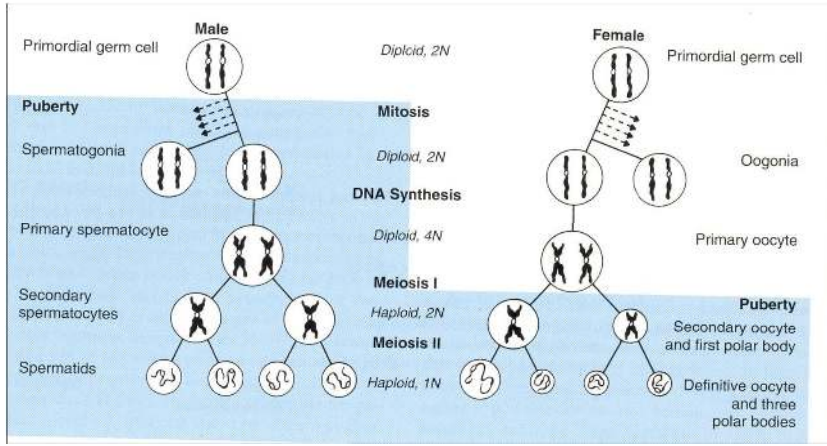
Overler pelvik duvar ile uterus arasında, medialde uteroovayan ligament, lateralde infundibulopelvik ligament ile asılı olan bir çift gonadal organdır. Normal over boyutu değişken olmakla birlikte, genellikle 5x3x3 cm civarındadır ve 2-8 gr ağırlıktadır. Overler korteks ve medulladan oluşur ve mezoovaryum ile devam eden yassılaşmış tek kat kuboidal epitel ile örtülmüştür. Kortekste özelleşmiş bir stroma ve değişik fazlarda folliküller vardır. Medulla, hiler bölgede küçük bir alanda yer alır ve fibromüsküler tabaka ile kan damarlarını içerir. Arteria ovaricadan beslenir. Arteria uterina ile de anastomozlar yapar (1). Üreme biyolojisinin ana organı olarak görülen overin başlıca iki fizyolojik görevi vardır. Bunlardan birincisi ovaryan follikülogenez olarakta bilinen gametogenez, yani düzenli biçimde oosit

olgunlaştırma ve olgunlaşan oositleri overden salgılama işlemidir. İkinci görev ise oositlerin gelişme basamakları sırasında steroid hormon salgılanmasıdır (2).

1.1.2. Germ Hücrelerinin Kökeni ve Farklılaşması (Embriyoloji)

İntrauterin hayatın yaklaşık 5. haftasında mezonefrik kanallar üzerindeki sahalarda bir çift gonadal kabarıklık oluşur. Bu dönemde gonadlar farklılaşmamıştır. Mezonefroz ve genital kabarıklık birlikte ürogenital kabarıklık olarakta bilinir. Bu arada intrauterin hayatın yaklaşık 3. haftasında, embriyonun kuyruk kısmına yakın bölgedeki yolk kesesi endoderminin duvarında primordial germ hücreleri geliir. Bu hücreler intrauterin hayatın 5. Haftasında genital kabarıklığa ulaşırlar (3, 4). Bu migrasyon sırasında germ hücreleri mitotik bölünme ile çoğalırlar. 6. ve 7. haftalardaki farklılaşmamış gonadlarda 10.000 civarında primordial germ hücresi bulunur. 7. gebelik haftasında testiküler gelişim için gereken, Y kromozomunun kısa kolunun ucunda yer alan, Testis Belirleyici Faktör'ün olmaması durumunda gonadlar over yönünde yapılırlar (3). Normal dış embriyoda genital çıkıntıya taşınmış olan primordial germ hücreleri, gelişmekteki gonadın korteksinde lokalize olurlar. Bu sırada başlangıçta var olan mezonefrik çıkıntı bölgesindeki yüzey epiteli germinal epitele dönüşür. Buradan içeriye doğru uzanan kordonlar primordial germ hücrelerini çevreleyip, follikülün granülozasını oluştururlar. Granülozayı çevreleyen mezenkim hücreleri ise follikülün tekasına dönüşürler (3-5). 8. gebelik haftasında overdeki primordial germ hücreleri mitotik çoğalma ile oogonia'lara dönüşürler. Mitotik uyarıyı rete ovariden üretilen faktörlerin başlattığı iddia edilmektedir (6). Bu dönemde overlerde 600.000 civarında oogonia bulunur. Bu sayı hızlı mitoz ile 16-20 gebelik haftalarında 6-7 milyon oogonia'ya ulaşır. Oogonia'ların akıbetini zaman içinde mitoz-mayoz ve atreziler belirler. 20. haftadan sonra azalmaya başlayan oogonia'ların sayısı doğumda 1-2 milyona, puberte başlangıcında 300-400 bin civarına iner. Bunlardanda 400 tanesi puberte ile menopoza arası dönemde ovulasyona uğrayabilme şansına sahipken, diğerleri atreziye uğrar (7) Gebeliğin 11-12. haftalarında oogonia'lardaki ilk mayotik bölünme başlar. Bu bölünmeyi diploten fazına kadar gerçekleştirip bu noktada beklemeye geçen oogonia'lar primer oosit olarak tanımlanır. Birinci mayozun profaz döneminin diploten fazına (ya da dictyate dönemi) kadar gelen oositler doğumdan sonraki erişkin dönemdeki ilk ovulasyona

kadar bu fazda kalır. Bu duraklamanın muhtemel nedeninin garanüloza hücrelerinden salınan inhibe edici maddeler olduğu düşünülmektedir(8). Ovulasyondan hemen önce 1. mMayoz devresindeki mayotik bölünme gerçekleşip 23 kromozumlu 1. polar cisim atılır ve 23 kromozumlu sekonder oosit oluşur. Oosit sperm penetrasyonu ile aktive olursa 2. Mayotik bölünme başlar, 23 kromozumlu 2. polar cisim atılarak 23 kromozumlu matür oosit ortaya çıkar ve mayoz bölünme tamamlanmış olur. Fertilize ovum 46 kromozom yapısı ile gelişimini sürdürür (9)



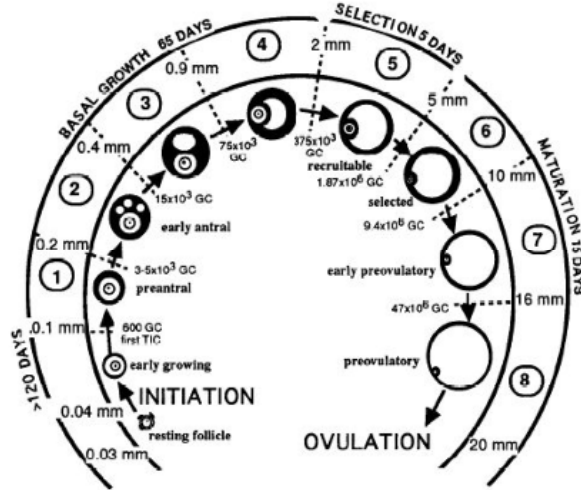
Şekil 1. Dişi germ hücresinin mayoz bölünme evreleri

1.1.3. Doğumdan Puberteye Kadar Over

Doğumda over 1cm çapında ve 250-300 mg ağırlığındadır. Over anatomik olarak korteks, medulla ve ara stromal doku bölümlerine ayrılmıştır. Çocuklarda hipotalamik baskılanma, hipofiz GnRH'ya düşük yanıtı ve buna bağlı düşük serum FSH ve LH düzeyleri ile karakterize bir hormonal durum görülür. Ancak oositlerde GnRH'dan bağımsız mRNA ve protein sentezi devam eder. Folliküller antral devreye kadar büyüyüp sonrasında atreziye uğrar. Atrezi sonrasında stromal dokuya karışan folliküller nedeniyle, stroma puberteye dek giderek büyür ve zamanla yenidoğan overinin 10 katına ulaşır (2-8).

1.1.4. Erişkin Overinde Folliküler Gelişim ve Steroidogenez

Over kendi dinamiği içerisinde hormonların, otokrin-parakrin etkilerin ve hipotalamushipofiz sisteminin kontrolü ile over follikül havuzundan seçilerek dominans kazanacak bir primordial follikülü preantral, antral ve preovulatuvar devrelerden geçirerek ovulasyona götürür. Ovüle olacak her bir follikül için yaklaşık 1000 primordial follikül değişik gelişim basamaklarından geçerken atreziye (apoptozis) uğramaktadır. Atreziye giden ovaryen follikülde apoptozis, gonadotropin ve sitokrom P450'nin etkileşime girdiği reseptörlerin üretiminde rol alan mRNA üretiminin seçici olarak azalmasıyla başlamaktadır (10).



Şekil 2. Başlangıçtan ovulasyona kadar follikülogenezis'in aşamaları

1.1.4. Primordial Follikül

Gebeliğin 11-12. haftasında başlayan mayotik bölünmenin profaz döneminde, diploten fazında kalan primer oosit, gebeliğin 16. haftaları civarında iç biçimli pregranüloza hücreleri ile çevrelenir. 30-60 milimikron çaplı bu hücre grubu öncül follikül olup 'primordial follikül' adını alır. Yeni primordial follikül oluşumu postpartum 6. aya kadar sürebilir. Primordial follikül oluşumundaki tetik çeken mekanizmalar henüz bilinmemektedir. Bu dönemin gonadotropinlerin kontrolü dışında ve overin otonomisi ile geliştiği bilinmektedir. Follikülün over follikül

havuzuna primordial follikül olarak girişinden olgunlaşma basamaklarını tamamlayarak ovüle oluşuna kadar geçen süre yaklaşık 150 gündür (11). Primordial follikül esasta oosit ve bunun etrafını saran tek sıralı granuloza hücrelerinden meydana gelmiştir. Oosit mayotik profazın diploten aşamasında durmuştur. Granuloza hücrelerinin salgıladığı Oosit maturasyon inhibitörü oositin profazda kalmasını sağlamaktadır. Follikül gelişmesinin ikinci evresi, bir siklusun erken luteal evresinde başlar. FSH-LH reseptörü kazanmış az sayıda follikül gelişmeye başlar. İzleyen folliküler evrenin 5-7. günlerinde bu gruptan biri tek baskın follikül olarak seçilir ve bu olay her ay sadece bir overde görülür. Ovaryal döngünün düzenleyicileri FSH ve LH'tır. Folliküler evrenin başlamasından hemen önce plazma düzeyleri en alt seviyelerde olan FSH ve LH, folliküler evrenin ilk yarısı boyunca artış gösterir. Folliküler evrenin ikinci yarısında FSH hafif düşerken LH artmaya devam eder ve LH/FSH oranı yaklaşık 2 olur. FSH tarafından uyarılan estradiol ilk kritik 6-8 gün boyunca artar ve ovulasyonun hemen öncesinde doruk noktaya ulaşır. Bu düzeyler inhibin B ile birlikte folliküler evrenin ikinci yarısında FSH'da azalmaya neden olur. LH yükselmeye devam eder (2).

1.1.5. Preantral Dönem

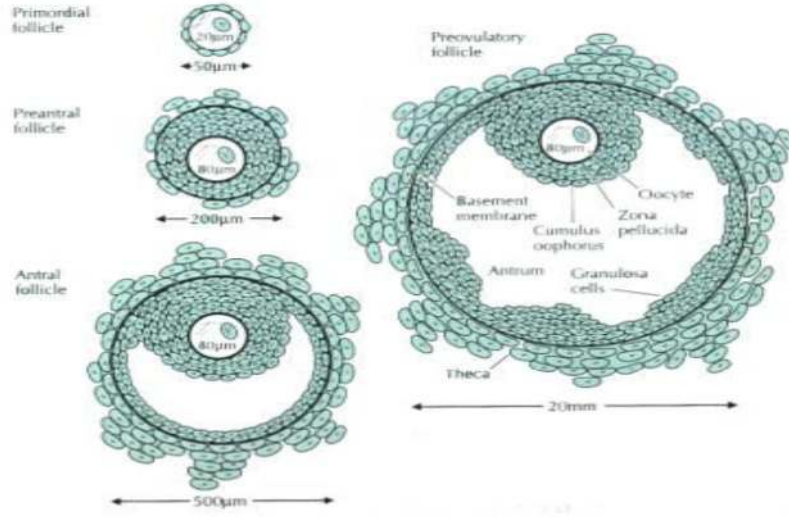
Genel kabul edilen görüş gelişimin başlangıç safhasında (preantral devre) gelişimin gonadotropin etkisinden bağımsız, lokal intraovaryan büyüme faktörleri ile gerçekleştirilen gelişim şeklindedir. 300 civarında, 0.12-0.2 mm çaplı preantral folliküller büyüyerek önce 0.4-0.9 mm çaplı erken antral, sonunda da 2-5 mm çaplı antral folliküllere dönüşürler. Bu gelişme sırasında primer folliküldeki granuloza hücreleri de tabakalar halinde çoğalır. Primer oosit genişler ve çevresi oositi granuloza hücrelerinden ayıran zona pellucida membranı ile çevrelenir. Bu safhadaki oositin içinde geniş germinal vezikül seçilir. 110-120 milimikron çaplı ve çevresinde 600 civarında granuloza hücresi bulunan ve daha ileri gelişme safhasına ulaşan bu preantral folliküllere 'sekonder follikül' de denmektedir. Bu safha yaklaşık 60 günlük sürede (2 menstrüel siklus) tamamlanır. İkinci menstrüel siklus sonunda, 3. siklusun başında 2-5 mm çapa ulaşmış, ancak sayıları 30 civarına düşmüş antral folliküllerde büyüme artık gonadotropinlerin etkisi altına girmektedir (11). Oosit büyürken tek tabakalı granuloza hücreleri çok katlı küboidal hücrelere değişir.

Bazal membran granuloza hücrelerini stromadan ayırır. Teka tabakası teka externa ve teka interna olarak farklılaşır. Seçilen follikül teka interna'nın farklılaştığı ve vaskülarite'nin arttığı folliküldür. Lokal olarak insülin benzeri growth-büyüme faktörü (IGF1-2), Transforming büyüme faktörü growth-faktör ve epidermal büyüme faktörü growth-faktör üretilir. Bunlar da granuloza hücrelerinin hipertrofi ve hiperplazisine katkıda bulunur. Bir follikülün başarılı olması için yüksek düzeyde estradiol üretmesi arttır. Hücre grubu birlikte çalışarak estrogen üretimini sağlamaktadır. Buna 'iki hücre-iki gonadotropin teorisi' denir (2). Bu teori folliküler gelişimin esasını oluşturur. Bu teori, gelişen follikülde steroid hormon sentezinin kompartmanlar arasında bölüşüldüğünü ileri sürmektedir. Aromataz aktivitesi (estrogen üretiminde) granuloza hücrelerindedir (12). Bu hücrelerdeki spesifik reseptörlerin FSH tarafından uyarılmasıyla aromataz aktivitesi artmaktadır. Ancak granuloza hücrelerinde steroid sentezinin daha önceki basamaklarında gerekli enzimler eksiktir ve aromatazasyonda substrat olarak androjenlere gereksinimi vardır. Bu nedenle LH uyarısıyla androjen sentezleyen teka hücreleri ile işbirliği gerekir. LH androjenleri (primer olarak androstenedion) üretmek üzere teka hücrelerini uyarmakta, sentez edilen androjenler de granuloza hücrelerine transfer edilerek FSH uyarısıyla estrogenlere aromatize edilmektedir (2, 13). Artan estrogen ve inhibin negatif feedback etkiyle FSH salgısını azaltır. FSH'nın azalması baskın follikül hariç diğerlerinin büyümesine engel olurken en çok FSH reseptörü olan ve en fazla estrogen salgılayan baskın follikül mevcut FSH'nın tamamını kullanır, böylece baskın follikül gelişirken diğerleri atreziye uğrar (2-4).

1.1.5.1. Preovulatar (Antral) Follikül

Preovulatar follikül granulozagranuloza hücrelerinin sekresyonundan ibaret bir plazma ile dolu antrum ile karakterizedir. Bu aşamada granulozagranuloza hücreleri daha da diferansiye olarak heterojenite kazanır. Oosit, granulozagranuloza hücrelerinden oluşan ve cumulus oophorus adı verilen bir küme ile folliküle bağlantısını korumaktadır (2). Yükselen estrogen seviyeleri FSH sekresyonu üzerinde negatif feedback etkisi yapmaktadır. Bunu aksine LH ise dolaşımdaki estrogenler tarafından bifazik bir şekilde kontrol edilmektedir. Estrogenler düşük konsantrasyonlarda LH sekresyonunu inhibe ederken yüksek düzeylerde

arttırmaktadır. Bu uyarı için estrogen seviyesinin 48 saatten uzun bir süreyle 200 pg/ml üzerinde olması gerekmektedir (14). Yükselen estrogen düzeyi pozitif feedback'i başlatınca LH sekresyonunda ani bir artış oluşmaktadır. Bu olaylarla eşzamanlı olarak baskın follikül içerisinde lokal estrogen/FSH etkileşimleri ~~granuloza~~~~granuloza~~ hücrelerinde LH reseptörlerini uyarmaktadır. Böylece baskın follikülde, ~~granuloza~~~~granuloza~~ hücreleri luteinize olmakta, progesteron üretimi başlamakta ve ovulasyon tetiği çekilmektedir (2). Ovulasyon LH pikinden 10-12 saat sonra, estradiol pik düzeyine ulaşıldıktan 24-36 saat sonra olmaktadır. LH pikinin başlangıcı, yaklaşan ovulasyonun en iyi belirteci olarak görülmekte ve follikülün rüptüründen 34-36 saat önce ortaya çıkmaktadır (15). Folliküler gelişmenin seks steroidleri dışındaki regülatörleri arasında inhibin ve aktivin de bulunur. inhibin A luteal fazda, inhibin B ise folliküler fazda aktif olmaktadır. Her ikisi de FSH sentez ve salgısını inhibe etmektedir(16). Aktivin ise hipofizden FSH salgısını arttırmakta ve FSH'nın overler üzerine etkisini kuvvetlendirmektedir. Muhtemelen inhibin ve aktivine benzer yapıda ve normal ovulasyon olayının oluşmasında anahtar rol oynayan birçok başka intra ovaryel regülatörler de mevcuttur. Bunlar arasında insulin ~~benzeri büyüme faktörü~~~~like growth faktör~~ (IGF-1), epidermal ~~büyüme faktörü~~~~growth faktör~~, transforming ~~büyüme faktörü~~~~growth faktör~~ (TGF-alfa, TGF-beta 1), fibroblast ~~büyüme faktörü~~~~growth faktör~~, interlekin-1, ~~tümör~~ nekrozis faktör-alfa, oosit maturasyon inhibitor sayılabilir (17).



Şekil 3. Evrelerine göre follikül içyapısı

1.1.5.2. Ovulasyon

Siklus ortasındaki LH ani artışı follikül duvarında prostaglandinler ile proteolitik enzim konsantrasyonlarının dramatik bir şekilde artmasına neden olmaktadır. Bu maddelerin follikül duvarında açtığı bir noktadan oositin yavaşça ekstrüzyonu ile ovulasyon gerçekleşir (2- 4). LH'nın ani artışı, oositteki mayozun yeniden başlamasını, granuloza granuloza hücrelerinin luteinizasyonunu, kümülüsün büyümesini ve follikül rüptürü için gerekli olan prostaglandinler ve diğer eikozanoidlerin sentezini sağlamaktadır. Erken oosit olgunlaşması ve luteinizasyonu lokal faktörlerce önlenmektedir. LH uyarımlı siklik AMP aktivitesi oosit matürasyon inhibitörünün lokal etkisine üstün gelmektedir. LH'nın ani artışı -ile- folliküldeki progesteron düzeyleri, ovulasyona kadar artmaya devam eder. FSH, LH ve progesteron proteolitik enzimlerin aktivitesini arttırdığından follikül duvarındaki kollajen sindirilir. Proteolitik enzimler belli bir sıra ile aktive edilir. Granuloza Granuloza ve theca hücreleri, gonadotropinlere yanıt olarak, plazminojen aktivatörü üretir. Bu da folliküldeki plazminojeni plazmine çevirir. Plazmin ise aktif kollajenaz oluşturarak follikül duvarını yıkıma götürür. Ovulasyon stigma denilen folliküler apeksin proteolitik yıkımının sonucudur(15).

1.1.6. Korpus Luteum

Rüptüre olan baskın follikülden geriye kalan materyal korpus luteum denen yeni bir endokrin birim üretir. Korpus luteum fertilize ovumun yerleşmesi ve plasenta bu görevi üstleninceye kadar zigotun varlığının sürdürülmesini sağlayacak steroid hormon dengesini sağlar. Korpus luteum luteinize granuloza hücrelerinden oluşmuştur. Midluteal fazda günde 40 mg progesteron üretilir. Korpus luteum fonksiyonunun devam etmesi LH üretiminin sürmesine bağlıdır. Gebelik olduğu takdirde plasental human keoryonik gonadotropin, LH etkisini taklit ederek korpus luteumu progesteron sentezlemek üzere sürekli uyarır. Ovulasyonu fertilizasyon izlemezse 14 günlük yaşam süresini takiben korpus luteum geriler, bu olaya luteoliz denir. Sonucunda corpus albicans oluşur (1, 2).

1.1.7. Over Rezervi

Overlerdeki primordial follikül havuzu, diğer bir deyişle ovaryan rezerv, kadının fertilité potansiyelini belirleyen majör faktördür (18). Over rezervi, oosit kalitesi ve folliküler tükenme süreciyle ilgili olarak bir kadının üreme potansiyelini tanımlar (19). Over rezervinin belirlenmesi amacıyla kullanılan testlerle ilgili çalışmaları çokluğuna ve son zamanlarda yayınlanan geniş incelemelere rağmen (20), testlerin kesinliği ve yorumlanmaları konusunda hala şüpheler mevcuttur (20, 21).

Over rezervini belirlemek için kullanılan klinik göstergeler ve geliştirilmiş olan testler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Yaş
- Klinik semptomlar
- Endokrin testler:
 - Bazal serum FSH
 - Bazal FSH/LH oranı
 - Bazal serum Estradiol (E2)
 - Bazal serum inhibin-B

- Anti Müllërian Hormon (AMH)

- Dinamik testler:
 - CCCT (Clomiphene citrate challenge test-Klomifen Sitrat Tarama Testi)
 - GAST (Gonadotropin releasing hormon (GnRH)-Agonist Stimülasyon Testi)
 - EFORT (Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi)
- Ultrasonografik Göstergeler:
 - Over volümü
 - Antral follikül sayımı
- Ovaryan biyopsiler

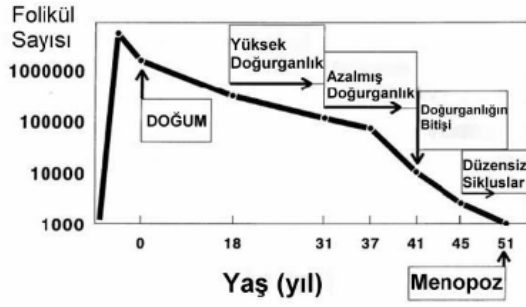
Over rezervi yaşla birlikte azalmasına karşın biyolojik yaş, kronolojik olandan daha önemlidir (22-28). Yaş, over rezervinin gösterilmesinde kesin bir epidemiyolojik tahmin yöntemi olmasa da, gerek spontan, gerekse yardımcı üreme

Biçimlendirilmiş: Girinti: Sol: 1,25 cm, İlk satır: 0,75 cm

Biçimlendirilmiş: Girinti: Sol: 1,25 cm, İlk satır: 0 cm

Biçimlendirildi: Yazı tipi: (Varsayılan) Times New Roman, 12 nk, Yazı tipi rengi: Siyah

teknikleri ile elde edilen gebeliklerin prognozunun belirlenmesinde önem kazanmaktadır (23).



Şekil 4. Yaşla azalan follikül havuzu

Şekil 4'te fertilite durumu belirtilerek yaşla azalan follikül oranları verilmiştir (24). Normal menopoz'un başladığı yaş 40 ile 60 arasında değişkenlik gösterir. Menopoz yaşıyla ilgili bilgilerin çoğu retrospektif veya kesitseldir. Bununla birlikte bir prospektif çalışma adet düzensizliği olarak tanımlanan ortalama perimenopoz yaşını 47.5 ve ortalama menopoz yaşını 51.3 olarak açıklamıştır (25). Klinik semptomlar sorgulanarak hastanın follikül rezervi tahmin edilmeye çalışılabilir. Bu semptomlar hastanın menopoza ne kadar yakın olduğu ve ovulasyon durumunu içerir. Ancak bu bulgularla objektif değerlendirme zordur.

1.1.8. Bazal Serum FSH

Normal menstruel siklusta, büyümekte olan folliküller arasında ovulasyona gidecek olan dominant follikülün seçilmesi geç luteal fazdaki FSH uyarısına bağlıdır. Bu dönemde serum progesteron ve inhibin değerlerindeki azalma, mense kadar süren FSH artışı ile sonuçlanır. Folliküler büyüme başlayınca artan serum estradiol ve inhibin seviyeleri FSH seviyesini düşürür. Bu bilgiler ışığında overin FSH'ya olan duyarlılığını değerlendirmek için en uygun zamanın, menstrüel siklusun luteo folliküler geçiş dönemi olduğu kabul edilmektedir. FSH ölçümleri genelde siklusun 3. gününde yapılmaktadır. Normal over rezervi için laboratuvar ölçüm sınırı 12 mIU/mL kabul edilmektedir (2). Azalmış over rezervi durumunda ovaryan hormon

üretimindeki (estrodio)l azalma hipotalamik/hipofizer FSH sekresyonu üzerindeki negatif feedback etkiyi kaldıracağından FSH yükselecektir.

1.1.8.1. Bazal FSH/LH oranı

Menopozda FSH ile birlikte LH değerleri de artış göstermektedir. Ancak FSH’ daki yükselme LH’dan birkaç yıl önce gerçekleşmektedir. Bu bağlamda FSH/LH oranındaki artış over rezervindeki azalmanın ilk belirtisi olabilir (2).

1.1.8.2. Bazal serum Estradiol (E2)

FSH’ya ek olarak bazal E2 ölçümü, fertilite potansiyelini önceden belirlemede bazal FSH veya kronolojik yaşı tek başına kullanılmasına kıyasla daha etkin olabilir (26). 38-42 yaş arasındaki, FSH düzeyleri normal olan kadınlarda siklusun 3. günü E2’nin <80 pg/ml olması, tedavide iyi bir prognoza işaret etmektedir (27). Folliküler E2 düzeylerinin erken dönemde artmasının, azalmış ovaryan cevapla ilişkili olduğu gösterilmiştir (28).

1.1.8.3. Bazal serum inhibin B

Inhibin transforming growth faktör-b (TGF-b) ailesinden, 32 kDa ağırlıkta, hipofizden FSH salımını inhibe eden, yapısal olarak AMH’ e benzeyen heterodimerik bir proteindir (29). inhibin A dominant follikül’ den salgılanmakta iken, inhibin B daha çok gelişmekte olan folliküllerden salgılanmaktadır. inhibin B konsantrasyonları luteo folliküler geçiş döneminde artmaya başlar ve midfolliküler dönemde en üst düzeye ulaşır. Serum inhibin B düzeylerinin gelişmekte olan folliküllerin sayı ve kalitesiyle orantılı olduğu düşünülmektedir (2, 30).

1.1.8.4. Anti-Müllerian Hormon (AMH)

Anti-Müllerian Hormon (Müllerian inhibiting factor), dimerik bir glikoproteindir. 140 kDa ağırlığında, disülfid bağlarıyla bağlanmış iki monomerden oluşur (31). AMH, inhibin, aktivin glikoproteinleri’nin dahil olduğu Transforming Growth Faktör-b ailesindendir (32). Bu hormonlar dimerik glikoprotein yapısındadır, doku büyümesi ve farklılaşmasında etkilidirler (33). AMH erkekte testiste Sertoli hücrelerinde, kadında overde granuloza hücrelerinde yapılır. Erkek fetusun gelişiminde Müllerian kanalların gerilemesini ve

Biçimlendirildi: Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Yazı tipi: (Varsayılan) Times New Roman, 12 nk, Kalın Değil, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Yazı tipi rengi: Otomatik

normal erkek üreme sisteminin gelişmesini sağlar (34). Sertoli hücrelerinde embriyogenezisla başlayan AMH sekresyonu yaşam boyu devam eder (32). Kadında serum AMH düzeyleri erkeğe göre daha düşüktür. Puberte sonrası menstrüel siklus başladığında sirkülasyondaki AMH düzeyi giderek azalır ve menopoza tespit edilemez (32). Pubertede preantral ve antral folliküllerin ~~granuloza~~ ~~granuloza~~ hücrelerinden salgılanır ve FSH etkisiyle büyüyen follikülün, büyümesini inhibe eder (35). AMH erken primordial folliküllerde granuloza hücrelerinde saptanmakta ve antral folliküllerde tepe değere ulaşmaktadır (15). AMH diğer testlere göre farklı birçok avantaj sağlaması nedeniyle son dönemde over rezerv testi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Birinci olarak AMH'nin yaşa bağlı olarak en erken değişen marker olduğuna inanılır ve sonuç olarak over rezervin azaldığını geleneksel tarama testlerinden daha erken gösterir. FSH' dan farklı olarak AMH ölçümü için menstruel siklusa belirli bir güne gerek yoktur. Ek olarak seri AMH seviyesi alındığında 3.gün FSH seviyesine oranla sikluslar arasında çok az değişkenlik gösterir (36). Farelerde yapılan çalışmalarda primordial follikül gelişiminin AMH tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir. Ayrıca AMH parankim aktivitesi FSH uyarımlı follikül büyümesini inhibe etmekte, dominant follikülün gelişimini sağlamaktadır. Bu aktivitelerden dolayı dolaşan AMH düzeyleri gelişen follikül sayısını göstermekte ve ovarian yaşlanma ve fertilite prognozunda ölçülebilmektedir (15).

1.1.8.5. Clomiphene Citrate Challenge Test (CCCT)

Bu basit test, siklusun 3. günündeki bazal FSH düzeyi ile siklusun 5-9. günleri arası 100 mg/gün klomifen kullanımı sonrası 10. günde serum FSH düzeylerinin ölçümüne dayanır (37). Over rezervi normal kabul edilen kadınlarda, klomifen sitratin indükleyeceği FSH yükselmesi, foliküllerden salgılanan E2 ve inhibin-B tarafından sınırlandırılır. Bu provokatif test, yalnızca bazal FSH ölçümleri ile tanımlanamayan azalmış over rezervli kadınları açığa çıkarabilir (35, 38).

1.1.8.6. Gonadotropin ~~R~~eleasing ~~H~~ormone (GnRH)-Agonist Stimülasyon Testi (GAST)

GAST (Gonadotropin Releasing Hormone-Agonist Stimulation Test/GnRH-A Stimülasyon Testi), GnRH-agonist verilmesini takiben, hipofizer FSH ve LH

sekresyonu' nun artmasına bağlı olarak, siklusun 2. gününden 3.gününe E2 düzeylerindeki değişimin ölçümü esasına dayanır (23). GnRH analo_u uygulanması ilk 4-6. günü içinde FSH, LH ve bunlara bağlı olarak E2 artışı olur. Siklusun 2. günü 1 mg leuprolide asetat SC uygulanarak 3. gün E2 düzeyine bakılır (39). Buna flare etki denir. Uygulama zorluğu ve pahalı bir test olması nedeniyle pratik olarak kullanılmamaktadır. Dört farklı E2 paterni izlenebilir. Hızlı E2 yükselmesi ve 4. günü azalma, gecikmiş E2 yükselmesi ve 6. gün azalma, devamlı E2 yükselmesi ve E2 yükselmesinin olmaması (40).

1.1.8.7. Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi (EFORT)

EFORT (Exogenous FSH Ovarian Reserve Test/ Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi), IVF sikluslarında iyi ve düşük cevaplı hastaların belirlenmesi için bir tarama testi olarak geliştirilmiştir (41). Siklusun 3. günü 300 IU FSH intramüsküler uygulanır. nce ve 24 saat sonra E2, FSH de_erlerine bakılır. iyi cevap olarak değerlendirmek için artış oranları sırasıyla > 25-30 pg/ml, <9 IU/l olmalıdır (42).

1.1.8.8. Over Volümü ve Antral Follikül Sayımı

Over hacmi, ilerleyen yaşla birlikte azalır. Kadın hayatı boyunca over hacmi, 10 yaşında ortalama 0.7 cm³'ten, 18 yaşında 5.8 cm³'e kadar büyür (43). Andolf ve ark. (44), 40 yaşın üzerindeki kadınlarda over boyutlarının azaldığını gösterdiler. Higgins ve ark. (45), over volümünde perimenopozal hastalarda 18 cm³ 'den postmenopozal hastalarda 8 cm³ 'e dramatik bir düşük buldular. Over hacminin transvajinal yoldan ultrasonografik ölçümü, hızlı, doğru ve cost-effective bir yöntemdir. Over hacmi ve antral follikül sayısı arttıkça over rezervinin de arttığı ne sürülmektedir. Antral follikül sayısı <6 olan hastalarda cevap kötüdür (40).

1.1.8.9. Over biyopsisi

Reprodüktif potansiyel overin korteksindeki primordial follikül sayısı ile korelasyon gösterir. Over biyopsisi follikül dansitesini direkt olarak göstermeye dayanır ve diğer indirekt yöntemlerden daha fazla bilgi verir (46). Folliküler dağılımı çok fazla varyasyon gösterdiği için araştırmacılar ovaryan biyopsinin over rezervi değerlendirilmesinde yeri olmadığına karar vermişlerdir (47).

Kanser hastalığı tüm dünyada kalp damar hastalıklarından sonra 2. sırada ölüm sebebidir. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde 2014 yılında kansere yakalanan kadın sayısının yaklaşık 700.000 olduğu tahmin edilmektedir (48). Son yıllarda kanser genetiği ve biyolojisindeki gelişmeler ve modern çok ajanlı sitotoksik kemoterapi ve radyoterapi formlarının tedaviye girmesi ile 5 yıllık sağ kalım oranları tüm kanser türlerinde artmıştır. Bunun sonucu olarak hayatta kalan kanser hastalarının yaşam kalitesi ile ilgili konular güncellik kazanmıştır. Bunlardan biride bu hastalarda fertilitiyi koruyucu işlemlerdir. Maalesef her yıl reproduktif dönemde binlerce kadın kanser tedavisi için sitotoksik kemo/radyoterapi formlarına maruz kalmaktadır. Bu tedavi formlarının en önemli yan etkilerinden biride over dokusu üzerine olan gonadotoksik etkilerinden dolayı bu hastalarda prematür ovaryen yetmezlik gelişmesidir (48). Amenore ve erken menopozun temel mekanizması kemoterapi ve radyoterapinin over dokusunda over rezervini temsil eden primordial foliküllerin erken ve kitlesel kaybıdır. Kanser ilaçları ve radyasyon hem oosit hem de onu çevreleyen **granuloza** hücrelerinde apoptozise yol açarak folikülün ölümüne yol açmaktadır. Verilen kemoterapi formunun şekli, tedavinin süresi ve dozu erken menopoz riskinin asıl belirleyicileridir. Yapılan klinik ve hayvan çalışmaları alkileyici kategorideki (örnek siklofosfamid) kemoterapi ajanlarının over üzerinde en fazla toksisiteye sahip olduğunu göstermektedir. Siklofosfomid hem oosit hem de çevreleyen **granuloza** hücrelerinde hasara neden olarak follikül kaybı ve buna bağlı olarak erken over yetmezliğine sebep olmaktadır (49). Sonuçta bu tedavilere maruz kalan hastalarda fertilité korunması önem arz etmektedir.

1.1.8.10. Fertilité Korunması Uygulamalarının Endikasyonları

1. Çocuklardaki kanser hastalıkları; Hodgking, non-hodgkin, lenfomalar, lösemiler, Ewing sarkomu, Nöroblastom, Wilms tümörü, pelvik osteosarkom, genital rabdomyosarkom.

2. Meme kanseri; infiltratif duktal tip, infiltratif lobüler, stage 1-3, stage 4.

3. Serviks kanseri; squamoz hücreli, adenosquamoz hücreli

4. Otoimmün ve hematolojik hastalıklar; Sistemik Lupus, Behçet hastalığı, sickle cell hastalığı, multiple sklerozis, progressif sistemik sklerozis, aplastik anemi vb.

5. Benign over hastalıkları; örnek: endometriozis.

6. Pelvik radyasyona maruz kalan hastalar; pelvisin solid organ tümörleri, osteosarkom, Ewing sarkomu, retroperitoneal sarkomlar, spinal kord tümörleri vb.

7. Profilaktik ooferektomi yapılan hastalar; BRCA 1-2 gen mutasyonu taşıyıcıları

8. Hematopoietik stem cell transplantasyonu yapılan hastalar; malign, genetik, hematolojik, otoimmün hastalıklar.

9. Jinekolojik nedenlerle cerrahi uygulanacak hastalar; erken evre servikal kanserde konizasyon ve trakelektomi, erken evre over kanserinde cerrahi, endometrial kanserlerde hormonal tedavi (48).

1.1.8.11. Kemoterapi ve Radyoterapinin Gonadal Fonksiyonlar Üzerine Etkisi

Kemoterapi ve radyoterapinin over dokusu üzerindeki uzun dönem etkisi, infertiliteye neden olan azalmış ovaryan rezerv ve prematür ovaryan yetmezliktir. Ovaryan rezervin göstergesi primordial follikül sayısıdır. Kemoterapi ile indüklenmi ovaryan hasarın ultra_strüktürel göstergesi yaygın follikül kaybı ve ovaryan fibrozistir. Bununla birlikte kanser tedavilerinin ovaryan stromal hücrelere etkisi de önemlidir. Ovaryan stromal hücreler endokrin fonksiyon görür ve büyük olasılıkla kemoterapi sonrası hasarın tamirinde rol oynar (50). Kemoterapi sonrası ovaryan yetmezliğe etki eden faktörler arasında hasta yaşı, kemoterapi ajanının türü, ilacın kümülatif dozu ve kemoterapi öncesi ovaryan rezerv durumu sayılabilir. Yaşlı hastalarda ovaryan yetmezlik gelişmesi, aynı doz kemoterapi alan genç hastalara göre daha olasıdır. Örneğin ovaryan yetmezliğe sebep olacak kümülatif siklofosamid dozu 40'lı yaşlardaki bir hasta için 5,2 gr iken 30'lu yaşlarda 9,3 gr, 20'li yaşlarda 20,4 gr olmaktadır (45-51).

Alkileyici ajanlar en yüksek follikül kaybına sebep olmaktadır. Hücre siklusuna spesifik değildir yani hücre bölünme sırasında olmasalar da tek sarmal yada çift sarmal DNA kırıklarına neden olarak etki gösterirler. Folliküler hasar

yanında, DNA cross-link oluşturarak, steroid sentezinin azalmasıyla karakterize yaygın ~~granuloza~~ **granüloza** hücre hasarına da neden olurlar (48-52).

İyonize radyasyon tüm yaş gruplarında gonadal fonksiyonlarını bozar. Hasarın derecesi ve persistansı doza, irradyasyon alanına ve hastanın yaşına bağlıdır. Hipotalamik-pituitar bölgeyi içeren 30 Gy kranial irradyasyon çocuklarda hipogonadotropik hipogonadizme neden olabilir. Overler, servikal ve rektal kanserler nedeniyle yapılan pelvik irradyasyona maruz kalabilir. Hodgkin lenfoma gibi hematolojik nedeni pelvik lenf nodu irradyasyonu ve kemik iliği transplantasyonu öncesi tüm vücut irradyasyonuna maruz kalabilir. 40 yaşaltı kadınların radyasyon kaynaklı ovaryan yetmezliğe girme olasılığı, yaşlı olanlara göre daha azdır. 40 yaş altı kadınlarda kalıcı ovaryan yetmezlik olması için 20 Gy dozlara gereksinim varken, daha yaşlı kadınlarda 6 Gy dozlar bu etkiye sebep olmaktadır. Ayrıca radyasyon tedavisi görmüş kadınlarda spontan abortus, düşük doğum ağırlığı gibi obstetrik sonuçlar daha sık olmaktadır (48, 52).

Kemoteropatik ajanların gonadotoksisite riskleri:

(1) Yüksek gonadotoksisite riski;

- (a) Cyclophosphamide
- (b) Busulfan
- (c) Melphalan
- (d) Procarbazine
- (e) Nitrogen mustard
- (f) Chlorambucil

(2) Orta derecede gonadotoksisite riski;

- (a) Cisplatin
- (b) Adriamycin
- (c) Paclitaxel

(3) Düşük gonadotoksisite riski;

- (a) Methotrexate
- (b) 5-Fluorouracil
- (c) Actinomycin D
- (d) Bleomycin
- (e) Vincristine

Kemoterapötik İlaçların Sınıflandırılması

Anti_kanser ilaçlar kimyasal yapılarına, hücre siklusuna etkilerine, orijinleri ve etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaktadır.

Hücre siklusuna etkiye göre sınıflama:

1.Siklusa spesifik ajanlar;

a. Siklus spesifik, faz nonspesifik ajanlar: hücre siklusunda her fazdaki hücreye etkili.

b.Siklus spesifik, faz spesifik ajanlar: hücre siklusunun belli fazlarına etkilidirler.

G1: Hücre siklusunun başlangıç fazıdır. Süresi değişkendir. Bu fazda proteinler ve RNA sentezlenir. L-asparajinaz ve kortikosteroidler bu fazda etkilidirler.

S fazı: DNA sentez fazı. Süresi 4-24 saat arasında değişir. Antimetabolitler, heksametilmelamin, hidroksiüre, prokarbazin S fazına etkidir.

G2: DNA sentezi durur. RNA ve protein sentezi devam eder. Mitotik ağ için mikrotubuler prekürsörler yapılır. Süresi 2 saattir. Bleomisin, mitoksantron ve topoizomera 1 inhibitörleri bu fazda etkilidir.

M fazı: Protein ve RNA sentezi durur. Genetik materyal ikiye bölünür. Süresi 0,5-2 saattir. Vinka alkaloidleri, epipodofilotoksinler, ve taksanlar bu fazda etkilidir.

G0 fazı: istirahat fazıdır. Bu fazdaki hücreler genellikle kemoterapiye dirençlidir (2, 40).

2.Siklus Non-Spesifik Ajanlar;

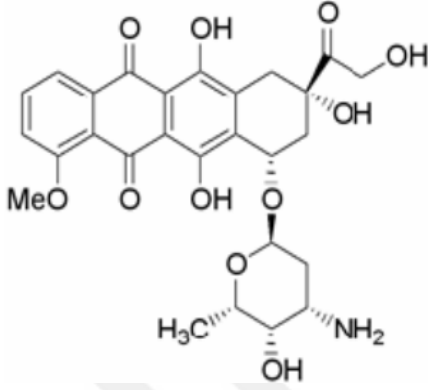
Bu grup ve siklus spesifik faz nonspesifik ajanlar lineer doz cevap ili_kisine sahiptir. Alkilleyici ajanlar, antibiyotikler siklusa spesifik olmayan ilaçlardır. ilaç dozunun artırılması antitümör etkiyi artırır. Hem solid tümörler gibi yava_büyüyen hem de hızlı çoğalan tümörlere etkilidir. Alkilleyici ajanlar (örnek: Siklofosfamid) bu gruptadır. Siklus spesifik faz spesifik ajanlarda doz artırılması etkiyi arttırmaz ancak ilaç verilme süresinin uzatılması etkiyi artırır. Hızlı gelişen kanserler, örneğin hematolojik kanserlerin tedavisinde etkilidirler (2, 53).

1.1.8.12. Doksorubisin (Adriamisin)

Adriamisin—Doksorubisin antrasiklin grubu antibiyotikler olarak sınıflandırılır. Adriamisin genellikle ticari ismi olan adriamisin olarak tanınır ve daunorubisinin hidroksillenmiş analogudur. Daunorubisinin 4- demetoksi analogu olan idarubisin de kullanımdadır. Antrasiklinlerin hücre tipine göre değişen etkileri vardır; Bu etkiler en belirgin siklusun S ve G2 fazlarında görülür. Bu ilaçlar seçicilik göstermeksizin birbirine yakın baz çiftleri arasına girerek deoksiribonükleik asit'in (DNA) seker-fosfat yapısına bağlanıp, DNA ve RNA sentezini engellerler. İlacın DNA yapısına katılması; topoizomera II enziminin katalizlendiği DNA zincirinin kesilmesi ve farklı noktalardan tekrar birleştirilmesi işlemini engelleyerek, DNA zincirinde tamir edilmesi mümkün olmayan kırılmalara neden olur. Bu özellikleri, fosfotidilinositol aktivasyonuna kenetli transport mekanizmalarını bozar (54). Sitokrom P450 redüktaz enzimleri (hücre çekirdeği zarında bulunur)

Antrasiklinlerin semikinin serbest radikallere indirgenmesini sağlarlar. Bu radikaller oksijen molekülünü indirgeyerek DNA zincirini parçalayan süperoksit iyonlarının ve hidrojen peroksit'in oluşmasını sağlarlar. Süperoksit dismutaz (SOD) veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimlerinin yüksek miktarda bulunduğu hücreler bu etkilere dirençlidir. Tümör hücrelerinde ve kalp hücrelerinde SOD düşük miktarlarda bulunmaktadır. Aynı zamanda kalp dokusunda katalaz enzimi de bulunmadığından hidrojen peroksidi parçalayamamaktadır. Antrasiklinlerin kardiyotoksik olmalarının nedeni budur. Bu ilaçlara direnç gelişimi, ilacı hücre dışına taşıyan P transport protein aktivitesinde artışa bağlanmaktadır. GSH-Px'in yüksek konsantrasyonda bulunduğu hücreler adriamisin'e dirençlidirler. Sitokrom P450 düzeyinde azalma ve DNA tamirinin de dirençte rol oynadığı düşünülmektedir. Etki mekanizmaları ve yapıları birbirine benzemesine rağmen bu iki ilacın tedavide kullanım alanları farklıdır. AdriamisinDoksorubisin, en önemli ve en sık kullanılan kemoterapötik ilaçlardan birisidir. Sarkomların, meme ve akciğer kanserleri de dahil olmak üzere karsinomların, akut lenfositik lösemilerin ve lenfomaların tedavisinde kullanılmaktadır. Adriamisin akut lenfositik ve myelositik lösemilerin tedavisinde kullanılmaktadır (55).

Doksorubisin'inAdriamisinin kimyasal yapısı Şekil 5'de verilmiştir.



Sekil 5. Adriamisin-Doksorubisin'in kimyasal yapısı

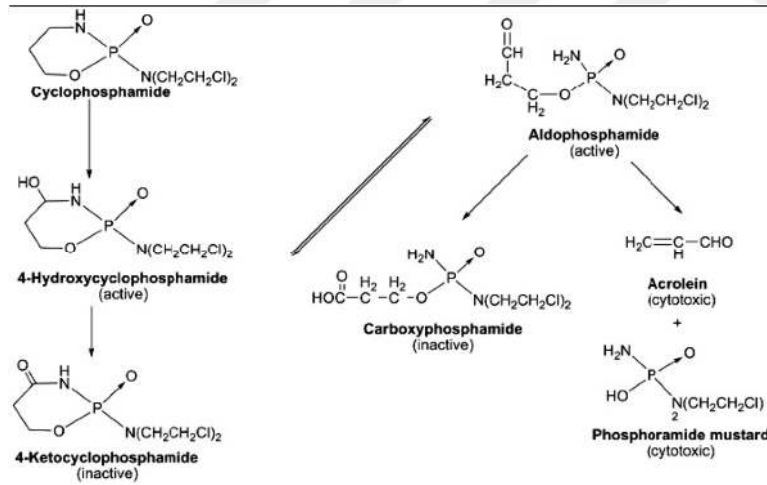
Gastrointestinal sistemde inaktif olduğundan intravenöz (IV) olarak uygulanması gerekmektedir. İlacın çevre dokulara sızması doku nekrozu gibi ciddi problemlere neden olmaktadır. Bu ilaçlar plazma proteinlerine ve dağıldıkları dokulara bağlanırlar, ancak serebrospinal sıvıya geçmezler. En önemli atılım yolu safradır ve karaciğer fonksiyonları bozuk olan hastalarda doz ayarlaması yapılmalıdır. İlacın bir kısmı böbreklerden atılmasına rağmen böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlamasına gerek yoktur. En ciddi yan etki, serbest radikallere bağlı olarak ortaya çıkan kalıcı ve doza bağımlı kardiyotoksisitedir. Toraksa radyoterapi uygulanması ilacın kardiyotoksik etkisini artırır. Demir ile selat oluşturan deksrazon ile adriamisin'nin kardiyotoksik etkilerini kısmen önlemek mümkün olmaktadır. Daktinomisin gibi adriamisin ve daunorubisin de geçici kemik iliği depresyonu, stomatit ve dispeptik şikayetlere neden olabilirler (55).

1.1.8.13. Siklofosfamid

Siklofosfamid nitrojen mustard (azotlu hardal) tipi alkilleyici ilaçlardır. Karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid mustard'a dönüşerek etkinlik kazanır (Sekil 6). DNA'ya bağlanıp alkileşerek DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonunu bozar. Hücre siklusuna spesifik olmayan bir ilaçtır. Siklofosfamid'e bağlı nefrotoksisiteden nefronun tüm segmentleri etkilenir. En sık tübüler glikoz, aminoasit, protein, fosfat, bikarbonat kaybı ile karakterize proksimal tübül tutulumu görülür. Siklofosfamid'in en önemli yan etkisi hemorajik sistit'dir. Uzun süreli veya yüksek doz siklofosfamid tedavisinden sonra hastaların %40'ında

hemorajik sistit geliştiği bildirilmiştir. Siklofosfamid'in aktif metaboliti olan akrolein tarafından üriner epitelin hasar görmesi sonucu oluşur. Hemorajik sistit birkaç saat içinde gelişir ve tedaviyle 1-2 hafta içinde düzelir. Siklofosfamid'in metabolizma oranı, idrarın miktarı, sıklığı, diğer nefrotoksik ilaçlara ve genitoüriner radyasyona maruz kalma hemorajik sistit gelişimini artıran risk faktörleridir. Hematüri, dizüri ve poliüri gibi nonspesifik semptomları olan hastalarda tanı sistoskopi ile doğrulanabilir. Uzun dönem komplikasyonları ise mesane fibrozisi, üriner reflü ve transizyonel hücreli mesane tümörüdür. Siklofosfamid kullanan hastalarda sistit oranını azaltmak için mesane irrigasyonu, diüretiklerle birlikte intravenöz hidrasyon ve mesna kullanılabilir (56).

Mesna (2-merkpto-etan sülfonat) bir tiyol bileşiğidir. Mesnanın serbest sülfidril grupları siklofosfamidin toksik metabolitleri olan akrolein ve 4-hidroksiokzafosforinle çift bağ aracılığıyla birleşerek kararlı ve toksik olmayan bileşikler oluşturur. Toksik olmayan bileşiklerinin idrarla atılması çabuk olduğundan siklofosfamidin metabolitleri nefrotoksik etkilerini hızla kaybeder (57).



Sekil 6. Siklofosfamid yapısı ve metabolizması

Kemoterapiye Bağlı Gonadal Hasar ve Korunma Yolları

Kanser tedavisine bağlı olarak ortaya çıkan over yetmezliği hastayı hem menopoz, hem de infertilite riski ile karşı karşıya bırakmaktadır. Bu hastalar kemoradyoterapi ile sterilize olmasalar bile, erken gebelik kayıpları, prematür eylem ve düşük doğum ağırlığı riski ile karşı karşıya kalmaktadırlar (58). Kanser tedavisi öncesinde fertilitenin korunması medikal ve cerrahi yöntemler olarak iki grupta incelenir (59, 60).

1.2. Medikal Yöntemler

GnRH Analogları (löprolid, triptorelin):

Uzun etkili GnRH-gonadotropin analogları gonadotropinlerin baskılanmasına neden olarak, diferansiasyon aşamasına geçiş gösteren primordial follikül sayısını azaltır. GnRH analogları oluşturdukları hipoöstrojenik ortama sekonder over perfüzyonunun azalması, intragonadal antiapoptotik sphingosine-1-phosphate17 upregülasyonu, germ line mutasyonlara karşı protektif etkiler gibi farklı mekanizmalar ile KT alan hastalarda gonad fonksiyonlarının korunmasında en sık kullanılan ilaçlardır (61, 62).

GnRH Antagonistleri (antide, cetrorelix):

Her ne kadar yeni jenerasyon ilaçlar olarak başlangıçta ‘flare’ etkisinin bulunmaması nedeni ile daha avantajlı oldukları düşünülseler de ilk deneyimlerde bu ilaçlardan antide ile yapılan çalışmalarda primordial follikül sayısında belirgin bir azalma sağlanamamıştır (61). Cetrorelix’in ise ratlarda primordial folliküller üzerinde koruyucu etkisi olabileceği gösterilmiştir. Bu etki doza bağımlı olarak bulunmuştur (63).

Antioksidanlar: Amifostin (64), 2-merkaptetan sulfonat (65) gibi hücre koruyucu ve antioksidan özellikleri olan ilaçlar da KT hastalarında over koruyucu etkiye sahip olabilirler.

1.3. Cerrahi Yöntemler

Embriyo Kriyoprezervasyonu:

Embriyo kriyoprezervasyonu (dondurularak korunması) birçok IVF merkezi tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Embriyo kriyoprezervasyonu sitotoksik kanser tedavisi öncesi IVF siklusu için yeterli zaman varsa, hasta bir partnere sahipse

veya donör sperm kullanmayı kabul ediyorsa ilk seçenek olarak kullanılabilir. Embriyo kriyoprezervasyonu ile gebelik oranları birçok merkezde taze embriyolar ile elde edilen gebelik oranlarına yaklaşılmıştır. Dondurulmuş çözölmüş embriyoların transferi sonrasında kümülatif gebelik oranları %60'ı geçmektedir (66).

Ovaryan Doku Kriyoprezervasyonu:

Kortikal ovaryan fragmanlar pelvise, ön kol veya alt abdominal bölgede deri altına transplante edilebilir. Kriyoprezervasyon işleminden 6 yıl sonra kür olan bir meme kanseri hastasının, abdominal bölgesine subkütan olarak transplante edilen dondurulmuş-çözölmüş over dokusundan embriyo elde edilmiştir. Ancak bu embriyonun transferi gebelik ile sonuçlanmamıştır (67). Lenfoma hastalarında ovaryan transplantasyon sonrasında spontan olarak veya IVF ile gebelikler bildirilmiştir (68, 69).

Ovaryan Transpozisyon:

Ovaryan folliküller radyasyona ileri derecede duyarlıdır. Ovaryan hasar oranı ve buna bağlı olarak gelişen prematür over yetmezliği 18 riski hastanın yası ve overlerin maruz kaldığı radyasyon dozuna bağlı olmakla birlikte aynı anda verilen KT ile bu oran daha da artmaktadır.

KT almadan sadece pelvik radyoterapi alan hastalarda, overlerin radyoterapi alanının dışına taşınması gonadal fonksiyonları korumak için geçerli bir seçenektir. Ancak işlemin başarı oranı %16 ile %90 arasında değişmektedir. Başarısızlık nedenleri arasında radyasyon dozu, vasküler hasar, fallop tüplerinin infarktı, hasta yası ile overlerin işlem sırasında kursun levhalar ile korunup korunmaması önemlidir. Komplikasyonlar arasında overlerin eski bölgesine geri dönmesi, over bölgesinde ağrı, over kistlerinin oluşumu yer alır (70).

Vitamin D hem anti-proliferatif etkiyle hem de anjiyogenezi inhibe ederek hücrelerin apoptozisi ni engeller (71, 72). Ayrıca vitamin D, DNA'yı tamir eden genlerle, genomun bütünlüğünü sağlayan genlerin ekspresyonunu uyarmaktadır (73). Doksorubisin ve Siklofosfamid'in over dokusunda oluşturduğu hasar üzerine vitamin D in etkisi belli değildir

Vitamin D

D vitamini, kemik metabolizması ve nöromusküler fonksiyonlar için önemli rolleri olduğu bilinen steroid yapıda bir hormondur. Pek çok vertebralı, D vitamini

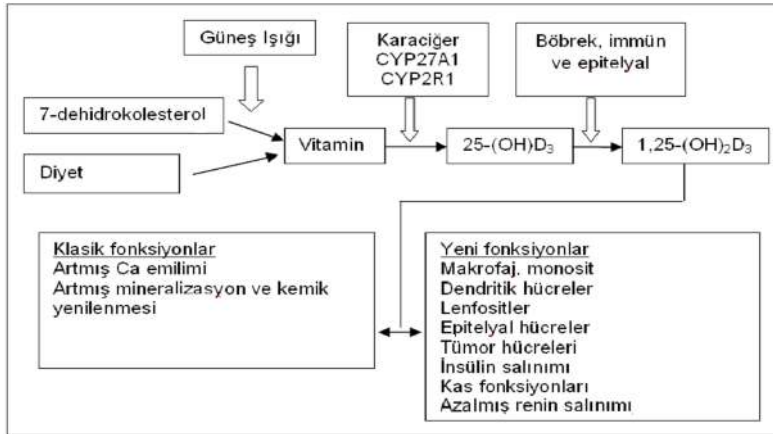
ihtiyacını yeterli güneş maruziyeti olduğu takdirde deriden fotokimyasal yolla sentezleyerek sağlar. Bu yüzden D vitamini gerçek bir vitamin değil bir prohormondur. D vitamini kalsiyum (Ca) ve fosforun (P) kan düzeylerinin düzenlenmesinde, kemik döngüsünün uygun biçimde devamının sağlanmasında gereklidir (74). Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Grubunun (NHANES) verilerine göre Amerika Birleşik Devletlerinde adölesan ve erişkinlerin ancak dörtte birinde vitamin D düzeyi yeterlidir. Ayrıca çocukların % 61'inde vitamin D yetersizliği mevcuttur (75). On üçüncü vitamin D çalışma raporuna göre Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'nın yaklaşık yarısında ve geri kalan dünyanın üçte ikisinde vitamin D eksikliği vardır (76). Bu veriler vitamin D eksikliğinin giderek artan önemini ortaya koymaktadır. D vitamini düzeylerinin kanda tespit edilebilmesini sağlayan teknik gelişmeler sonrası yapılan çalışmalarda, genel kanının aksine erişkin ve sağlıklı sayılan bireylerde de D vitamini eksikliğinin tahmin edilen düzeylerin çok üzerinde olduğu görülmüştür.

D vitamini eksikliği halinde oluşabilecek olumsuz sonuçlar göz önüne alındığında, sık görülen bu durumun aslında ciddi bir toplum sağlığı sorunu olduğu ortaya çıkmaktadır

Vitamin D Metabolizması

İnsanlarda vitamin D'nin iki şekli bulunur. Bunlar vitamin D2 (ergokalsiferol) ve vitamin D3'dür (kolekalsiferol). Vitamin D3 deride güneş ışınları ile 7-dehidrokolesterol'den elde edilir. 290-315 dalga boyundaki ultraviyole B güneş ışınları ile 7-dehidrokolesterol önce previtamin D3'e dönüştürülür. Daha sonra izomerizasyon ile previtamin D3'den vitamin D3 oluşur. Vitamin D3 dışarıdan diyetle özellikle yağlı balıklarla da alınır. Özellikle ringa balığı ve uskumru vitamin D3 açısından zengindir. Vitamin D2 ise bitkilerin güneş ışınları ile karşılaşması sonucu oluşur. 184 Güneş ışınları ile oluşan vitamin D3 gereksiniminin % 90-95'ini karşılar. Deriden sentez edilen ve besinlerle alınan D3 ve D2 vitaminleri karaciğerde 25-hidroksi vitamin D3 [25(OH)D3] ve 25-hidroksi vitamin D2'ye [25(OH)D2] dönüştürülür. 25(OH)D (kalsitriol) hem 25(OH)D3 ve 25(OH)D2'yi tanımlamak için kullanılır. Karaciğerde sentez edilen 25(OH)D vitamini D vitamini bağlayan proteine (DBP) bağlanarak böbrek dokusuna taşınır. DBP-25(OH)D vitamin kompleksi renal tübül hücrelerine girer ve burada serbest kalan 25(OH)D vitamini mitokondride

sitokrom P450 enzim sistemi birlikteliğinde 1- α -hidroksilaz enzimi ile aktif D vitamini olan 1-25(OH)₂D₃'ye dönüştürülür. Eğer 1-25(OH)₂D₃ yeterli ise 25(OH)D₃'nin bir kısmı 24-25(OH)₂D₃'ye dönüştürülür. Bu daha az aktiftir ve katabolize edilir. D vitamini bağlayan protein 25(OH)D₃, 1-25(OH)₂D₃ ve 24-25(OH)₂D₃ metabolitlerine yüksek afinite ile bağlanır ve aminoasit yapısı olarak albümine benzerdir (77, 78). Hücrelere taşınan aktif 1-25(OH)₂D₃ hücre içerisinde iki yolak ile işlevsellik kazanır. Bunlar “genomik” ve “nongenomik” yolak olarak adlandırılır. Genomik yolda DBP'lerle dokulara taşınan 1-25(OH)₂D₃ hücre içine girerek vitamin D reseptörü 27 (VDR) ile kompleks yapar. Bu kompleks retinoik asit X-reseptörünü de yanına alarak üçlü kompleks halinde belirli DNA bölgelerine bağlanır. Üçlü kompleks bazı genlerin (osteokalsin, kalsiyum bağlayan protein, 24-hidroksilaz) transkripte olmasına neden olurken bazı genlerin ise (enflamatuar genler, IL-2, IL-12) transkripsiyonunu azaltır. Non-genomik yolda ise D vitamini plazma membranındaki VDR reseptörlerine bağlanarak sitoplazma içerisinde ikincil mesaj yollarını aktive eder. Bu yolak sonucunda hücre membranındaki kalsiyum kanalları aktive edilir. Non-genomik yolak daha çok pankreas beta hücrelerinde, düz kas hücrelerinde, kalp kası hücrelerinde bağırsak hücrelerinde ve monositlerde aktiftir. Bu yolağın psöriazis, tip I diyabet, romatoid artrit, multipl skleroz, Crohn hastalığı, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı sık görülen kanserlerin gelişimi ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir. (77,78). Vitamin D yolağı Şekil 7'de gösterilmektedir.



Şekil 7. Vitamin D fonksiyonları

Vitamin D'nin Kemik Metabolizması Dışındaki Etkileri

Vücutta çoğu doku ve hücrelerin 1,25(OH)2D bulundurmasının anlaşılmasıyla, vitamin D'nin pek çok biyolojik fonksiyonları araştırılmaya başlanmıştır. Bağırsaklar, böbrekler ve kemik dokusu vitamin D metabolizmasının yer aldığı esas organlardır. Bununla birlikte hemen her hücrede (beyin, kalp, mide, pankreas, deri, meme, gonadlar, T ve B lenfositleri, monositler vs.) VDR vardır. D vitamini hem kalsiyum metabolizması hem de iskelet dışı etkilerini VDR aracılığı ile yapar. Ayrıca 25(OH)D'nin böbrek dışı dokularda 1- α hidroksilaz enzimi ile 1,25(OH)2D'ye dönüşebildiği gösterilmiştir. Tüm bu veriler D vitamininin parakrin ve otokrin düzenleyici özellikleri olduğunu göstermektedir (77). Ayrıca direk ya da indirekt olarak 1,25(OH)2D, hücre proliferasyonunun, diferansiyasyonunun ve apoptozisinin regülasyonunda görev alan genleri kontrol eder. Aynı zamanda adaptif immün sistemin güçlü bir immün düzenleyicisidir. Enfeksiyonlara karşı doğal immün cevabın uyarılmasında rol oynar. Vitamin D'nin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, psöriasis, multipl skleroz, tip I diyabet ve metabolik sendrom gelişimi üzerine etkileri yanında diğer bazı otoimmün hastalıkların gelişimi ile de ilgisi olabileceği ileri sürülmektedir. İmmün işlev bozukluğunun ön planda olduğu bu hastalıklar romatoid artrit, enflamatuvar bağırsak hastalığı, sistemik lupus eritematozis, osteoartrit ve periodontal hastalıklardır (77-82). Vitamin D'nin klasik ve yeni fonksiyonları Şekil 7'da, ilişkilendirildiği hastalıklar ise Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Vitamin D'nin Kemik Dışı Etkileri

İmmünolojik Etkileri
Enfeksiyon hastalıkları üzerindeki etkisi
Oto-immün hastalıklar üzerindeki etkisi
Kanser üzerindeki etkisi
Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM) üzerindeki etkisi
Kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkisi
KOAH üzerindeki etkisi
Astım üzerindeki etkisi

Vitamin D'nin Kanser Üzerine Etkileri

Biçimlendirilmiş: Normal, İki Yana Yasla, Satır aralığı: 1,5 satır

Ekvatordan uzaklaştıkça, kanser riskinde ve insidansında artış gözlemlenmiştir (83). Ayrıca yaz aylarında tanı alan kanserlerin, sağ kalımlarının daha da iyi olduğu gösterilmiştir (84). Kanser gelişme riskinin artmasının ve daha yüksek enlemlerde daha kötü prognoza sahip olmasının en olası açıklaması vitamin D eksikliğidir (85). 1,25(OH)2D'nin kansere karşı koruyucu etkisini, hem anti-proliferatif etkiyle hem de hücrelerin differansiyasyonunu düzenleyerek gösterdiği düşünülmektedir. Vitamin D aynı zamanda tümörün yayılımını kolaylaştıran telomeraz ekspresyonunu, apoptozisi ve anjiyogenezi inhibe etmektedir (87-89). Ayrıca vitamin D, DNA'yı tamir eden genlerle, genomun bütünlüğünü sağlayan genlerin ekspresyonunu uyarmaktadır. 90 233 Kolon, meme, over ve prostat kanserleri vitamin D eksikliği ile ilişkili bulunmuştur. Vitamin D alımının artmasıyla hem meme hem de kolon kanseri riskinde % 50, prostat kanseri riskinde % 49 ve over kanseri riskinde ise % 36 azalma tespit edilmiştir (88).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya başlamadan önce Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan onam alındı. Çalışma için gerekli hayvanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Deney, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Otuz altı adet düzenli sıklusa sahip, 200±40 gram ağırlığında, 12 haftalık, erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat alındı. 12 saat ışık (08- 20), 12 saat karanlık foto-periyodunda ve 21- 23 C° sabit sıcaklıktaki odada, standart pellet yemi ve şehir suyu ile beslendi. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde rastgele, prospektif olarak 6 gruba ayrıldı;

Grup 1 (Kontrol grubu); Deney süresi olan 7 gün boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup 2 (Doksorubisin); Doksorubisin 10 mg/kg/tek doz intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı.

Grup 3 (Doksorubisin + Vit D grubu); Doksorubisin 10 mg/kg/tek doz i.p verildikten sonra deney süresince vitamin D 50 IU/rat/gün oral olarak verildi.

Grup 4 (Siklofosfamid grubu); Siklofosfamid 100 mg/kg/tek doz intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı.

Grup 5 (Siklofosfamid + Vit D grubu); Siklofosfamid 100 mg/kg/tek doz intraperitoneal (i.p) olarak verildikten sonra deney süresince vitamin D 50 IU/rat/gün oral olarak verildi.

Grup 6 (Vit D grubu); Deney süresince sadece vitamin D 50 IU/rat/gün oral olarak verildi.

7. gün sonunda tüm gruplardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların over dokuları hızla çıkarılıp (Şekil 8) uygun fiksatiflerle tespit edilip ardından parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitlere Masson-Trikrom ve Hematoksilen-eozin-ile boyaları uygulanıp, araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelendi. Gruplara göre histopatolojik değişiklikler kaydedildi, matür folliküller sayıldı. Masson-Trikrom boyamada; fibrozis ve korpus luteum angiogenezi -0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı. (yok=0, az =+1, orta =+2, şiddetli =+3).



Sekil 8. Rat overlerinin çıkarılması

2.1. İstatistiksel değerlendirme:

Verilerin analizinde “SPSS for Windows 10.0” istatistik paket programı kullanıldı. ~~miştir. Karşılaştırmalarda, Mann Whitney U, Ki-kare ve Fisher exact test’leri ile grup karşılaştırmaları yapıldı. kullanılmıştır.~~ $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. ~~miştir.~~

3. BULGULAR

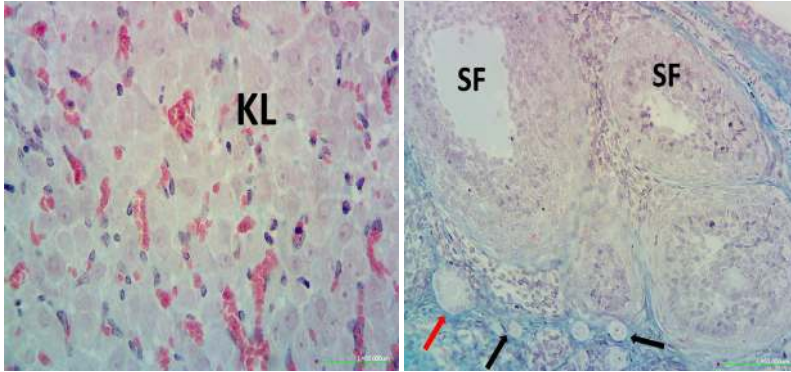
Yaş ve ağırlık için yapılan karşılaştırmalı istatistiksel analizlerde hayvanların yaşları ve ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 2. Yaş ve ağırlıkların gruplar arasında dağılımı

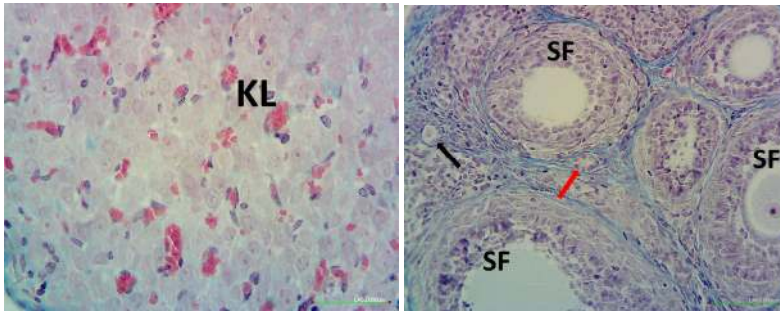
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	p
Yaş (Gün)	180.6 ± 10.1	180.6±10.09	180.3±13.2	180.6±11.1	180.5 ±10.	180.5±10.1	0.68
Ağırlık (Gram)	198.75 ± 7.46	197.36 ± 7.66	188.75 ± 6.53	188.84 ± 7.53	189.68 ± 7.64	195.75 ± 6.53	0.97

3.1. Histolojik Bulgular

Masson's trichrome ile boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol (Şekil 9) ve vit D (Şekil 2a, 2b10) grubuna ait over dokuları normal görünümdeydi.

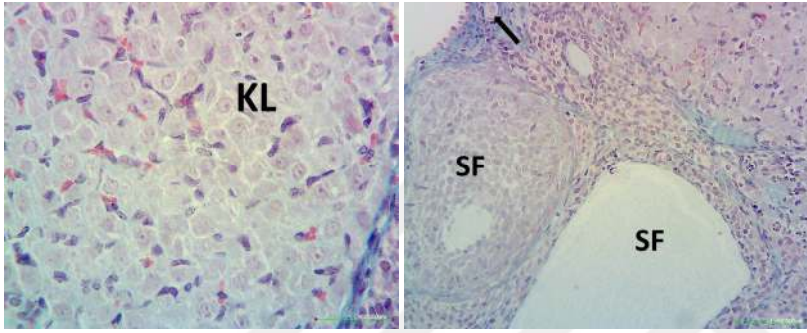


Şekil 9. Normal over dokuları

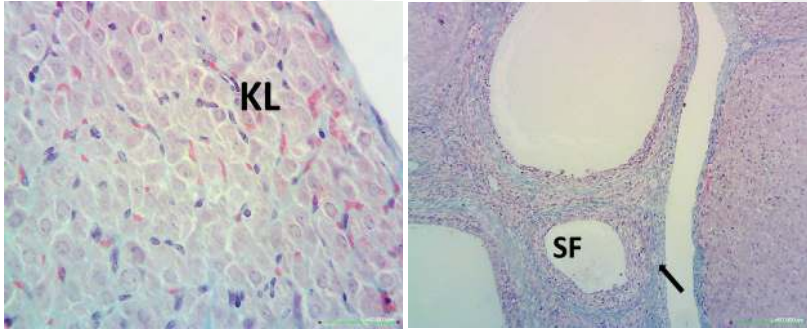


Şekil 10. Vit D Normal over dokuları

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında dokso~~ru~~rubisin grubunda (Şekil 11) fibrozisde bir değişiklik olmamakla beraber_korpus luteum (KL) angiogenezinde gerileme belirgin olarak artmıştı. Dokso~~ru~~rubisin grubu ile karşılaştırıldığında dokso~~ru~~rubisin + vit D grubunda (Şekil 12)_korpus luteum (KL) angiogenezinde artma izlenmedi.

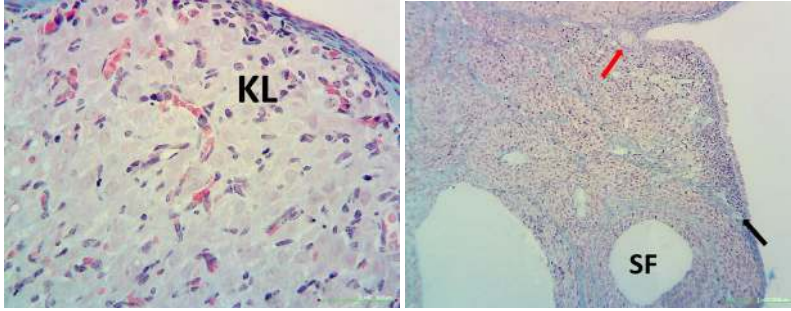


Şekil 11. Dokso~~ru~~rubisin~~Doksorubisin~~ grubu

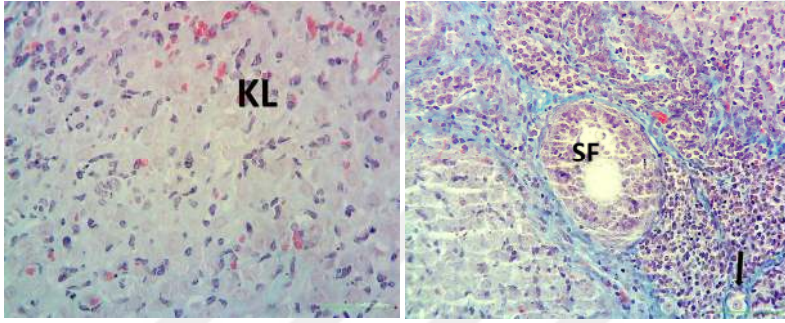


Şekil 12. Dokso~~ru~~rubisin + Vit D grubu

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Siklo~~fos~~famid grubunda (Şekil 13) fibrozisde bir değişiklik olmamakla beraber_korpus luteum (KL) angiogenezinde gerileme belirgin olarak artmıştı. Siklo~~fos~~famid grubu ile karşılaştırıldığında Siklo~~fos~~famid + vit D grubunda (Şekil 146a, 6b)_korpus luteum (KL) angiogenezinde bir değişiklik izlenmedi.



Şekil 13. Siklofosfamid grubu



Şekil 14. Siklofosfamid + vit D grubunda

Ayrıca tüm gruplara ait over dokularında pPrimordiyal follikül (siyah ok), pPrimer follikül (kırmızı ok), sSekonder follikül (SF) ve tTersiyer follikül sayılarak over rezervi belirlendi. Over rezervi için yapılan sayımda kontrol grubu ile vit D grubu benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, doksoerubisein ve Siklofosfamid gruplarında over rezervinin belirgin olarak azaldığı tespit edildi. Tedavi olarak verilen vitamin D'nin doksoerubisein ve sSiklofosfamid gruplarında over rezervini ni etkilemediği gözlemlendi. (-Skala bar: 50µm).

4. TARTIŞMA

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2008 yılında kansere yakalanan kadın sayısının yaklaşık 700.000 olduğu tahmin edilmektedir (48). Ülkemizde de kanser hastalıklarının çok önemli bir sağlık sorunu olduğuna şüphe yoktur. 05.01.2006 yılında Tarhinde toplanan Sağlık Bakanlığı Epidemiyoloji ve Kanser Kayıt Alt Danışma Kurulu'nda aktif kKanser kKayıt sistemi ilçeği yapan 14 ilden 8 ilin kanser verilerinin yayınlanmasına karar verilmiştir. Bu iller Ankara, Antalya, Samsun, Erzurum, Trabzon, İzmir, Edirne ve Eskişehir'dir. 2005 yılında Türkiye nüfusu 72 milyon 65 bin olarak belirlenmiştir. Bu 8 ilin toplam nüfusu 14.273.465 olarak hesaplanmış olup toplam nüfusun yaklaşık %20 sini temsil etmektedirler. Bu oran sağlıklı bir istatistik vermek için yeterli gibi görülmektedir. Buna göre 1999-2005 yılları arasında kanser insidansı yaklaşık 100 binde 58 den 100 binde 173'e çıkmıştır. Kadınlarda en fazla görülen 5 kanser türü sırasıyla (yüz binde) meme (35.4), deri (17.8), tiroit (8.4), akciğer ve bronş (7.2), ve mide (2,91.)'dir. Yıllar içinde tüm illerden bilgi akışı sağlandıkça daha sağlıklı ve güncel kanser verilerine ulaşılacaktır. Yeni kombinasyon kemoterapileri ve radyoterapi rejimlerinin üreme sistemi üzerine önemli olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Bu negatif etkinin boyutu tedavinin sitotoksik potansiyeli, dozu, süresi ve hastanın yaşına bağlı olarak değişebilmektedir. Prematür over yetmezliği dışında uzun dönemli olarak bu hastaların gebeliklerinde kötü obstetrik sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Bunlara örnek olarak preterm eylem, düşükler, düşük ve çok düşük ağırlıklı bebek doğumları sayılabilir (67). Ovaryan rezervi primordiyal folliküllerin sayısı tarafından belirlenir. Özellikle primordiyal follikülleri hedefleyen herhangi bir toksik etki reproduktif yaşam aralığını kısaltabilir. Bunun yanı sıra prematür over yetmezliği oluşumunu indüklemeye riski de daha yüksektir. Prematür ovaryan yetmezliğin altında, mekanizma olarak ise germ hücrelerinin prematür, kitlesel ve hızlı ölümü (apoptosis) yatar. Oositi çevreleyen steroid üreten somatik hücre katmanlarına (granüloza ve teka hücreleri) toksik etkide bunlara neden olabilir (68). Giderek artan bir ilgiyle, 40 yaş altı kadınlarda anti kanser tedavi sonrası fertilitenin korunması konusu çalışılmaktadır. Genç kanser hastalarının fertilitelerinin korunması konusunda Amerikan Klinik Onkoloji kurumu bir kılavuz yayınlamıştır. Başka kurumlar da bu konuda teşvik edici yayınlar yapmaktadır (69, 70). Esas olarak kanser

kemoterapilerinin amacı hücre ölümünü apoptozis yolu ile uyarmaktır. Bu etki tüm vücutta olduğu gibi overde de apoptozisin uyarılması şeklindedir (92).

Kemoterapi ve radyoterapinin over dokusu üzerindeki uzun dönem etkisi, infertiliteye neden olan azalmış ovaryan rezerv ve prematür ovaryan yetmezliktir. Ovaryan rezervin göstergesi primordial follikül sayısıdır. Kemoterapi ile indüklenmiş ovaryan hasarın ultrastrüktürel göstergesi yaygın follikül kaybı ve ovaryan fibrozistir. Bununla birlikte kanser tedavilerinin ovaryan stromal hücrelere etkisi de önemlidir. Ovaryan stromal hücreler endokrin fonksiyon görür ve büyük olasılıkla kemoterapi sonrası hasarın tamirinde rol oynar (50). Kemoterapi sonrası ovaryan yetmezliğe etki eden faktörler arasında hasta yaşı, kemoterapi ajanının türü, ilacın kümülatif dozu ve kemoterapi öncesi ovaryan rezerv durumu sayılabilir. Yaşlı hastalarda ovaryan yetmezlik gelişmesi, aynı doz kemoterapi alan genç hastalara göre daha olasıdır. Örneğin ovaryan yetmezliğe sebep olacak kümülatif siklofosfamid dozu 40'lı yaşlardaki bir hasta için 5,2 gr iken 30'lu yaşlarda 9,3 gr, 20'li yaşlarda 20,4 gr olmaktadır (45-51).

Alkilleyici ajanlar en yüksek follikül kaybına sebep olmaktadır. Hücre siklusuna spesifik değildir yani hücre bölünme sırasında olmasalar da tek sarmal yada çift sarmal DNA kırıklarına neden olarak etki gösterirler. Folliküler hasar yanında, DNA cross-link oluşturarak, steroid sentezinin azalmasıyla karakterize yaygın granuloza hücre hasarına da neden olurlar (48-52). Bu grubun üyesi olan N-mustardlardan olan Siklofosfamid birçok antikanser protokolda kullanılmaktadır (2, 49, 50). Bu, her yıl birçok kadının siklofosfamid nedenli ovaryan yetmezliğe girdiği anlamına gelir. Kanser sağ kalım oranlarının arttığı düşünülürse bu kadınların fertilité koruyucu yöntemlere yöneleceği açıktır (48, 50). Bu yöntemlerden kriyoprezervasyon yöntemleri, ovaryan transpozisyon işlemleri bilinmektedir. Üzerinde çalışmalar yürütülen alternatiflerden birisi de apoptozis inhibitörleridir (50). Biz de çalışmamızda Siklofosfamid verilen grupta follikül sayısında belirgin derecede folliküllerde sayıya azalma ve dejenere olmuş follikülleri yaygın olarak izledik. Öktem ve ark, yaptıkları ovaryan xenograft modelinde; tek doz 200 mg/kg siklofosfamid uygulanması ile 72 saat içerisinde bütün primordiyal follikülerin % 97' sinin kaybolduğunu ve follikül kaybının ilaç enjeksiyonunu takiben on iki saat gibi kısa bir süre zarfında başladığını göstermişlerdir (92). Biz

~~dein~~ çalışmamızda, bu çalışmayla uyumlu olacak şekilde, siklofosfamide verilen grupta ilk yedi günde over rezervinin %80 etkilendiğini izledik.

~~Adriamisin~~Doksorubisin, —antrasiklin grubu antibiyotikler olarak sınıflandırılır. Antrasiklinlerin hücre tipine göre değişen etkileri vardır. Bu etkiler en belirgin siklusun S ve G2 fazlarında görülür. Bu ilaçlar seçicilik göstermeksizin birbirine yakın baz çiftleri arasına girerek DNA ve RNA sentezini engellerler (54). Doksorubisin~~Adriamisin~~, en önemli ve en sık kullanılan kemoterapötik ilaçlardan birisidir. Sarkomların, meme ve akciğer kanserleri de dahil olmak üzere karsinomların, akut lenfositik lösemilerin ve lenfomaların tedavisinde kullanılmaktadır. Doksorubisin ~~Adriamisin~~ akut lenfositik ve myelositik lösemilerin tedavisinde kullanılmaktadır (55). Doksorubisin’ in ~~Adriamisin~~ over rezervine olumsuz etkileri mevcuttur. Biz de çalışmamızda Doksorubisin ~~Adriamisin~~ verilen grupta folliküllerde sayıca azalma ve dejenere follikülleri yaygın olarak izledik ve bunlarda tunel metodu ile apoptozisin yaygın olduğunu gördük.

Kanser tedavisine bağlı olarak ortaya çıkan over yetmezliği hastayı hem menopoz, hem de infertilite riski ile karşı karşıya bırakmaktadır. Bu hastalar kemoradyoterapi ile sterilize olmasalar bile, erken gebelik kayıpları, prematür eylem ve düşük doğum ağırlığı riski ile karşı karşıya kalmaktadırlar (58). Kanser tedavisi öncesinde ve sonrasında fertilitenin korunması için medikal ve cerrahi yöntemler mevcuttur. Fakat bunların tam koruyucu etkileri net değildir. (59, 60). Uzun etkili gonadotropin analogları, ~~(61, 62)~~, GnRH ~~a~~Antagonistleri~~(63)~~, ~~a~~Antioksidanlar~~(65)~~ over rezervini ~~iyileştirmek~~ korumak amaçlı kullanılmaktadır ~~(61, 62, 63, 65)~~.

~~Çok sayıda epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda, k~~Kanser~~in~~ önlenmesi ve ~~bazı kanser tiplerinin tedavisinde~~ (kolorektal, meme, prostat, ~~overyumurtalık~~, mesane, akciğer, deri kanserleri ve ~~lösemi~~)~~eu kemia tedavisinde~~ vitamin D bileşiklerinin vitamin D-in bileşiklerinin önemli bir role sahip olduğu, bir çok epidemiyolojik ve klinik çalışmada gösterilmiştir, bir rolü olduğunu desteklemektedir Vitamin D hem anti-proliferatif etkiyle, hem de anjiyogenezi inhibe ederek hücrelerin apoptozisini engeller (71-73). Vitamin D aynı zamanda tümörün yayılımını kolaylaştıran telomerez ekspresyonunu, apoptozisi ve anjiyogenezi inhibe etmektedir (87-89). Ayrıca vitamin D, DNA’yı tamir eden genlerle, genomun bütünlüğünü sağlayan genlerin ekspresyonunu uyarmaktadır. ~~(89)~~. Ratlar üzerinde

yapılan bir çalışmada hormona duyarlı meme kanseri tedavisinde Vitamin D'nin tümörün ilerlemesini engellediği gösterilmiştir (93). Ratlarda oluşturulan barsak tümörlerinin gelişiminin engellenmesinde de vitamin D'nin olumlu etkileri Vitamin D'nin olumlu etkileri bildirilmiştir (94). Bizim çalışmamızda, Doksorubisin ve Siklofosfamid verilen grupta da Vit D'nin over rezervini korumada olumlu etkisi görülmedi. Kılıç ve ark. (95) siklofosfamide verilen ratlarda ovaryen toksitenin azaltılmasında kemik iliğinden alınan mezenkimal kök hücrelerin olumlu etkisini göstermişlerdir (95). Bu olumlu etkileri, özellikle DNA hasarının engellenmesi ve apoptozisin azaltılmasına bağlamışlardır. olarak yorumlamışlardır. Gürgen ve ark. (96) siklofosfamide verilen ratlarda selenyumun ovaryen toksitenin azaltılmasında olumlu etkisini göstermişlerdir (96). Wietrzyk ve ark. (97) farelerde verilen yeni vitamin D analoglarının sitotoksik etkileri önleyemediğini saptamışlardır (97).

Kanser hastalarında, fertilitenin korunmasında apoptozis inhibitörleri, etkili olabileceği düşünülen, ancak deneysel ve klinik bilginin henüz yeterli olmadığı bir konudur. Biz çalışmamızda, Vitamin D ek dozunun uygulamasının, Siklofosfamid ve Doksorubisin'in sitotoksik etkisini önleyemediğini gördük.

5. KAYNAKLAR

1. Berek SJ. Novak Jinekoloji. 13.Baskı. Nobel Yayınevi. 2004; 101: 164-169.
2. Çiçek N-M, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 2006; 1413-1435.
3. Sadler TW. Urogenital System. Langman's Medical Embryology. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins. 1985: 247-80
4. Quigley MM, Gwatkin RBL. Embriyoloji ve kadın üreme sisteminin gelişim bozuklukları. Scott JR, Disaia PJ, Hammond CB. Danforth Obstetrik ve Jinekoloji. JB Lippincot Co (Çeviri ed: Erez S, Erez R. Yüce A) Philedelphia: 1994: 11-27.
5. Gilbert SF. Induction and the origins of developmental genetics. Dev Biol 991; 7: 181-206.
6. Gondos B, Westergard L, Byskov A. Initiation of oogenesis in the human fetal ovary: ultrastructural and squash preperation study. Am J Obstet Gynecol 986; 155: 189- 195.
7. Baker TG. Gametogenesis. Acta Endocrinol Suppl (Copenh) 1972; 166: 18-41.
8. Gökmen O, Zeyneloğlu HB. Over embriyolojisi ve gelişimi. Speroff L, Glass RH, Kase NG (eds). Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite. Williams and Wilkins. Baltimore, (Çeviri ed: Ahmet Erk). S. 93-107 İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996.
9. Bacharova R. Gene expression during oogenesis and oocyte development in mammals. Broder LW (ed). Developmental biology: a comprehensive synthesis. New York: Plenum Pres, 1985: 453-468.
10. Tilly JL, Kowalski KI, Schomberg DW. Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in Messenger RNA transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. Endocrinology 1992; 131: 1670-1676.
11. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. Hum reprod 1986; 1: 81-87.
12. Ryan KJ, Petro Z. Steroid biosynthesis of human ovarian granulosa and thecal cells. J Clin Endocrinol Metab 1966; 26: 46-52.

13. Kobayashi M, Nakano R, Ooshima A. Immunohistochemical localisation of pituitary gonadotropin and gonadal steroids confirms the two cells two gonadotropins hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. *J Endocrinol* 1990; 126: 483-488.
14. Young SR, Jaffe RB. Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. 2. effects of varying concentrations of estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42: 432-442.
15. Speroff L, Fritz AM. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite. Yedinci baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2007: 188-225.
16. Buckler HM, Healy DL, Burger HG. Purified FSH stimulates inhibin production from the human ovary. *J Endocrinol* 1989; 122: 279-285.
17. Adashi EY. Putative intraovarian regulators. *Semin Reprod Endocrinol* 1988; 7: 1-100.
18. Lass A. Assessment of ovarian reserve is there a role for ovarian biopsy? *Hum Reprod* 2001; 16: 1055-1057.
19. Seifer DB, Lambert-Masserlian G, Hogan JW. Day 3 serum inhibin – B is predictive of assisted reproductive Technologies outcome. *Fertil Steril* 1997; 67: 110-114.
20. Sharara FI, Scott RT, Seifer DB. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *Am J Obstet Gynecol*. 1998; 179: 804-812.
21. Barnhart K and Osheroff J. We are over interpreting the predictive value of serum follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1999; 72: 8-9.
22. Marcus SF and Brinsden PR. In - vitro fertilization and embryo transfer in women aged 40 years and over. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 459-468.
23. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod*. 2001; 7: 581-590.
24. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7: 1342-1346.
25. McKinlay SM, Brambilla DJ, Posner JG. The normal menopausal transition. *Maturitas*. 1992; 14: 103-115.

Değiştirilmiş Alan Kodu

26. Licciardi FL, Hung- Ching L, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in-vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992; 64: 991-994.
27. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle- stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997; 68: 272-277.
28. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64: 1136- 40.
29. Soules MR, Battaglia DE, Klein NA. Inhibin and reproductive aging in women. *Maturitas* 1998; 30: 193-204.
30. Danforth DR, Arbogast LK, Mroueh J. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging. *Fertil Steril* 1998; 70: 119-123.
31. Picard JY, Josso N. Purification of testicular anti-Müllerian hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Mol Cell Endocrinol* 1984; 34: 23-29.
32. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr Rev* 2001; 22: 657-674.
33. Picard JY, Benarous R, Guerrier D, Josso N, Kahn A. Cloning and expression of cDNA for anti-müllerian hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5464- 5468.
34. Picon R. Action of the fetal testis on the development in vitro of the Müllerian ducts in the rat. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 1969; 58: 1-19.
35. Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME. Serum mullerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil Steril* 2000; 73: 859–8561.
36. van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002; 17: 3065–3071.
37. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth E. Prognostic assesment of female fecundity. *Lancet*. 1989; 2: 645-647.

38. Loumaye E, Billion JM, Mine JM. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril* 1990; 53: 295-301.
39. Winslow K L, Toner JP, Brzyski RG, Oehninger S. The gonadotropin-releasing hormone agonist stimulation test-a sensitive predictor of performance in the flare up in vitro fertilization cycle. *Fertil Steril* 1991; 56: 711-717.
40. Kahraman S, Yakin K. Ovulasyon İndüksiyonu 2000: 24-32.
41. Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable screening test for detecting poor responders in in- vitro fertilization. *Hum Reprod* 1994; 9: 1607-1611.
42. Bongso A. Handbook on Blastocyst Culture 1999: 13-21.
43. Ivarson SA, Nilsson KO, Persson PH. Ultrasonography of the pelvic organs in prepubertal and postpubertal girls. *Arch Dis Child* 1983; 58: 352-354.
44. Andolf E, Jorgensen C, Svalenius E, Sundén B. Ultrasound measurement of the ovarian volume. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 387-389.
45. Higgins RV, van Nagell JR Jr, Donaldson ES, Gallion HH, Pavlik EJ, Endicott B, Woods CH. Transvaginal sonography as a screening method for ovarian cancer. *Gynecol Oncology* 1989; 34: 402-406.
46. Lass A. Assessment of ovarian reserve: is there still a role for ovarian biopsy in the light of new data? *Hum Reprod* 2004; 19: 467-469.
47. Lambalk CB, de Koning CH, Flett A, Van Kasteren Y, Gosden R, Homburg R. Assessment of ovarian reserve. Ovarian biopsy is not a valid method for the prediction of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004; 19: 1055-1059.
48. Sonmezer M, Oktay K. Assisted reproduction and fertility preservation techniques in cancer patients. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15: 514-522.
49. Oktem O, Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer* 2007; 110: 2222-2229.

50. Oktay K, Sonmezer M. Chemotherapy and amenorrhea: risks and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008; 20: 408–415.
51. Koyama H, Wada T, Nishizawa Y. Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 1977; 39: 1403– 1409.
52. Maltaris T, Seufert R, Fischl F, Schaffrath M. The effect of cancer treatment on female fertility and strategies for preserving fertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 130: 148–155.
53. Atagündüz P. Antikanser ilaçlar. Oktay (ed). *Farmakoloji (Çeviri)*. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1998: 373-400.
54. Rajagopalan S, Politi PM, Sinha BK, Myers CE. Adriamycin-induced free radical formation in the perfused rat heart: implications for cardiotoxicity. *Cancer Res* 1988; 48: 4766-4769.
55. Kayaalp O. İmmün sistem bozuklukları ve immünomodülatör ilaçlar, Ankara, 2005.
56. Yagoda A, Mukherji B, Young C, Etcubanas E, Lamonte C, Smith JR, et al. Bleomycin, an antitumor antibiotic. Clinical experience in 274 patients. *Ann Intern Med* 1972; 77: 861-870.
57. Keefe DL. Anthracycline-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol* 2001; 28: 2-7.
58. Chiarelli AM, Marrett LD, Darlington GA. Pregnancy outcomes in females after treatment for childhood cancer. *Epidemiology* 2000; 11: 161-166.
59. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 251-266.
60. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in young women undergoing breast cancer therapy. *Oncologist* 2006; 11; 422-434.
61. Blumenfeld Z. How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embryos, oocytes, or ovaries. *Oncologist* 2007; 12: 1044-1054.
62. Azem F, Samara N, Cohen T, Ben-Yosef D, Almog B, Lessing JB, Goor O, Amit A. Assessment of ovarian reserve following ovarian tissue banking and/or GnRH-a co-

- treatment prior to chemotherapy in patients with Hodgkin's disease. *J Assist Reprod Genet* 2008; 25: 535-538.
63. Meior D, Assad G, Dor J, Rabinovici J. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. *Hum Reprod* 2004; 19: 1294-1299.
 64. Lirdi LC, Stumpp T, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. Amifostine protective effect on cisplatin-treated rat testis. *Anat Rec (Hoboken)* 2008; 291: 797-808.
 65. Yeh J, Kim BS, Peresie J. Protection against cisplatin-induced ovarian damage by the antioxidant sodium 2-mercaptoethanesulfonate (mesna) in female rats. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 461-466.
 66. Baravalle C, Salvetti NR, Mira GA, Pezzone N, Ortega HH. Microscopic characterization of follicular structures in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in the rat. *Arch Med Res* 2006; 37: 830-839.
 67. Stankiewicz A, Skrzydlewska E, Makiela M. Effects of amifostine on liver oxidative stress caused by cyclophosphamide administration to rats. *Drug Metabol Drug Interact* 2002; 19: 67-82.
 68. Injac R, Perse M, Obermajer N, Djordjevic-Milic V, Prijatelj M, Djordjevic A, et al. Potential hepatoprotective effects of fullereneol C₆₀(OH)₂₄ in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas. *Biomaterials* 2008; 29: 3451-3460.
 69. Kim C, Kim N, Joo H, Youm JB, Park WS, Cuong DV, et al. Modulation by melatonin of the cardiotoxic and antitumor activities of adriamycin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 200-210.
 70. Della Torre P, Mazue G, Podesta A, Moneta D, Sammartini U, Imondi AR. Protection against doxorubicin-induced cardiotoxicity in weanling rats by dexrazoxane. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999; 43: 151-156.
 71. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1420-1425.

72. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1586-1591.
73. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 708-711.
74. Arslan D. Yaşlılarda Oral Ve Parenteral D Vitamininin Etkisi: Prospektif Çift Kör Lasebo Kontrollü Çalışma. Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı, 2007.
75. Searing DA, Leung DYM. Vitamin D in atopic dermatitis, asthma and allergic diseases. *Immunol Allergy Clin N Am* 2010; 30: 397-409.
76. Norman AW, Bouillon R, Whiting SJ, Veith R, Kips P. 13Th Workshop consensus for vitamin D nutritional guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 103: 204-205.
77. Dursun A. D vitamininin kemik metabolizması dışındaki etkileri. *Beslenmede Yenilikler I- II, Katkı Pediatri Dergisi* 2007; 28: 225-234.
78. Bringham FR, Demoy MB, Kronenberg HM. Vitamin D. *Williams Textbook of Endocrinology* (Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS ed). TenTh edition. Philadelphia, Saunders Elsevier 2003; 1317-1323.
79. Bosse Y, Lemire A. Asthma and genes encoding components of The vitamin D pathway. *Respiratory Research* 2009; 10: 98 doi: 10.1186/1465-9921-10-98.
80. Özkan B, Döneray H. Vitamin D eksikliğine bağlı rikets. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2008; 4: 38-44.
81. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1678-1688.
82. Erçin S. 1-24 ay sağlıklı süt çocuklarında serum 25-OHD düzeyi. Uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği, İstanbul, 2008.
83. Freedman DM, Looker AC, Chang SC. Prospective study of serum vitamin D and cancer mortality in The United States. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1594-1602.

84. Lim HS, Roychoudhuri R, Peto J. Cancer survival is dependent on season of diagnosis and sunlight exposure. *Int J Cancer* 2006; 119: 1530-1536.
85. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer Therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 684-700.
86. Tavera-Mendoza LE, White JH. Cell defenses and The sunshine vitamin. *Sci Am* 2007; 297: 62-65.
87. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1420-1425.
88. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1586-1591.
89. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 708-711.
90. Stajner I. Season of breast cancer diagnosis and probability in The United States. *Int J Cancer* 2010; 126: 3010-3013.
91. Sekhon B, Sekhon c, Khan M, Patel SJ, Singh I, Singh AK. N-Acetyl cysteine protects against injury in a rat model of focal cerebral ischemia *Brain Res* 2003; 2; 97: 1-8.
92. Oktem O, Oktay K. A Novel Ovarian Xenografting Model to Characterize the Impact of Chemotherapy Agents on Human Primordial Follicle Reserve. *Cancer Resarch* 2007; 67: 21-28
93. Colston KW, Berger U, Coombes RC. Possible role for vitamin D in controlling breast cancer cell proliferation. *Lancet* 1989; 28: 188-191.
94. Otoshi T, Iwata H, Kitano M, Nishizawa Y, Morii H, Yano Y, Otani S, Fukushima S. Inhibition of intestinal tumor development in rat multi-organ carcinogenesis and aberrant crypt foci in rat colon carcinogenesis by 22-oxa-calcitriol, a synthetic analogue of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2091-2097.

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Biçimlendirildi: Varsayılan Paragraf Yazı Tipi, Yazı tipi: (Varsayılan) Calibri, Yazı tipi rengi: Otomatik

Değiştirilmiş Alan Kodu

Biçimlendirildi: Yazı tipi: (Varsayılan) Times New Roman, 11 nk

95. Kilic S, Pinarli F, Ozogul C, Tasdemir N, Naz Sarac G, Delibasi T. Protection from cyclophosphamide-induced ovarian damage with bone marrow-derived mesenchymal stem cells during puberty. *Gynecol Endocrinol* 2014; 30: 135-40
96. Grgen SG, Erdoğan D, Elmas C, Kaplanoğlu GT, Ozer C. Chemoprotective effect of ascorbic acid, α -tocopherol, and selenium on cyclophosphamide-induced toxicity in the rat ovarium. *Nutrition* 2013; 29: 777-784.
97. Wietrzyk J, Nevozhay D, Filip B, Milczarek M, Kutner A. The antitumor effect of lowered doses of cytostatics combined with new analogs of vitamin D in mice. *Anticancer Res* 2007; 27: 3387-3398.

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

Değiştirilmiş Alan Kodu

6. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Elazığ'da doğumum. 1992 yılında Namık Kemal İlkokulu'ndan mezun olduktan sonra ortaokul ve lise öğrenim hayatına Mehmet Akif Anadolu Lisesi'nde devam ettim. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde eğitimime başladım ve 2004 yılında mezun oldum. Tıpta Uzmanlık Sınavı ile 2006 yılında Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde Asistanlığa başladım. 2013 yılında Fırat Üniversitesi'ne atandım. Halen Araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.