

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR VE DEKSAMETAZONUN TEK BAŞINA VE
KOMBİNE HALDE OVER DOKUSU VE ÜREME FONKSİYONUNA ETKİSİ.**
BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Dr. Emrullah AKYÜZ
Uzmanlık Tezi

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Paşa ULUĞ

ERZİNCAN – 2021

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR VE DEKSAMETAZONUN TEK BAŞINA VE
KOMBİNE HALDE OVER DOKUSU VE ÜREME FONKSİYONUNA ETKİSİ.**
BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Dr. Emrullah AKYÜZ
Uzmanlık Tezi

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Paşa ULUĞ

ERZİNCAN – 2021

İÇİNDEKİLER

ONAY	III
TEŞEKKÜR.....	IV
KISALTMALAR.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
ÖZET.....	IX
SUMMARY.....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OVARYUM	3
2.1.1. Ovaryum Anatomisi	3
2.1.1.1. Ovaryumun Kanlanması ve Sinirleri	3
2.1.2. Ovaryum Embriyolojisi.....	4
2.1.2.1. GonadlarınGelişimi	4
2.1.2.2. Ovaryumun Histolojik Yapısı ve Folikül Oluşumu.....	5
2.1.3. Foliküllerin Olgunlaşması.....	6
2.1.3.1. Dominant folikülün seçimi	9
2.1.3.2. Preovulatuvar Folikül ve Ovulasyon	9
2.1.4. Over Rezerv Testleri	10
2.1.4.1. Folikül Stimülan Hormon (FSH) Ölçümü	10
2.1.4.2. Serum Östradiol Seviyesi (E2)	11
2.1.4.3. İnhibin B düzeyi	12
2.1.4.4. Anti Müllerian Hormon (AMH).....	12
2.1.4.5. Klomifen sitrat challenge testi.....	14
2.1.4.6. Antral follikül sayımı	14
2.2. COVID-19.....	15

2.2.1. COVİD-19 Spesifik Tedavileri	15
2.2.1.1. Favipiravir	16
2.2.1.2. Deksametazon.....	18
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	18
2.3.1. Malondialdehit (MDA)	19
2.3.2. Glutasyon (GSH)	20
3.GEREÇ YÖNTEM.....	22
3.1. Deney hayvanları	22
3.2. Kimyasal maddeler.....	22
3.3. Deney grupları.....	22
3.4. Deney prosedürü	22
3.5. Biyokimyasal analizler.....	23
3.5.1. AMH Ölçümü	23
3.5.2. Doku Malondialdehid (MDA) ve Total Glutasyon (tGSH) analizi	23
3.5.2.1. Numunelerin Hazırlanması.....	23
3.5.2.2. Doku MDA miktar tayini	23
3.5.2.3. Doku tGSH miktar tayini.....	24
3.6. Histopatolojik inceleme	24
3.7. Stereoloji	25
3.8. İstatistiksel Analizler.....	25
4.BULGULAR	26
4.1. Over dokusunun biyokimyasal analiz sonuçları	26
4.1.1. AMH Ölçüm Sonuçları	26
4.1.2. Doku Malondialdehid (MDA) ve Total Glutasyon (tGSH) analizi sonuçları ..	27
4.2. Histopatolojik ve Stereolojik Bulgular.....	29
5. TARTIŞMA	35
6. KAYNAKLAR.....	41

ONAY

‘Sıçanlarda favipiravir ve deksametazonun tek başına ve kombine halde over dokusu ve üreme fonksiyonuna etkisi. Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme’ isimli çalışmamızın Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı’nın 30/07/2021 tarih ve 6 toplantı sayılı alınan 189 karar nolu kararı ile başvuru sonrasında tez olarak çalışılması uygun görülmüş ve 05.08.2021 tarih ve 96463 sayılı yazı ile anabilim dalımıza bildirilmiştir.



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi aldığım Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda yetişmemde büyük emekleri olan, deneyim, bilgi ve tecrübeleri ile bana rehberlik eden, hem mesleki hem de sosyal hayattaki bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, zor zamanlarımda benden desteğini esirgemeyen, manevi babam olarak gördüğüm çok değerli hocam Prof. Dr. Paşa ULUĞ'a,

Zor günlerimde her zaman yanımda olan eğitimime katkı sağlayan, yetişmeme vesile olan Doç. Dr. Cenk NAYKI ve Doç. Dr. Ümit ASLAN NAYKI'ya,

Bu zorlu yolda üzerimde emekleri olan kliniğimizden ayrılan değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet KULHAN, Doç. Dr. Can TÜRKLER ve Doç. Dr. Nur Gözde KULHAN'a,

Klinikte tecrübelerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Betül KALKAN YILMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Tunay KİREMİTLİ ve Dr. Öğr. Üyesi Kemal DİNÇ'e,

Servisimizde ve doğumhanemizde görev yapan tüm uzman hekim, asistan, ebe, hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma;

Hiç düşünmediğim asistanlık macerasına girmeme vesile olan, büyük fedakarlıklarla beni destekleyen hayatımdaki en değerli varlığım canım eşim Dr. Öğr. Üyesi Sümeyye AKYÜZ'e,

Beni bu günlere getiren, emek veren, düzgün bir insan olarak yetiştiren ve desteklerini hayatımın her anında hissettiğim sevgili anne ve babama,

Varlıklarıyla hayatımıza neşe ve anlam katan biricik kızım Elif Zelal AKYÜZ ile oğullarım Said Bilal AKYÜZ ve Seyyid Miran AKYÜZ'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Emrullah AKYÜZ

ERZİNCAN-2021

KISALTMALAR

COVID-19	: Coronavirus hastalığı-2019
i.p	: İntraperitoneal
SARS-CoV-2	: Şiddetli akut solunum sendromu Coronavirus-2
RNA	: Ribonükleik asit
TBF	: Testis belirleyici faktör
PGH	: Primordial germ hücreleri
OMİ	: Oosit matürasyon inhibitörü
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
LH	: Lutenizasyon hormonu
TNF	: Tümör nekrozis faktör
AFC	: Antral folikül sayımı
AMH	: Anti-mullerian hormon
CCCT	: Klomifen sitrat yükleme testi
IVF	: İn vitro fertilizasyon
GnRH	: Gondotropin salgılayıcı hormon
OHSS	: Ovaryan hiperstimülasyon sendromu
CC	: Klomifen sitrat (CC)
TVUsg	: Transvajinal ultrasonografi
IVIG	: İntravenöz immünglobulin
FPR	: Favipiravir
DEKSA	: Deksametazon
FDA	: Favipiravir+deksametazon
SG	: Sağlıklı kontrol grubu
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay testi
TBA	: Tiyobarbitürik asit
MDA	: Malondialdehit
tGSH	: Total glutasyon
E2	: Östradiol
DTNB	: 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GSH	: Glutasyon

SDS	: Sodyum dodesil sülfat
HE	: Hematoksilen-eozin
ANOVA	: Tek yönlü varyans analizi
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
ACE2	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2
ECMO	: Ekstrakorporal membran oksijenizasyon
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALP	: Alkalen fosfataz
ROT	: Reaktif oksijen türleri
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ATP	: Adenozin 3'- trifosfat
PMNL	: Polimorf nüveli lökositler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. SG, FPR, DEKSA ve FDA gruplarında AMH düzeylerinin karşılaştırılması.....	27
Şekil 2. Gruplar arasında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 3. SG, ince ok primordiyal foikül, kesikli ok: damar. H-E. 20x.....	29
Şekil 4. FPR, Yıldız: Fibröz bağ dokusu, Kalın ok: Foliküler hücre deformasyonu. H-E. 20x	30
Şekil 5. DEKSA grubu. H-E. 20x	30
Şekil 6. FDA grubu. Kavisli ok: Dejenerasyon, ok başı: Atretik folikül. H-E. 20x	31
Şekil 7. Gruplar arasında primordiyal folikül sayısının karşılaştırılması	33
Şekil 8. Gruplar arasında korteks hacminin karşılaştırılması	33
Şekil 9. Gruplar arasında medulla hacminin karşılaştırılması	3434

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. AMH ölçümlerine ait bulgular	26
Tablo 2. Oksidatif stres parametre ölçümlerine ait bulgular	28
Tablo3. Ovaryuma ait stereolojik bulgular	32



ÖZET

Amaç: Yeni tip bir koronavirüsün neden olduğu COVID-19 hastalığı Aralık 2019'da ortaya çıkmış ve tüm dünyayı etkisi altına almıştır. Halen COVID-19'a spesifik ve etkinliği kanıtlanmış bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Tedavi protokolleri salgının başından beri, yapılan çalışmalara göre güncellenmektedir. Bir RNA polimeraz inhibitörü olan favipiravir ülkemizde Mayıs 2020'de COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanıma girmiştir. Oksijen takviyesi veya ventilatör desteği alan COVID-19 hastaları için deksametazonla tedaviye eklenebilmektedir. Bu ilaçların bildirilen yan etkileri dışında farklı sistemlere ait advers etki potansiyelleri bulunabilir ve izlenmelidir. Özellikle dişi üreme sistemine yönelik etkileri bilinmemektedir.

Çalışmamızda, dişi sıçanlarda favipiravir ve deksametazonun tek başına ve kombine halde over dokusu ve üreme fonksiyonuna etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Prospektif olarak yapılan bu çalışmada 32 adet albino wistar türü dişi sıçan kullanıldı ve sıçanlar sekizerli dört gruba ayrıldı. Birinci gruptaki sıçanlara herhangi bir ilaç uygulanmadı (kontrol grubu-SG). SG grubuna çözücü olarak diğer gruptakilerle aynı hacimde distile su verildi. İkinci gruba favipiravir 100 mg/kg dozda oral yoldan mideye verildi (FPR). Üçüncü gruba deksametazon 8 mg/kg dozda intraperitoneal (i.p) yoldan enjekte edildi (DEKSA). Son olarak dördüncü gruba favipiravir (100 mg/kg) + deksametazon (8 mg/kg) kombine olarak aynı yoldan uygulandı (FDA). Bu prosedür bir hafta boyunca tekrarlandı. Deney süresince her gün, bir kez smear alınarak östrus fazları takip edildi. Bu süre sonunda hayvanlar uyutuldu ve kalpten kan örnekleri (~2 cc) alınarak serum AMH seviyesine bakıldı. Daha sonra dekapitasyonla öldürülen hayvanların over dokuları çıkartıldı ve MDA, tGSH ölçümü yapıldı. Yine over dokusunda histopatolojik olarak hasar tespiti ve folikül sayımı ışık mikroskopu ile araştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda yer alan grupların AMH ölçümlerine bakıldığında SG ve DEKSA grubunda benzer olduğu, FPR ve FDA grubunda ise SG'ye göre daha düşük düzeyde olduğu görülmüş ancak bu farklılık anlamlı bulunmamıştır. Oksidatif stres açısından doku MDA düzeyine bakıldığında SG ve DEKSA grubunda benzer olduğu, FPR grubunda SG'nin yaklaşık iki katı, FDA grubunda ise SG'nin yaklaşık 6 katı olduğu görülmüştür. FPR ve FDA grubundaki doku MDA yüksekliği SG ve DEKSA grubuna göre, aynı zamanda FDA grubundaki doku MDA yüksekliği FPR grubuna göre anlamlı olarak bulunmuştur.

Antioksidan etkinlik açısından gruplar arasındaki tGSH düzeyleri karşılaştırıldığında ise SG ve DEKSA grubunda birbirine yakın seviyede olup FPR ve FDA grubunda anlamlı seviyede düşük olduğu görülmüştür. Yine FDA grubunda tGSH miktarının FPR grubundan anlamlı düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır. Gruplarda primordiyal folikül sayısı karşılaştırıldığında, FPR ve DEKSA grubunda SG'a göre daha düşük sayıda olan folikül sayısı istatistiksel olarak anlamlı değilken FDA grubunda SG'ye göre anlamlı derecede düşük folikül sayısına rastlanmıştır.

Sonuç: Favipiravir ve/veya deksametazonun serum AMH düzeyini ve ovaryan primordial folikül sayısını azaltarak over rezervini olumsuz yönde etkileyebileceği, over dokusunda oksidan reaktiflerin miktarını artırıp antioksidan reaktiflerin miktarını azaltarak oksidatif strese neden olabileceği in vivo olarak gösterilmiştir. Hem COVID-19 hastalığı hem de tedavisinde kullanılan ilaçlar, üreme sisteminde içinde bulunduğu farklı sistemlere etki edebilmektedir. Çalışmamız bu açıdan değerli olduğu gibi yan etki, advers etki ve ilaç etkileşimlerinin araştırıldığı birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Favipiravir, Deksametazon, Over rezervi, Anti müllerian hormon, Sıçan

SUMMARY

Objective: COVID-19 disease, caused by a new type of coronavirus, emerged in December 2019 and affected the whole world. There is currently no specific and proven treatment method for COVID-19. Treatment protocols have been updated since the beginning of the epidemic, according to studies. Favipiravir, an RNA polymerase inhibitor, has been used in the treatment of COVID-19 patients in our country in May 2020. Dexamethasone can also be added to the treatment for COVID-19 patients receiving oxygen supplementation or ventilator support. Apart from the reported side effects of these drugs, the potential for adverse effects belonging to different systems may exist and should be monitored. Its effects, especially on the female reproductive system, are unknown.

In our study, we aimed to evaluate the biochemical and histopathological effects of favipiravir and dexamethasone alone or in combination on ovarian tissue and reproductive function in female rats.

Material and Methods: In this prospective study, 32 female albino wistar rats were used and the rats were divided into four groups of eight. The rats in the first group were not administered any drugs (control group-SG). SG group was given the same volume of distilled water as the solvent in the other group. To the second group, favipiravir was administered orally to the stomach at a dose of 100 mg/kg (FPR). The third group was given dexamethasone 8 mg/kg i.p. routed injected (DEKSA). Finally, favipiravir (100 mg/kg) + dexamethasone (8 mg/kg) combined was administered to the fourth group by the same route (FDA). This procedure was repeated for a week. During the experiment, estrus phases were followed by taking a smear once every day. At the end of this period, the animals were anesthetized and blood samples (~2 cc) were taken from the heart and serum AMH levels were measured. Then, the ovarian tissues of the animals killed by decapitation were removed and MDA and tGSH measurements were made. Again, histopathological damage detection and follicle count in the ovarian tissue were investigated with a light microscope.

Results: When the AMH measurements of the groups in our study were examined, it was seen that they were similar in the SG and DEKSA groups, and were at a lower level in the FPR and FDA groups compared to the SG, but this difference was not found to be significant. When the tissue MDA level was examined in terms of oxidative stress, it was observed that it was similar in the SG and DEKSA groups, approximately twice the SG in the FPR group, and approximately 6 times the SG in the FDA group. Tissue MDA elevation in the FPR and FDA groups was found to be significant compared to the SG and DEKSA

groups, while the tissue MDA elevation in the FDA group was found to be significant compared to the FPR group. When tGSH levels were compared between the groups in terms of antioxidant activity, it was observed that the levels were close to each other in the SG and DEKSA groups, but were significantly lower in the FPR and FDA groups. Again, the amount of tGSH in the FDA group was found to be significantly lower than the FPR group. When the number of primordial follicles was compared in the groups, the number of follicles that were lower in the FPR and DEKSA groups compared to SG was not statistically significant, while a significantly lower number of follicles was found in the FDA group compared to SG.

Conclusions: It has been shown in vivo that favipiravir and/or dexamethasone may adversely affect ovarian reserve by decreasing the serum AMH level and the number of ovarian primordial follicles, and may cause oxidative stress by increasing the amount of oxidant reagents in the ovarian tissue and decreasing the amount of antioxidant reagents. Both the COVID-19 disease and the drugs used in its treatment can affect different systems in the reproductive system. As our study is valuable in this respect, there is a need for many studies investigating side effects, adverse effects and drug interactions.

Key Words: Favipiravir, Dexamethasone, Ovarian reserve, Anti mullerian hormone, Rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ovaryumlar, yapısında ve fonksiyonunda hayat boyunca değişikliklerin olduğu dinamik bir organdır. Folikül ise, overlerin en önemli reproduktif ve endokrin kompartmanıdır. Foliküllerin kalitesi ve miktarı, kadının doğurganlık potansiyelini ve doğurganlık süresini belirler ve yenilenemez [1, 2].

Primordial foliküller, foliküllerin en erken ovaryan formunu temsil ederler ve dormant fazda oldukları düşünülür. Over rezervi, primordial foliküllerin sayısı tarafından belirlenir. Özellikle primordial foliküller üzerine olan toksik bir etki, reproduktif yaşam aralığını kısaltabilir ve prematür over yetmezliğine neden olabilir. Oosit doğrudan ya da dolaylı olarak etkilenebilir. Oositi çevreleyen steroid üreten somatik hücre katmanlarına (granüloza ve teka hücreleri) toksik etki de bunlara neden olabilir [3]. Over rezervi kadının mevcut oositlerinin sayısı ve kalitesinin bir fonksiyonu olarak üreme potansiyelini göstermektedir. Azalmış over rezervi; üreme çağındaki düzenli menstrasyon gören bir kadının kendi yaş grubundaki diğer kadınlara göre fekunditesinde ya da ovaryan stimulasyona cevabındaki azalma demektir. Azalmış over rezervi için bazı risk faktörleri bulunmaktadır. Bunlar; ileri kadın yaşı (>35-yaş over rezervini belirleyen en önemli parametredir), tek over, endometriozis ve pelvik enfeksiyon gibi overlere zarar veren durumlar, otoimmün hastalıklar, diabetes mellitus, hipertansiyon ve diğer sistemik hastalıklar, ailede erken menapoz öyküsü, geçirilmiş over cerrahisi, geçirilmiş radyoterapi veya kemoterapi öyküsü, genetik bozukluklar ve sigara kullanımıdır [4].

Coronavirus hastalığı-2019 (COVID-19), yeni keşfedilen bir koronavirüs olan ve Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından ciddi akut solunum sendromu Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) olarak adlandırılan varyant bir korona virüsün neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır [5, 6]. COVID-19 vaka sayılarının hızla yükselmesi, tedavide yeni olan ilaçların kullanımı ve eşlik eden komplikasyonlar nedeniyle ilaç kaynaklı sorunlarda artış görülmektedir. İlaç kaynaklı sorunlar için önemli risk faktörleri arasında çoklu ilaç kullanımı, ilaçların renal eliminasyonun bozulması, tedavide terapötik aralığı dar ilaçlar ile antikoagülan veya diüretik bulunması ve hasta yaşının 65'in üzerinde olması yer almaktadır. Viral replikasyonu bloke eden bir ribonükleik asit (RNA) polimeraz inhibitörü olan favipiravir ile güçlü antiinflamatuvar ve antifibrotik etkili bir kortikosteroid olan deksametazon COVID-19 tedavisinde kombine halde kullanılabilmektedir [7].

Favipiravir, sınırlı veriler doğrultusunda düşük yan etki profili (bulantı, kusma, gaz artışı, diyare, göğüs ağrısı, psikiyatrik semptomlar, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve total

bilirubin düzeylerinde artış, nötrofil düzeyinde azalma, hiperürisemi) sergilemekte olup, literetürde favipiravir ve deksametazonun sıçanlarda over dokusu ve üreme fonksiyonuna etkisine dair çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, sıçanlarda favipiravir ve deksametazonun tek başına ve kombine halde over dokusu ve üreme fonksiyonuna etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVARYUM

2.1.1. Ovaryum Anatomisi

Dişi üreme sisteminde bulunan ve erkeklerdeki testisin karşılığı olan basık oval şekilli ovaryumlar, uterusun her iki yanında fossa ovaricada yerleşik olarak bulunan bir çift pelvik organdır. En önemli fonksiyonları steroid biyosentezi, oosit maturasyonu ve ovulasyondur. Hormonal aktiviteleri ve büyüklükleri yaş, menstrüel durum ve eksojen hormon kullanımına bağlı olarak değişmekle birlikte; uzunluğu 2,5 ila 5 cm, kalınlığı 1,5 ila 3 cm ve genişliği de 0,7 ila 1,5 cm arasında değişmektedir. Yine ağırlıkları da değişmekle birlikte ortalama 4-8 gr kadardır. Ovaryumların epitelyum tabakası kübikten kolumnara değişmekte, korteks ve medulla kısımları bulunmaktadır. Dış katman korteks olarak adlandırılan ve içerisinde follikül, korpus luteum ve korpus albicans yapılarını barındıran özelleşmiş bir stromadan oluşur. İç katman olan medulla tabakası ise kan damarlarını içeren fibromüsküler bir dokudur. Ligamentum latumun arkasına simetrik olarak yerleşmiş olan ovaryumlar; uterusu utero-ovaryan ligament ile birleşmiştir. Pelvis duvarına ise overin damar ve sinirlerini içeren, overin suspensuar ligamenti olarak da bilinen infundibulopelvik ligaman ile tutunmaktadır. İnferiorda her bir overin hilus bölgesi mezenteri (mezoovaryum) aracılığıyla broad ligamana tutunur [8, 9].

2.1.1.1. Ovaryumun Kanlanması ve Sinirleri

Ovaryuma kan getiren en önemli arter 'Arteria Ovarica'dır. Ovaryan arterler her iki tarafta aortadan çıkabilir ancak sol ovaryan arter sıklıkla sol renal arterden çıkar. Bu durumun sağ tarafta görülmesi ise nadirdir. Ovaryan arterler aşağı doğru iner ve common iliak arter ve ven hizasında mediale doğru yönelirler. Sağ ve sol ovaryan arterler asıcı ligamentlerin katları arasında mezoovaryuma girerler. Ovaryuma kan getiren diğer bir arter ise uterin arterin ovaryan dalı olan 'Ramus Ovaricus'tur. Bu iki arter (Arteria Ovarica ve Ramus Ovaricus) mezoovaryumda anastomoz yaparak hilus bölgesinden ovaryuma girerler ve içeride dallara ayrılarak korteks medulla sınırında bir plexus meydana getirirler. Genellikle arterlerin seyrini izleyen venler hilustan çıktıktan sonra mezoovaryum tabakaları arasında plexus

pampiniformis'i oluştururlar. Daha sonra sağ ovaryan ven, vena cava inferior'a, sol ovaryan ven ise sol renal vene dökölür. Ovaryumun lenf kanalları retroperitoneal bir yol izler ve böbreklerin alt tarafında, aorta komşuluğuunda bulunan lenf nodlarına (paraaortik düğümler) boşalırlar. Ovaryumun sinirleri lumbosakral sempatik zincirden çıkarak ovaryan arter ile birlikte overe girer. Ovaryan plexus ve uterovajinal plexus overin innervasyonunu sağlar [10, 11].

2.1.2. Ovaryum Embriyolojisi

Genetik cinsiyet ovumu fertilize eden sperm tarafından fertilizasyon sırasında belirlenmesine rağmen, erken embriyonik dönemde gözle görölür cinsiyet ayrımı yapılamaz. Bu evreye 'genital gelişimin indifferansiye evresi' denir. Klinik olarak tespit edilebilen cinsiyet embriyonik dönemin yaklaşık 12. haftasına kadar görünür hale gelmez. Bu aşamada dişi yönde gelişim 'insan embriyosunun temel gelişim yolu'dur çünkü östrojen varlığına değil testosteron yokluğuuna bağımlıdır. Seks diferansiyasyonu ile ilgili olan testis belirleyici faktör (TBF) geni, Y kromozomunun kısa kolunda bulunmakta olup gonadal seks diferansiyasyonunu direkt olarak etkilemektedir. TBF geninin yokluğuunda ovaryan gelişim başlar. Erkek ve dişi embriyoda gonadların morfolojik yapısı gelişimin 7. haftasına kadar farklı değildir. Embriyodaki gonadların herhangi bir yönde gelişimi, genital kanalların seksüel gelişimi ile birlikte eksternal genitalleri de belirler [12].

2.1.2.1. GonadlarınGelişimi

Gonadlar;

1. Abdominal arka duvarı döşeyen mezotelyum tabakası (mezodermal epitel-çölomik epitel)
2. Birinci tabakanın altında bulunan mezenkim (embriyonik bağ dokusu)
3. Primordial germ hücreleri (PGH) olmak üzere 3 kaynaktan gelişmektedir.

Gonadal gelişimin başlangıcı 5.haftada, genital ve gonadal kıvrımların oluşmasıyla yani gelişen mezonefrik böbreklerin medialindeki çölomik epitelin kalınlaşması sonucu oluşur. PGH'leri yolk kesesinden gonadal kıvrımların olduğu bölgeye doğru göç ederler. Bu PGH'leri ovaryumlardaki germinal hücreleri oluştururlar.

PGH'leri (oogonia), 4-5 haftalık embriyoların arka bağırsak bölgesinde, allantoislerinin endodermal hücreleri arasında bulunan, 15-20 mikron boyutlarında yuvarlak nükleuslu ve soluk stoplazmalı yuvarlak hücrelerdir. Bu hücrelerin hücre zarları ve nükleusları yoğun glikojen içerir ve alkalen fosfataz aktivitesi gösterir. Gonadal çıkıntı PGH'lerinin hayatta kalabileceği tek yerdir. Buraya ulaşamayan PGH'leri gelişemez. Gonadal gelişim için ise PGH'lerinin indükleyici etkisi gereklidir. Gebeliğin 4-6. haftalarında yolk kesesinden gonadal kıvrıma ameboid hareketlerle göç etmelerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak gonadal kıvrımdan salgılanan kemotropik faktörlerin bu harekete katkısı olduğu düşünülmektedir. Genetik olarak erkek ve kadınlarda PGH'lerinin sayı, şekil ve migrasyon biçimleri farklılık göstermemektedir. 6. haftada germ hücreleri gonadlara göç eder ve bu haftanın sonunda gonadal dokunun PGH'leriyle kolonizasyonu tamamlanmış olur [3, 13, 14, 15].

PGH'lerinin gonadal çıkıntındaki kolonizasyonu tamamlandığında çöломik (mezodermal) epitel belirgin olarak prolifer olmaya başlar ve alttaki mezenkimal stromayı penetre ederek gonadların gelişimini başlatır [16]. Mezenkimal stroma içinde oluşan irregüler düzenlenmiş parmak şeklindeki uzantılar, epitel kordları (primer seks kordları) adını alır. Bu sayede gonad dejenere olmaktan kurtulur. Dişi ve erkek embriyolarda primitif seks kordları yüzey epiteli ile devam eder ve bu aşamada gonadlarda dişi/erkek ayrımı yapılamaz. Bu evredeki oluşum 'farklılaşmamış gonad' adını alır ve dış-korteks ve iç-medulladan oluşur. Embriyo, genetik olarak XX seks kromozom kompleksine sahip ise farklılaşmamış gonadın medullası regrese olurken, korteksi overe farklılaşır [13].

2.1.2.2. Ovaryumun Histolojik Yapısı ve Folikül Oluşumu

Dişi embriyolarda gonadal gelişim yavaştır. Primer seks kordları oluşuktan sonra 7. haftada embriyo Y kromozomuna sahipse testisler histolojik olarak belirlenebilir ancak Y kromozomu yokluğunda overe ait histolojik bulgular 12-16. haftalara kadar gözlenemeyebilir. Ancak genellikle 10. hafta dolaylarında belirlenebilmektedir. Primer seks kordları düzensiz hücre kümelerine ayrılır ve bu kümeler overin daha çok medulla kısmına lokalize olmuştur. Daha sonra bu yapılar regrese olur (rudimenter rete ovarii) ve yerini vasküler bir stromaya bırakır. Yüzey epiteli erkeklerdekinin aksine prolifer olmaya devam eder ve 'kortikal kordonlar' denilen yapılar ve bunların sekonder seks kordları oluşur [17]. Kortikal kordların çapı arttıkça PGH'ler bunların içine doğru girer ve 16. haftada bu kordlar 'primordial folikül'

adını alan izole hücre adacıklarına bölünürler. Bu primordial foliküllerin her biri PGH'lerden gelişen bir oogonium (PGH'leri gonadlara ulaştığında 'oogonium' adını alırlar) ve bunu çevreleyen seks kordlarından gelişen yassı folikül hücrelerinden oluşmuş bir tabakadan ibarettir. Fetal dönemde milyonlarca oogonium aktif mitozla oluşur. Sayıları, gebeliğin 6.haftasında 10 bin, 8. haftasında 600 bine ulaşır. Oogoniumların çoğalması 19-20. haftalara kadar hızlı bir biçimde sürer ve gebeliğin 20. haftasında sayıları 7 milyona ulaşır [13, 18, 19].

Gebeliğin 20. haftasında gonad, ulaşabileceği maksimum oogonium kapasitesine ulaşır. Bu dönemden sonra dejenerasyon başlar ve germ hücre sayısı giderek azalır. Yaklaşık 2 milyon kadarı doğumdan önce büyüyerek 'primer oositler' haline gelir. Oogoniumların mitotik aktivitesi oosit havuzunun önemli bir belirleyicisidir. Çünkü kabul edilmiş bir dogma, doğumdan sonra oogonia oluşmadığı şeklindedir. Over rezervinin oluşmasında mitoz kadar dejenerasyon da önemli yer tutar. Önceleri PGH'lerinin ovaryumları örten yüzey epitelinden köken aldığı sanılıp germinal epitel olarak adlandırılmıştır ancak sonrasında vitellüs kesesi endoderminden kaynaklandığı anlaşılmıştır. Doğumdan sonra overin yüzey epiteli yassılaşır ve tek bir hücre tabakası haline gelir. Ovaryumların hilusunda peritonun mezotelyumu ile devam eder. Yüzey epiteli kortekste, ince bir kapsülle (tunica albuginea) foliküllerden ayrılır. Mezonefroz gerileyerek ovaryumdan ayrıldıkça, ovaryum mezenterini oluşturan mezoovaryum ile uterusu bağlanır [3, 14].

2.1.3. Foliküllerin Olgunlaşması

İntrauterin hayatta 6-7 milyon olan ovaryumlardaki oosit sayısı, doğumda 1-2 milyon olup bu sayı pubertede 300.000'e düşmektedir. Tüm oositlerin yalnız 400-500 kadarı ovulasyonda salınır. Menapoza gelindiğinde ise overlerde stromal doku içerisine serpiştirilmiş nadir oositler olarak görülmektedir. Mayozun 4 evresi vardır. Bunlar profaz, metafaz, anafaz ve telofazdır. 1.mayozun profazı ise 5 evreye ayrılır. Bunlar leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diakinezdir. Doğumdan önce oogoniumların büyüyerek primer oositlere dönüşmesiyle oluşan oositler, fetusta mayoz bölünmenin profazının diploten fazında olup ovulasyon başlayana kadar bu aşamada kalmaktadırlar. Bu duraklamaya sebep olan etken, folikül hücrelerince salgılanan oosit matürasyon inhibitörü (OMİ)'dür [20].

Folikül gelişimi ilk menstrüasyondan menapoza kadar bir döngü içinde devam eden dinamik bir süreçtir. Bu süreçte amaç her ay spesifik bir folikül topluluğunun seçilerek gelişmesi ve sonuçta her ay ovulasyon ile yalnız bir adet dominant folikülün atılmasıdır.

Ovaryum histolojisine bakıldığında 3 temel folikül tipi tanımlanmıştır:

- Primordiyal Folikül
- Olgunlaşan Folikül
 - Primer Folikül
 - Sekonder (Preantral) Folikül
- Graaf Folikülü (Olgun Folikül-Tersiye Folikül)

Primordiyal Folikül: Diploten fazında, 8-10 adet tek katlı granüloza hücrelerinin küçük bir primer oositi (yaklaşık 25 µm çapında), çevrelemesiyle primordial folikül oluşur ve foliküler gelişim devam eder. Bu oluşumu çevreleyen bazal lamina sayesinde primer oosit ve granüloza hücreleri, çevre hücrelerle direk temas etmemektedir. Granüloza hücrelerinin düzenli olarak çevrelemediği oogoniumlar atreziye gider ve foliküler gelişim durur. Bu şekilde oositlerin büyük bir kısmı fetal dönemde yok olurken diğerleri menapoza kadar kullanılır. Primordial foliküller overdeki temel reproduktif birimlerdir. Çünkü tüm dominant foliküllerin ve menstrüel siklusun kaynağını oluştururlar [21,22].

Son zamanlarda ratlar üzerinde yapılan çalışmalar yetişkin hayatta da oositlerin oluşabildiğini ve bu oositlerde foliküler gelişim olduğunu göstermektedir. Bunu sağlayan kök hücrelerin kemik iliğinde bulunduğu bildirilmiştir. Ancak insanlarda bu hücrelerin bulunup bulunmadığı, bulunsa bile işlevleri konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır [23, 24].

Primer Folikül: Granüloza hücrelerinin mitotik aktivite kazanması ve şekillerinin yassı epitelden kübik epitele dönüşümü, folikül seçiminin histolojik göstergeleri olarak değerlendirilmektedir. Ancak klinik önemine rağmen insanlarda bu seçimi hangi uyarının belirlediği bilinmemektedir [3]. Primer folikül; oosit büyürken etrafında tek tabaka halinde dizilen yalancı çok katlı kübik granüloza hücrelerinin görülmesi ile oluşur. Ayrıca 'Zona pellucida' denen hücre dışı bir membran oluşur.

Primordial foliküller, primer folikül evresine geçinceye kadar uyku fazında (dormant faz) bekler. Ratlarda yapılan çalışmalar primordial foliküllerin uyku fazında kalmasını sağlayan inhibitör maddelerin olduğunu göstermiştir. Bu inhibitörlerin fonksiyonlarını

kaybetmeleri ise primordial foliküler havuzun erken aktivasyonuna, buna bağılı olarak da havuzun erken tükenmesine ve prematür over yetmezliğine neden olmaktadır [25].

Sekonder (Preantral) Folikül:

Stratum granulosum tabakasının FSH uyarısı ile hücre sayısının artması ve oositin büyümesiyle preantral (sekonder folikül) meydana gelir. Bu evrede oosit tamamen gelişmiş bir zona pellicuda ile örtülmüştür. Preantral folikülü çevreleyen stromal tabaka, teka interna ve teka eksterna olarak iki tabakaya farklılaşır. Primordial ve primer foliküller folikül stimüle edici hormon (FSH) reseptörü eksprese etmezken, bu aşamada preantral folikül FSH reseptörü eksprese eder. Foliküler farklılaşma ve büyüme FSH kontrolüne geçer (gonadotropin bağımlı olmayan büyümeden gonadotropin bağımlı evreye geçiş) [26]. Sekonder folikülün stratum granulosum tabakasında bulunan hücreler östrojen, androjen ve progesteron sentezini yapabilir ancak androjenlere ve progestinlere göre çok daha fazla oranda östrojen yapılmaktadır [27]. Preantral folikülü çevreleyen granüloza hücrelerinin yüzeyinde 1.500 kadar FSH reseptörü bulunurken, teka interna hücrelerinin yüzeyinde 20.000 kadar Lutenizasyon hormonu (LH) reseptörü bulunmaktadır. FSH reseptörleri yalnız granüloza hücrelerinde bulunurken LH reseptörleri ise yalnız teka hücrelerinin yüzeyinde bulunmaktadır. Bu nedenle bu aşamadan sonra devreye iki hücre-iki gonadotropin sistemi girmektedir [28].

Graaf Folikülü (Antral Folikül):

Folikül gelişimi devam ettikçe östrojen ve FSH'nın sinerjistik etkisi ile folikül sıvısının yapımı çoğalır ve granüloza hücreleri arasında birikmeye başlar ve folikülün ortasında sıvı dolu bir boşluk oluşur. Antrum olarak adlandırılan bu boşluktan adını alan antral folikül'ün diğer adı tersiyer foliküldür [29].

Oositi çevreleyen granüloza hücreleri, antruma doğru uzanan ve 'kumulus ooforus' adı verilen kalınlaşmış bir çıkıntı yaparlar. Hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerden zengin foliküler sıvı, oosit ve çevresindeki hücrelerin progresif maturasyonu ve gelişimi için gereken ortamı sağlamaktadır. Folikül sıvısında, FSH varlığında östrojen hakimken, FSH yokluğunda androjenler hakimdir. Granüloza hücrelerinin proliferasyonu ve foliküler büyümenin devamlılığı için FSH ve östrojenin hakim olması gerekmektedir [27].

2.1.3.1. Dominant folikülün seçimi

Büyümeye başlamış olan foliküller içinde en fazla FSH reseptörüne sahip olan, dolayısıyla en fazla östrojen üreten folikül ovulasyonu sağlayacak olan foliküldür. Bu dönüşümü istisnai durumlar hariç, yalnız bir folikül tamamlayabilmektedir [30]. Foliküler dönemin sonunda dominant folikülün granüloza hücrelerinden salınan östrojen ve inhibin B sistemik dolaşıma geçerek hipofiz bezinden FSH salınımını negatif feedback etkisi ile baskılamaktadır. Serum FSH düzeyindeki düşüş dominant folikülün seçiminde önemli rol oynamaktadır. Dominant folikül dışındaki foliküllerde azalan FSH desteğine bağlı olarak granüloza hücrelerinin proliferasyonu durur ve FSH bağımlı olan aromatzasyon aktivitesi azalır. Buna bağılı olarak da diğet foliküllerde östrojen yapımı azalarak apopitoz başlar[26]. Apopitozis sürecindeki ilk olay granüloza tabakasındaki FSH reseptörlerinin azalmasıdır. Bu ölüm tipi, nekroza giden hücrenin patolojik ölümünden ziyade fizyolojik sürecin bir parçasıdır [27]. Yine bu foliküllerde granüloza hücrelerinden Tümör nekrozis faktör (TNF) salgılanır ve bunun etkisiyle FSH'nın östrojeni stimüle etmesi durur. Dominant folikül sahip olduğı yüksek östrojen seviyesinden dolayı negatif feedback'ten kaçınır. Östrojen seviyesi düşük ise FSH'a negatif feedback, yüksek ise FSH'a pozitif feedback etki yaratır [31].

2.1.3.2. Preovulatuat Folikül ve Ovulasyon

Granüloza hücrelerinin salgıladığı maddelerden oluşın bir plazma ile dolu olan antrum ile karakterizedir. Bu aşamada oosit, kumulus ooforus vasıtasıyla folikülle bağılantılı durumdadır. LH dolaşımdaki östrojenler tarafından bifazik olarak kontrol edilmektedir. Düşük östrojen konsantrasyonu LH sekresyonunu inhibe ederken yüksek konsantrasyonlarda LH seviyesini artırmaktadır. Bu uyarı için östradiol düzeyinin 48 saat boyunca 200 pg/ml' nin üzerinde olması gerekir. Yüksek östrojen konsantrasyonu pozitif feedback ile LH düzeyinde bir dalgalanma oluşturur. Ayrıca eş zamanlı olarak dominant foliküldeki granüloza hücrelerinde LH reseptör sayısı da artmaktadır. Yüksek düzey LH'ye maruz kalan dominant folikülde granüloza hücreleri luteinize olarak progesteron üretimi başlamaktadır. Böylelikle ovulasyon tetiğı çekilmekte ve folikül içindeki oosit atılmaktadır. LH pikinden 10-12 saat, östradiol pikinden 24-36 saat sonra ovulasyon gerçekleşmektedir. Bu LH piki yaklaşık 48-50 saat sürer [20].

Ovulasyon sırasında oosit ve oositi kuşatan korona radiata, kumulus ooforustan ayrılır ve oosit-zona pellusida-korona radiata kompleksi folikül sıvısı içinde serbest olarak dolaşır. Siklus ortasındaki ani LH artışı, folikül duvarında prostoglandinler ve proteolitik enzimlerin artmasına neden olur [32]. Folikül duvarı gittikçe zayıflayarak bir delik açılır ve oosit bu delikten yavaşça dışarı çıkar. Yapılan intrafoliküler basınç ölçümleri bu atılımın patlayıcı bir olay sonucu olmadığını göstermiştir [20]. LH pik dalgalanmasına cevap olarak, granüloza hücreleri üzerindeki LH reseptörleri duyarsızlaştırılmıştır ve granüloza hücreleri artık LH'ya tepki olarak östrojen oluşturmamaktadır. Bu dalgalanma tarafından uyarılan primer oositin ilk mayoz bölünmesi sürer (1.mayozun profaz evresinden 2.mayozun metafaz evresine kadar ilerler) ve sekonder oosit ile ilk polar cismin meydana gelmesiyle sonuçlanır. Sekonder oosit 2. mayoz bölünmeyi fertilizasyondan sonra tamamlar [29].

2.1.4. Over Rezerv Testleri

Geleneksel olarak over rezervi, ‘bir kadının overlerindemenstrüel döngüyü devam ettirmek yada gebeliğin meydana gelmesini sağlamak amacıyla ovulasyon için matür folikülleri oluşturma potansiyeline sahip yumurta deposu’ anlamına gelmektedir [33]. Yani over rezervi, overin fonksiyonel kapasitesinin, oositlerin kalitesinin ve sayısının göstergesidir [34].

Over rezerv testleri, overyan foliküllerin biyokimyasal testler ve ultrasonografi ile ölçümlemlerini içermekte ve çıkarımsal olarak oosit kalitesini tanımlamaktadır. Biyokimyasal testler, hem FSH, estradiol (E2), inhibin B ve antimüllerian hormon (AMH) gibi bazal ölçümleri, hem de klomifen sitrat yükleme testi (CCCT) gibi provokatif testleri kapsamaktadır. Over rezervinin ultrasonografik ölçümlerinde ise antral folikül sayımı (AFC) ve over hacminin hesaplanması yapılmaktadır [35].

2.1.4.1. Folikül Stimülan Hormon (FSH) Ölçümü

FSH, over rezervini değerlendirmede en sık kullanılan parametredir. 1980’li yıllardaki invitro fertilizasyon (IVF) deneylerinde, erken foliküler safhadaki FSH düzeyinin reproduktif sonuçlarla ilgili olduğu anlaşılmıştır [36].

Kadınlarda reproduktif yaşlanmanın en erken belirteçlerinden biri olan FSH miktarında izole artış, azalmış over rezervli kadınların tanımlanması için yaygın bir seçim

ölçütü olmuştur. Ancak serum FSH düzeyinin siklus içi ve dışı değişkenliklerinin olması, tarama testi olarak değerini azalmaktadır. Mevcut testlerde 10 IU/L'den yüksek FSH düzeyinin, over stimülasyonuna zayıf cevabı tahmin etmede yüksek özgüllüğe (%80-100) sahip olduğu, ancak sensitivitesinin (% 10-30) genellikle düşük olduğu söylenmektedir [37]. Normal düzeyde FSH değeri, fertilitiyi değerlendirmede yararlı değildir. Ancak yüksek anormal değerler (FSH >20 mIU/mL) ile spontan gebelik ihtimali çok azdır [38].

Sonuç olarak, menstrüel siklusun 3. gününde ölçülen FSH değeri, az maliyetli ve basit olmasından dolayı over rezervini değerlendirmede en sık kullanılan testtir. FSH düzeyi, 10 mIU/mL altında olduğunda over rezervinin yeterli olduğu kabul edilmektedir. 10 ile 15 mIU/ml arası ise ara değerler olarak kabul edilmektedir. FSH'ın normal değerinin üst eşiği çalışılan laboratuvara göre fark etmektedir. Ölçüm yapılan laboratuvar kitine ve metoduna göre, cut off değeri 10-25 mIU/mL olarak değerlendirilmiştir [39].

2.1.4.2. Serum Östradiol Seviyesi (E2)

Fizyolojik olarak kadın östradiol miktarının büyük bir kısmı overingranüloza hücrelerinden üretilmektedir. Yağ dokusunda testesteronun östradiola dönüşmesi diğer non-gonadal kaynak olarak gösterilmiştir. Ayrıca E2 az miktarda beyin, adrenal korteks ve endotel hücrelerinden de kaynaklanmaktadır. Bazal E2 düzeyinin, overin gonadotropine olan yanıtıyla ters bir ilişkisi olduğu belirtilmiştir [1]. IVF tanısı alan hastalarda bazal östradiolün tanısal düzeyini araştıran on adet araştırmayı değerlendiren meta-analizde, kötü gebelik sonuçları açısından E2 parametresinin tanısal değerinin düşük olduğu tespit edilmiştir [40].

Smotrich ve arkadaşları (ark.) tarafından yapılan bir çalışmada IVF'den önceki bir siklusta 3. gün E2 değeri 80 pg/ mL veya üzerinde olan hastalarda siklus iptal yüzdesinin daha yüksek ve gebelik oranlarının ise FSH düzeyine bağlı olmadan daha az olduğu belirtilmiştir [41]. İleri düzeyde reproduktif yaşlanması olan kadınlarda, serum E2 miktarındaki erken atışın ilerlemiş folliküler gelişimi ve dominant follikülün erken seçimini gösterdiği ön görülmüştür. Bazal FSH değeri normal iken E2 miktarı arttığında (> 60-80 pg/mL), over stimülasyonuna zayıf cevap ihtimalinin arttığı ve gebelik olasılığının azalmakta olduğu değerlendirilmiştir [42, 43].

Over rezervini değerlendirmede, çelişkili sonuçlar olmasına rağmen, siklusun 3. günü E2 seviyesi bakılmaya devam edilmektedir [44, 45]. Genelde 80 pg/mL'in altındaki değerler, yeterli over rezervi olarak değerlendirilirken, değişik cut-off değerlerde

kullanılmaktadır. Yüksek östradiol düzeyleri, FSH'yı baskılayabilir ve perimenopozal kadınlarda düşük over rezervini gizleyebilir. Bundan ötürü FSH ve E2 yanlış negatif sonuçları önlemek için beraber değerlendirilmelidir.

2.1.4.3. İnhibin B düzeyi

İnhibin B foliküler faz esnasında daha küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinden üretilir. İnhibin B düzeyleri eksojen Gonadotropin salgılayıcı hormon (GnRH) veya FSH stimülasyonuna cevap olarak artmakta ve siklus içi ve dışı geniş değişkenlik göstermektedir [35]. İnhibin B için genellikle 45 pg/mL sınır değer olarak kabul edilmekte olup, literatürde 40-141 pg/mL arasındaki değerler de sınır değer olarak belirtilmektedir [46]. Eksojen gonadotropin stimülasyonuna cevabı zayıf olan kadınlarda inhibin B düzeyleri normal yanıt verenlere göre sıklıkla daha düşüktür. Bu kadınlarda, düşük inhibin B düzeyi için sınır değer 40-45 pg/mL olarak değerlendirilse bile kötü over yanıtını tahmin etmek için sadece % 64-90 özgüllüğe ve % 40-80 sensitiviteye sahip olduğu söylenmektedir [35]. Özetle, over rezervinin bir ölçütü olarak inhibin B'nin rutin olarak kullanılması önerilmemektedir [46].

2.1.4.4. Anti Müllerian Hormon (AMH)

Antimüllerian hormon, inhibin ve aktivin glikoproteinlerinin de dahil olduğu transforming growth faktör B ailesinin bir üyesidir [47]. Homodimerik disulfid bağla bağlı olup molekül ağırlığı 140 kDa olan bir glikoproteindir [48]. İnsanlarda 19. kromozomun kısa koluna yerleşmiştir. 2750 Bp uzunluğunda ve 5 exon parçasından oluşan AMH geni üçüncü exon parçası molekülün aktif kısmını oluşturmaktadır olup, guanin ve sitozinden zengindir. AMH erkeklerde testiküler sertoli hücrelerinden puberteye kadar çokmiktarda üretilirken, kadınlarda granüloza hücrelerinden ve doğumdan menopoza kadar salınmaktadır [49, 50].

AMH, preantral ve küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinden üretilmektedir. Çok sayıda granüloza hücresi ve daha iyi bir mikrovasküler dolaşıma sahip olduklarından dolayı küçük antral foliküllerin AMH'nın olası birincil kaynakları olduğu belirtilmiştir [35]. En yüksek AMH salgılanması, sekonder, preantral ve <4 mm antral foliküllerin granüloza hücrelerinde olmaktadır. Daha büyük (4-8 mm) antral foliküllerde ise AMH ekspresyonu giderek azalmaktadır [51]. AMH ilk olarak follikül gelişiminin otokrin ve parakrin bir

düzenleyicisi olarak görev almasına rağmen, serumda da ölçülebilir düzeylerde bulunduğu belirtilmektedir [35].

Bireysel AMH serum düzeyi, aynı yaşlardaki kadınlarda önemli miktarda değişiklik gösterebilmekte ve primordial folikül deposu tükendiğinde, menopozdan yaklaşık 5 yıl önce tespit edilemez düzeye gelene kadar artan yaşla beraber yavaşça azalmaktadır. AMH düzeyi, kalan primordial folliküllerin miktarını temsil eden antral folikül havuzunun boyutunu doğru bir şekilde göstermekte ve bir kadının üreme ömrünün kalan kısmını tahmin edebilmektedir [37]. Antimüllerian hormon ticari test kitlerinin, testler arası variabilitesi düşüktür ($< \%10$) ve bu nedenle verilen sonuçlar tutarlıdır [35]. Siklus dönemlerine bağımlı olmadan üretilmesi nedeniyle AMH ölçümünün, FSH ve inhibin testlerine göre avantajlı tarafları bulunmaktadır. Ayrıca, AMH düzeyi, FSH ve E2 seviyesindeki gözlemlenen değişikliklerin öncesinde azalabilmekte ve azalan overyan fonksiyonun erken bir göstergesi olabilmektedir. Son yapılan çalışmalar, AMH düzeyinin FSH ve inhibin seviyelerinden daha etkili bir şekilde overyan primordial folikül sayısı ile alakalı olduğunu göstermektedir [52].

Genellikle düşük AMH düzeyi, overyan stimülasyona kötü cevap, zayıf gebelik yüzdeleri, düşük oosit sayısı ve embriyo kalitesi ile ilişkilendirilmektedir [35]. Fakat infertil kadınlar için doğurganlık potansiyelinin düşürdüğünü düşündürecek AMH sınır değeri konusunda uzlaşma sağlanamamıştır [44, 53, 54]. AMH düzeyinin değerlendirilmesi, testin yapıldığı laboratuvarın sınır değerleriyle bağımlı olmakta ve bu konuda uluslararası bir standart bulunmamaktadır [55]. Infertilite sebebiyle başvuran kadınlarda oosit miktarını tahmin etmek için normalde tek bir AMH tayininin uygun olduğu, ancak tek bir laboratuvar sonucu daima doğru olmayabileceği ve beklenmedik bir AMH sonucu varsa test tekrarı gerektiği belirtilmiştir. IVF popülasyonunda, düşük AMH eşik düzeyleri (0,2-0,7 ng/mL), over uyarılmasına kötü yanıtı (< 3 folikül veya $< 2-4$ oosit) tahmin etmede kullanılmıştır [56, 57]. Ancak AMH'nin tedavi sonrası gebelik sonuçlarını tahmin etmede sensitif ve spesifik olmadığı raporlanmıştır [57, 58]. İlk tedavi siklusuna, klinik hikaye ile beraber aşağıdaki genel kılavuzun önerileri doğrultusunda yaklaşılması gerektiği belirtilmektedir [56, 59, 60].

Bu öneriler:

→AMH <0.5 ng/mL olduğunda, IVF tedavisinde üçten fazla follikülün oluşma ihtimali düşüktür ve böylece IVF tedavisi ile gebelik şansını azaltır. Değerlendirme için ovülasyon indüksiyon protokolleri en zorlayıcı olanlar için oluşturulmuş protokolleri içerir.

→AMH <1.0 ng/mL olduğunda, her yaştaki kadında sınırlı bir over rezervine sahip olduğunu gösterir.

→AMH değerinin >1.0 ng/mL ve <3.5 ng/mL olduğu durumlar birinci basamak ovülasyon indüksiyonu protokolleri uygulanması gerektiği değlendirilebilir.

→AMH >3.5 ng/mL olduğuunda, çokça oosit elde edileceğini göstermektedir. Bu tip hastaların neredeyse tamamı polikistik overin klinik özelliklerini taşımaktadır. Her iki durumda da IVF tedavi stimülasyonları hafif olmalıdır ve ovülasyon indüksiyonu sırasında ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) gelişmesi ihtimali gözden kaçırılmamalıdır. Overrezerv testleri içinde antral follikül sayımı ile birlikte duyarlılığı en yüksek olan parametre, AMH testidir.

AMH testinin, azalmış over rezervi açısından yüksek riskli grupta ve genel IVF hasta popülasyonunda kullanılmasının daha yerinde olacağı belirtilmektedir [57, 61]. İnfertil olan kadınların tersine infertil olmayan kadınlarda AMH seviyelerinin gelecekteki doğurganlık potansiyeli veya gebelik süresi ile ilişkili olmadığı, bunun yanında infertil olmayan kadınlarda, fertilite durumunu veya menopoz başlangıcını tahmin etmek için kullanılmaması gerektiği değlendirilmiştir [62].

2.1.4.5. Klomifen sitrat challenge testi

Klomifen sitrat challenge testinde, kadınlara menstrüel siklusun 5-9. günleri arasında toplam 5 gün süresince 100 mg klomifen sitrat (CC) oral yol ile verilmektedir. Siklusun 3. günü E2 ve FSH değeri, siklusun 10. gününde ise FSH değeri ölçülmektedir. Normal over rezervine sahip olan kadınlarda, klomifen sitrat tedavisine sekonder yanıt olarak kanda yükselen E2 ve inhibin seviyelerinin santral etkisi ile FSH salınımı baskılanmaktadır. Anormal over rezine sahip olan kadınlarda ise bu baskılanma oluşmamakta olup 10. günde bakılan FSH seviyesi 10-22 IU/L arasında yer almaktadır. Bu testin sikluslar arası değışkenliği fazladır. Düşük over rezervini öngörmeye bazal FSH testine göre minimal duyarlılık avantajı dışında kullanılmasını destekleyen önemli bir ölçüt bulunmamaktadır [63].

2.1.4.6. Antral follikül sayımı

Reproduktif çağda kadınların overlerinde 20 ila 150 arasında değışken sayıda büyüyen follikül bulunmaktadır. Fakat bu foliküller 2 mm'den büyük çapta olduklarında transvajinal ultrasonografi (TVUsg) ile görüntülenebilmektedir. Bu boyuttaki foliküller, daha ileri aşamalara ulaşmalarını uyaran ve destekleyen FSH'a karşı sentitif hale gelmiştir. Histolojik

alışmalar, overlerdeki k antral follikül sayısının kalan primordial follikül sayısıyla orantılı olduğunu belirtmektedir [35]. Erken foliküler fazda, her iki overdeki boyutları 2 ile 10 mm arasında TVUsg ile ölçülen folliküllerin sayısının toplamı antral follikül sayısını vermektedir. Tecrübeli kişiler tarafından bu sayım yapıldığında, antral folikül sayımında kişiler arası güvenilirliğin yüksek olduğu belirtilmektedir [64].

2.2. COVID-19

29 Aralık 2019 tarihinde Çin'in Wuhan şhrinde pnömoni tanısı alan hastaların alt solunum yollarını etkileyen oldukça bulaşıcı bir koronavirüs tespit edildi. Dünya Sağlık rgt (DSÖ), bu virüsü 2019 yeni koronavirüs olarak adlandırdı ve 'akut solunum sendromu koronavirüs 2' virüsün güncel referans adı olarak belirtildi (SARS-CoV-2) [65, 66]. Çin'in Wuhan şhrinde 2019'un sonunda ilk bildirilen COVID-19 vakasından şimdiye kadar COVID-19, çok büyük bir hızla Çin'in her şhrine ve sonrasında tüm dünyaya yayılmıştır.

SARS CoV-2, Coronaviridae ailesindeki Orthocoronavirinae alt familyasına ait tek sarmallı, pozitif polariteli, zarflı RNA virüsleridir. Ana semptomları ateş, halsizlik, öksürük, yorgunluk, miyalji ve dispnedir [67]. Birçok vakada anozmi ve hipozmi gibi koku almada değişiklik erken semptomlar olarak bildirilmiştir. Daha nadir olarak başağrısı, konfüzyon, bilinç değişikliği gibi nörolojik semptomlar ve özellikle çocuklarda ishal, kusma gibi gastrointestinal belirtiler COVID-19 enfeksiyonunda tanımlanmıştır [68, 69]. Ciddi vakalarda hipoksemiye bağlı nefes darlığı oluşmakta, bu vakaların akciğer st plevral kısımlarında infiltrasyonlar görülebilmektedir [70]. Ağır vakalar ARDS'ye kadar ilerlemekte; solunum yetmezliği, SARS-CoV-2'li hastalarda başta gelen ölüm sebebi olmaktadır [71].

2.2.1. COVID-19 Spesifik Tedavileri

COVID-19 hastalığı için kanıtlanmış güvenilir ve etkili bir antiviral tedavi bulunmamakla birlikte 100'den fazla randomize kontrollü klinik çalışmalar sürmektedir. Güçlü tedavi nerileri için bu araştırmaların sonuçları beklenmekte olup, klinik durumun ciddiyeti nedeniyle dünya çapında çeşitli tedaviler kullanılmaktadır ve denemeleri sürmektedir. Her lkenin SARS-CoV2 virüsüne karşı kendi protokollerince uyguladığı ilaçların etkililiği yanında güvenilirliği de çok büyük önem taşımaktadır. COVID-19'da hasta yönetimi, solunum fonksiyonunu sürdürmeye odaklanan destekleyici bakım ve antikoagülan

önlemleri, deksametazon ve glukokortikoidler, remdisivir, immünmödülatör ilaçlar (IL-6 inhibitörleri-Tocilizumab ve IL-1 inhibitörleri-Anakinra gibi), konvelesan plazma ve intravenöz immünglobulin (IVIG) terapileri, hidroksiklorokin ve klorokinler, favipiravir, azitromisin, lopiravir-ritonavir, ivermectin gibi jenerik ilaçları içermektedir [72]. Güncel yayınlar hidroksiklorokin, lopinavir, ritonavir ve interferonların gözden düşmesiyle birlikte deksametazon, remdesivir ve tocilizumab ile tedavinin bugüne kadarki en umut verici seçenekler gibi görüldüğünü ileri sürmektedir [73]. Bunun yanında hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların, vücutta çok farklı sistemlerde advers reaksiyon gelişimine neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

2.2.1.1. Favipiravir

Favipiravir; 2014 yılında, Japonya’da standart diğer antiviral ilaçlara yanıt vermeyen influenza virüslerinin tedavisi için onaylanmış bir ön ilaçtır. Bir pürin nükleozid analogu olup bir psödopurin gibi davranarak viral replikasyonu ve transkripsiyonu hedefler. Geniş spektrumlu bu antiviral; Batı Nil virüsü, sarıhumma virüsü, flavivirüs, arenavirüs, bunyavirüs ve alfavirüslere karşı güçlü etkili olup nöraminidaz inhibitörlerine dirençli virüslere karşı da etkilidir [74]. Favipiravir, viral genom transkripsiyon ve replikasyonunda kullanılan RNA’ya bağımlı RNA polimeraz enzimini inhibe ederek antiviral etki oluşturur [75]. National Medical Products Administration of China tarafından, Mart 2020 tarihinde, minimal yan etkili ilk COVID-19 ilacı olarak onaylanmıştır [76]. Favipiravire bağlı bildirilen başlıca yan etkiler; bulantı, kusma, diyare, gastroenterit, hiperürisemi, hipertrigliseridemi ve karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik olup sınırlı sayıda klinik araştırmadan elde edilen verilere dayanmaktadır.

Favipiravir, tüm dünya için neredeyse yeni bir ilaçtır. Ülkemizde de COVID- 19 hastalığında kullanılmak üzere önce yurtdışından getirilmiş ve ardından ülkemizde de üretilmiştir. Kısa ürün bilgisinde, ters siyah eşkenar üçgen bulunan ek izlenmeye gerek duyulan yeni bir ilaçtır. Bu nedenle COVID-19 hastalarında kullanılmasında güvenilirliği ile ilgili veriler de maalesef sınırlıdır.

Favipiravirin diğer antivirallere karşı etkililiği ve güvenliğini değerlendiren bir araştırmada, viral klirens, oksijen desteği gereksinimi ve yan etki profilleri üzerinde önemli bir farklılık oluşturmadan, favipiravir ile tedavi edilen COVID-19 hastalarının standart tedavi uygulanan hastalara kıyasla 14. günde anlamlı bir klinik ve radyolojik iyileşme gösterdiği

farkedilmiştir. Favipiravir tedavisi ve standart tedavi alan gruplar arasındaki yan etkiler karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark bulunamamıştır [77].

Japonya’da yapılan 89 COVID-19 hastasının dâhil edildiği çok merkezli prospektif randomize kontrollü, açık etiketli bir klinik çalışmada, favipiravir grubunda, standart tedavi grubuna göre viral yükte farklılık görülmezken, favipiravir uygulanan hastalarda, ateş standart tedavi grubuna göre anlamlı oranda azalma gözlenmiştir. Favipiravir ile tedavi edilen hastalarda, gözlem süresince klinik tabloda kötüleşme ve mortalite gözlenmemiştir. Favipiravir uygulanan hastalarda bildirilen toplam 144 advers etkiden en sık gözleneni; hiperürisemi (% 84,1) ardından serum trigliserid düzeylerinde (% 11,0) ve serum alanin aminotransferaz düzeylerinde artış (% 8,5) olarak ifade edilmiştir [78].

Çin’de yürütülen non-randomize, COVID-19 tanılı 80 hastanın dâhil edildiği bir klinik çalışmada, gönüllüler favipiravir ve lopinavir/ritonavir gruplarına eklenmiştir. Favipiravir uygulanan hastalarda, viral klirensin lopinavir/ritonavir uygulananlara göre anlamlı olarak daha kısa sürede geliştiği gözlenmiştir. Favipiravir grubunda yer alan 35 hastadan 4’ünde (%11,4) diyare, karaciğer ve böbrek hasarı gibi advers etkiler belirtilmiştir. Lopinavir/ritonavir grubunda ise hastaların %55,6’sında bulantı, kusma, diyare, döküntü, karaciğer ve böbrek hasarı gibi yan etkiler gözlenmiştir. Bu çalışmada favipiravirin, lopinavir/ritonavire göre viral klirensi azaltmasının yanı sıra daha az advers etkilere sebep olduğu belirtilmiştir [79].

Bir olgu sunumunda, 37 yaşındaki ebola virüsü ile enfekte bir erkek hastada favipiravir kullanımına bağlı olarak tedavinin 10. gününde QTc’de uzama izlenmiş ve ilacın durdurulmasından sonra bu advers reaksiyonun ortadan kalkması neden sonuç ilişkisini doğrulamıştır. Fakat hastanın kullanmış olduğu levofloksasin, omeprazol gibi ilaçlar ve elektrolit bozukluklarının yan etki gelişimini kolaylaştırmış olabileceği de belirtilmiştir. Bu nedenle favipiravir kullanımında da elektrolit bozukluğu olan hastalarda EKG izlemi önerilmektedir [80]. Ancak retrospektif olarak hidroksiklorokin ve favipiravire bağlı QT uzamasının değerlendirildiği bir araştırmada favipiravir kullanan hastalarda QT uzaması gözlenmediği bildirilmiştir [81].

Favipiravir ile ilgili sunulan iki farklı olguda; COVID-19 tedavisinde klinik bulguları gerilerken ateş gelişen üç hasta rapor edilmiştir. Ateşin favipiravir kesildikten sonra düşmesinin neden sonuç ilişkisi açısından favipiravirin yan etki olarak ateşe neden olduğu yorumunun yapılmasına neden olmuştur [82, 83]. Favipiravir, COVID-19 hastalığı tedavisinde klinik araştırmaları süren ve etkililiği, güvenliliği ve ilaç-ilaç etkileşimleri hususunda çok az bilgiye sahip olunan bir antiviraldir.

2.2.1.2. Deksametazon

Pandeminin ilk dönemlerinde DSÖ, viral pnömonilerde kortikosteroidlerin rutin kullanımını önermemiştir. Sürvi faydası olmayacağı, hatta avasküler nekroz, diyabet, psikoz ve azalmış viral klirens gibi zararları olabileceği endişesi dile getirilmiştir [84].

Fakat daha sonraki yayınlarda COVID-19 hastalığında;

1.Evre: viral yanıt fazı;

2.Evre: pulmoner faz (2A’da hipoksemi henüz gelişmemiş, 2B’de hipoksemi gelişmiş)

3.Evre: hiperinflamasyon fazı olmak üzer 3 evre tanımlandı.

Birinci evrede ve 2A evresinde antiviral tedavinin, 2B evresi ve 3. Hiperinflamasyon evresinde antianflamatuvar tedavinin daha etkili olabileceği düşünülmektedir [85].

Tedavi ile ilgili yapılmış RECOVERY çalışmasında 2104 hastaya 6 mg/gün dozunda 10 gün deksametazon uygulanmış, 4321 hasta kontrol grubu olarak izlenmiştir. Araştırmacılar oksijen tedavisi gerektiren, özellikle mekanik ventilasyon ihtiyacı olan hastalarda deksametazon tedavisi ile 28 günlük mortalite ve hastanede kalış sürelerinde anlamlı azalma olduğu belirtilmiştir. Oksijen tedavisi almayan hastalarda ise mortalite ve hastanede kalış süreleri üzerine olumlu bir etki saptanmamış ve olası yan etkilerden dolayı önerilmemiştir [86].

Eylül 2020 başında DSÖ, COVID-19 tedavisinde kortikosteroid kullanımı ile ilgili bir rehber hazırlamıştır. Bu rehberi hazırlarken o zamana kadar yayınlanmış RECOVERY çalışması da dahil 8 randomize kontrollü çalışmayı içeren iki meta-analiz incelenmiştir. Bu rehberde kortikosteroid tedavisi ile ilgili iki tavsiyede bulunulmuştur. Panel, şiddetli ve kritik COVID-19 vakalarında 7 ila 10 gün boyunca sistemik (ağız yoluyla veya intravenöz günlük 6 mg deksametazon veya 8 saatte bir 50 mg hidrokortizon) kortikosteroid tedavisi için güçlü bir şekilde önerirken, şiddetli olmayan COVID-19 hastalarında kortikosteroid tedavisinin kullanılmaması için şartlı bir öneride bulunmuştur [87]. Diğer uluslararası rehberlerde 6 mg deksametazon/gün kritik veya ciddi hastalıkta önerilmiştir [88-90].

2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller; reaktiviteleri son derece yüksek olup, son yörüngelerinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron bulunduran ve diğer maddelerle kolaylıkla tepkimeye girebilen, pozitif/negatif yüklü veya nötr haldeki non stabil kimyasal moleküllerdir [91]. Bu

özellikleri nedeniyle yararlı biyomoleküllerin fonksiyonlarını bozabilir; hücrelere, dokulara, lipid, protein, DNA ve koenzimler gibi birçok biyolojik materyale hasar verebilirler [92]. Serbest radikallerin zararlı etkileri olduğu bilinsede, şaşırtıcı şekilde düşük konsantrasyonda yararlı da olabilmektedirler. Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler ancak aerop ortamda serbest radikallerin çoğu oksijenli solunum reaksiyonları sırasında mitokondri iç zarında oluşan oksijen radikali şeklindedir. Oksijen kaynaklı olanlar (Reaktif oksijen türleri-ROT); süperoksit iyon (O_2^-), hidroksil iyon (OH^-), peroksil (ROO^-), alkoksil (RO^-) ve lipid peroksil (LOO^-) molekülleridir. Nitrojen kaynaklı olanlar (Reaktif nitrojen türleri-RNT) ise nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO_2^-)'tir [93].

Serbest radikaller endojen (hücre içi metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü) ve eksojen kaynaklı (radyasyon, ilaç ve zararlı kimyasalların etkisi ile) olabilmektedir. Endojen serbest radikaller mitokondride oksijenli solunum sırasında elektron transport zinciri (ETZ) tarafından katalize edilen oksijenler olarak üretilirler. Endojen serbest radikaller lipid peroksidasyonu, mitokondriyel sitokrom oksidaz ve ksantin oksidaz gibi çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşurlar. Endojen kaynaklardan bir diğeri ise immün sistem hücreleri tarafından patojenlere yanıt olarak üretilen ROT ve oksijen radikalleri üretimidir. Eksojen serbest radikal oluşumuna sebep olan etmenler arasında ise çeşitli kimyasallar, iyonize ve ultraviyole radyasyon, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, hava kirliliği oluşturan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı ve solventler gibi çevresel faktörler vardır. Ayrıca antineoplastik ilaçlar, alkol ve uyuşturucu maddeler de eksojen olarak serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır [94].

Serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin oluşumu hayat boyu devam eden bir metabolik olay olduğu gibi organizmalar da serbest radikallerin veya ROT'un zararlarını azaltacak antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. ROT üretimi ile vücuttaki antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması sonucunda ortaya çıkan moleküler ve hücresel fonksiyonlarda bozulma "oksidatif stres" olarak tanımlanmaktadır.

2.3.1. Malondialdehit (MDA)

Membran poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu meydana gelen nonenzimatik oksidatif lipid peroksitlerinin parçalanmasından oluşan toksik etkili son metabolik üründür [95]. MDA lipid peroksidasyonun en önemli göstergesidir [96, 97]. Malondialdehit gibi sitotoksik aldehitler hücrede DNA ve proteinler gibi makromoleküllerde

hasar oluşturarak hücrenin fonksiyon görmemesine sebep olurlar [98]. Dokularda lipid peroksidasyonun meydana gelmesi ve buna bağlı olarak MDA artışı, hücrede membran bütünlüğünün kaybolmasına, hücre zarının geçirgenliğinin artmasına, hücrelere kalsiyum ve sodyum gibi elektrolit geçişlerinin hızlanması sonucu ATP kaybına, DNA hasarına ve hücre ölümleri ile sonuçlanan fizyolojik, metabolik ve işlevsel bozukluklara neden olmaktadır. Oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılan MDA, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve mutajenik, genotoksik, karsinojeniktir. MDA miktarının ölçümü, lipid peroksid düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksidlerinin düzeyini göstermektedir [99].

2.3.2. Glutasyon (GSH)

GSH, hücre içinde oksidan hasara karşı protektif etki gösteren en önemli antioksidan bileşiktir. Karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda glutamat, sistein ve glisinden sentezlenmekte olup sentezde γ -glutamil sistein sentaz ve glutasyon sentaz enzimleri katalizördür. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde görevlidir. Ayrıca proteinlerde sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı koruyup bunun sonucunda fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktive olmasını engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membranlardan geçişini sağlar. GSH'nın eritrositleri, lökositleri ve lensi oksidatif strese karşı koruyucu etkisi çok büyük öneme sahiptir. GSH dengesi için diyetle yeterli protein alınmasının gerekli olduğu ve enteral veya parenteral alınan sistin, metiyonin ve N-asetilsisteinin GSH biyosentezinde sisteinin öncüsü olarak önemli rol aldığı çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Hayati fonksiyonlarda öneme sahip GSH'nın hayvan deneylerinde yeterli konsantrasyonlarda lenfositlerin ve ince barsak epitel hücrelerinin proliferasyonu için gerekli olduğu belirtilmektedir. Spermatojenez ve sperm maturasyonunda rol oynadığı, influenza virüsünün neden olduğu enfeksiyonları inhibe ettiği, T-lenfositlerin, polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) ve sitokinlerin aktivasyonu için gerekli olduğu ve immün sistemin önemli bir parçası olduğu ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalar GSH eksikliğinin oksidatif strese neden olduğu ve karaciğer hastalıkları, kistik fibrozis, alzheimer, parkinson, epilepsi, orak hücreli anemi, AIDS, kanser, koroner kalp hastalığı, inme, diyabet gibi pek çok hastalığın nedeni olabileceği belirtilmiştir [100].

MDA/GSH dengesi oksidan stres belirteci olarak sıkça kullanılmaktadır [101]. Bu son ürünlerin miktarının belirlenmesi vücudun prooksidan/antioksidan dengesi hakkında bilgi vermektedir. Oksidan-antioksidan dengeyi değerlendirmenin sıklıkla başvurulmuş yolu; oksidan maddenin lipitlere etkisi ile lipitlerin peroksidasyonu ve son ürün olarak MDA oluşumudur [102]. Bu strese karşı koyan organizmanın endojen antioksidan savunma sisteminin belirteci olarak GSH kullanılmaktadır [103, 104].



3.GEREÇ YÖNTEM

3.1. Deney hayvanları

Çalışmamızda kullanacağımız 240-255 gram arasında değişen toplam 32 adet albino wistar türü dişi sıçanlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlar aynı merkeze bağlı laboratuarda normal oda sıcaklığında (22 °C) barındırıldı ve standart hayvan yemi ile beslendi. İki günlük adaptasyon süresinin ardından, bir siklusu tamamlayana kadar vajinal smear takibi yapıldı, bu sürenin sonunda 4-5 günlük östrus siklusu gösterip, fazları düzenli devam eden denekler çalışmaya dahil edildi.

3.2. Kimyasal maddeler

Deneyde kullanılan, favipiravir tablet şekli (Türkiye), deksametazon ampul enjeksiyonluk şekli (Türkiye) ve tiyopental sodium İ.E ULAGAY (Türkiye) temin edildi.

3.3. Deney grupları

Deneyde kullanılacak olan ratlar favipiravir uygulanan (FPR), deksametazon (DEKSA), favipiravir + deksametazon (FDA) ve sağlıklı kontrol (SG) gruplarına ayrıldı.

3.4. Deney prosedürü

Bu deneyin tatbiki için FPR (n-8) grubuna favipiravir 100 mg/kg dozda sonda ile oral yoldan mideye verildi. DEKSA grubuna (n-8) 8 mg/kg dozda deksametazon intraperitoneal (i.p.) yoldan enjekte edildi. FDA grubuna ise 100 mg/kg favipiravir (n-8) + 8 mg/kg dozda deksametazon (n-8) aynı yoldan uygulandı. SG hayvan grubuna çözücü olarak aynı hacimde distile su verildi. Favipiravir günde iki defa, deksametazon ise bir defa verildi. Bu prosedür bir hafta boyunca tekrarlandı. Deney süresince her gün, bir kez smear alınarak östrus fazları takip edildi. Vajinal smear yöntemi; farelerin vajinasına distile su verildi ve bu sıvı geri alınarak lama yayıldı, ışık mikroskopunda değerlendirildi. Bu süre sonunda hayvanlar yüksek doz tiyopental sodyum anestezisi ile (30 mg/kg) uyutuldu ve AMH seviyesini araştırmak için kalpten kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dk da 15 dakika santrifüj edildi

ve serumları ayrıştırıldı. Biyokimyasal tetkik yapılana kadar -20 C’de saklandı. Daha sonra dekapitasyonla öldürülen hayvanların over dokuları çıkartıldı. Çıkarılan over dokusu biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırıldı. FPR, DEKSA ve FDA gruplarından elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar SG grubundan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı.

3.5. Biyokimyasal analizler

3.5.1. AMH Ölçümü

Hayvanlardan elde edilen serum örneklerinde AMH düzeyleri, rat AMH (Hangzhou Eastbiopharm Co. Ltd. Hangzhou, CHINA) kitleriyle Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay testi (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçüldü. Prospektüste kitin analitik duyarlılığı 0,05 ng/mL ve analiz sınırları 0.1-40 ng/mL olarak bildirilmekteydi.

3.5.2. Doku Malondialdehid (MDA) ve Total Glutasyon (tGSH) analizi

3.5.2.1. Numunelerin Hazırlanması

Over dokusunda MDA tayini için % 1.15’lik potasyum klorür çözeltisi, tGSH ölçümü için pH=7.5 olan fosfat tamponu içinde 2 mL’ ye tamamlanarak buzlu ortamda homojenize edildi. Daha sonra +4 °C’de 10000 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı analiz numunesi olarak kullanıldı.

3.5.2.2. Doku MDA miktar tayini

MDA ölçümü için, Ohkawa H ve arkadaşlarının kullandıkları yöntem esas alındı [105]. Bu yöntem, yüksek sıcaklıkta (95 °C’de) tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA’nın oluşturduğu pembe renkli kompleksin absorbansının 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Homojenatlar, 5000 g’de 20 dakika santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, MDA miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat, 100 µl % 8 sodyum dodesil sülfat (SDS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl % 0.08 TBA ve 150 µl saf su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100 °C’de 60 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2,5 ml n-bütanol ilave edildi ve spektrofotometrik

olarak ölçüm yapıldı. Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm’de 3 ml’lik küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak numunelerin MDA miktarı belirlendi.

3.5.2.3. Doku tGSH miktar tayini

Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5’-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenmektedir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçüldü. Homojenatlar, 12000 g’de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, Glutasyon (GSH) miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0,2 mM etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren 200 mM Tris-HCl, pH=8,2), 500 µl süpernatant, 100 µl 5,5’-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslendi. Karışım 37°C’ de 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonra spektrofotometre ile ölçümler yapıldı. Oluşan sarı renk miktarları 412 nm’de 3 ml’lik kuartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanılarak numunelerin GSH miktarı belirlendi [106].

3.6. Histopatolojik inceleme

Histopatolojik değerlendirme için ovaryum %10’luk formalin solüsyonu içerisinde tespit edildi. Rutin histolojik doku takip aşamalarından geçirildikten sonra parafine gömüldü. Mikrotomda 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) boyası ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu ile incelendi (Olympus BX53, Japan). Histopatolojik değerlendirme için gruplardaki her hayvan için rastgele örnekleme yapılarak ortalama 15-17 alanda değerlendirme yapıldı. Bulgular semikantitatif olarak değerlendirildi. Bulgular, incelenen bölgelerde gözlenen hasar derecesine göre semikantitatif olarak değerlendirildi. Buna göre: (-) (normal doku), çok az hasar: (+) (hasar < % 25), az hasar: (++) (% 25-50), orta hasar: (+++) (% 50-75), şiddetli hasar: (+++++) (hasar > %75) şeklinde değerlendirildi.

3.7. Stereoloji

Stereolojik değerlendirme için mikrotomda 5 µm kalınlığında ardışık kesitler alındı. İlk kesit çifti rastgele seçilerek diğer kesit çiftleri ise sistematik olarak her 20. adımda bir alındı. Böylece her doku bloğundan 12-17 arasında kesit çifti alınmış oldu. Lam üzerine alınan doku çiftleri HE boyası ile boyandıktan sonra ışık mikroskobunda incelenmeye alındı. Dokunun toplam hacmi için *Cavalieri Prensibi*, folikül sayımı için *fiziksel disektör* sayım metodu uygulandı. Dokunun hacmi hesaplamak için şu formül kullanıldı;

$$V_{ref} = \sum P. a(p).t$$

$\sum P$: Yapıya denk gelen toplam nokta sayısı, $a(p)$: Bir noktanın kapladığı alan, t : Kesit kalınlığı

Toplam primordiyal folikül sayısı hesaplamak için kullanılan formül;

$$N = N_v. V_{ref}$$

N : Toplam folikül sayısı, N_v : Foliküllerin sayısal yoğunluğu, V_{ref} : Dokunun toplam hacmi

Hücre sayısal yoğunluğunu hesaplamak için kullanılan formül;

$$N_v = \frac{\sum \bar{Q}^-}{V_{dis}}$$

$\sum \bar{Q}^-$: Toplam disektör hücre sayısı, V_{dis} : Toplam disektör hacmi

3.8. İstatistiksel Analizler

Deneylerden elde edilen sonuçlar “ortalama değer ± standart sapma” ($\bar{x} \pm SEM$) olarak ifade edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) testi kullanılarak belirlendi. Takibinde Fisher’s post-hoc LSD (least significant differences) yapıldı. Post-hoc test olarak varyanslar homojen olduğu için Tukey testi kullanıldı. Tüm istatistiksel işlemler “SPSS for Windows, 18.0” istatistik programında yapıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Over dokusunun biyokimyasal analiz sonuçları

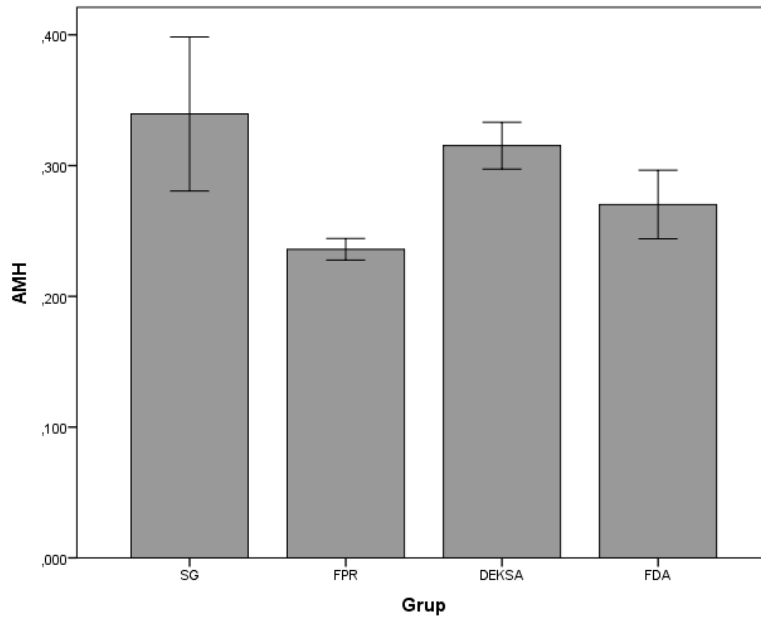
4.1.1. AMH Ölçüm Sonuçları

Çalışma gruplarında AMH düzeyleri ölçülmüş ve tanımlayıcı istatistikler Tablo 1’de sunulmuştur. AMH düzeyleri DEKSA ve SG’de benzer bulunurken ($p=0,691$), FPR grubunda düzey SG’ye göre daha düşük bulunmuştur ($p=0,006$). Kombinasyon grubunda (FDA) düzey SG’ye göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,053$). Yine FDA grubunda düzey FPR grubundan daha yüksek ancak DEKSA grubundan daha düşük bulunmuş ve her iki grup arasındaki farkın da (FPR-FDA, DEKSA-FDA) anlamsız olduğu görülmüştür. Gruplar arasında AMH düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması Şekil 1’de verilmiştir.

Tablo 1. AMH ölçümlerine ait bulgular*

	AMH
SG	Ortalama
	Standart sapma
	Medyan
	Minimum
	Maksimum
FPR	Ortalama
	Standart sapma
	Medyan
	Minimum
	Maksimum
DEKSA	Ortalama
	Standart sapma
	Medyan
	Minimum
	Maksimum
FDA	Ortalama
	Standart sapma
	Medyan
	Minimum
	Maksimum

* Veriler normal dağıldığı için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırmalar gerçekleştirildi. Post-hoc test olarak varyanslar homojen olmadığı için Games-Howell testi kullanıldı.



Şekil 1. SG, FPR, DEKSA ve FDA gruplarında AMH düzeylerinin karşılaştırılması

SG: Sağlıklı grup, FPR: Favipiravir verilen grup, DEKSA: Deksametazon verilen grup, FDA: Favipiravir + Deksametazon verilen grup

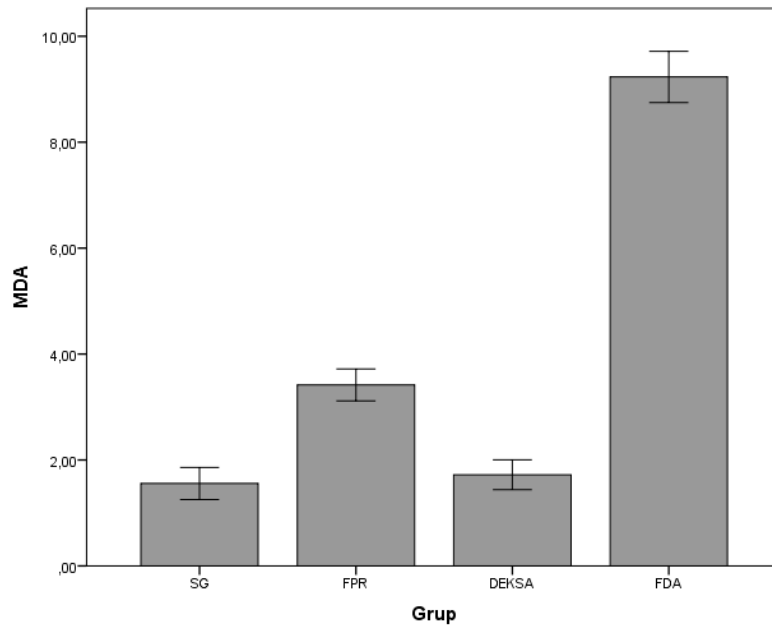
4.1.2. Doku Malondialdehid (MDA) ve Total Glutasyon (tGSH) analizi sonuçları

Çalışma gruplarında oksidatif stres parametrelerine ait ölçümler yapılmış ve MDA, tGSH'a ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 2'de sunulmuştur. MDA düzeyleri DEKSA ve SG'de benzer bulunurken ($p=0,786$), FPR ve FDA gruplarında düzey SG'ye göre daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$). Gruplar arasında MDA düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 2'de verilmiştir. tGSH düzeyleri de DEKSA ve SG'de benzer bulunurken ($p=0,385$), FPR ve FDA gruplarında SG'ye göre daha düşük bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$).

Tablo 2. Oksidatif stres parametre ölçümlerine ait bulgular

		MDA	tGSH
SG	Ortalama	1,56	6,88
	Standart sapma	0,3	0,4
	Medyan	1,64	6,89
	Minimum	1,12	6,17
	Maksimum	1,93	7,45
FPR	Ortalama	3,42	3,58
	Standart sapma	0,3	0,31
	Medyan	3,4	3,71
	Minimum	3,1	3,11
	Maksimum	3,89	3,88
DEKSA	Ortalama	1,72	6,59
	Standart sapma	0,28	0,45
	Medyan	1,81	6,73
	Minimum	1,32	5,9
	Maksimum	2,1	7,1
FDA	Ortalama	9,23	1,45
	Standart sapma	0,48	0,24
	Medyan	9,23	1,42
	Minimum	8,56	1,16
	Maksimum	9,95	1,81

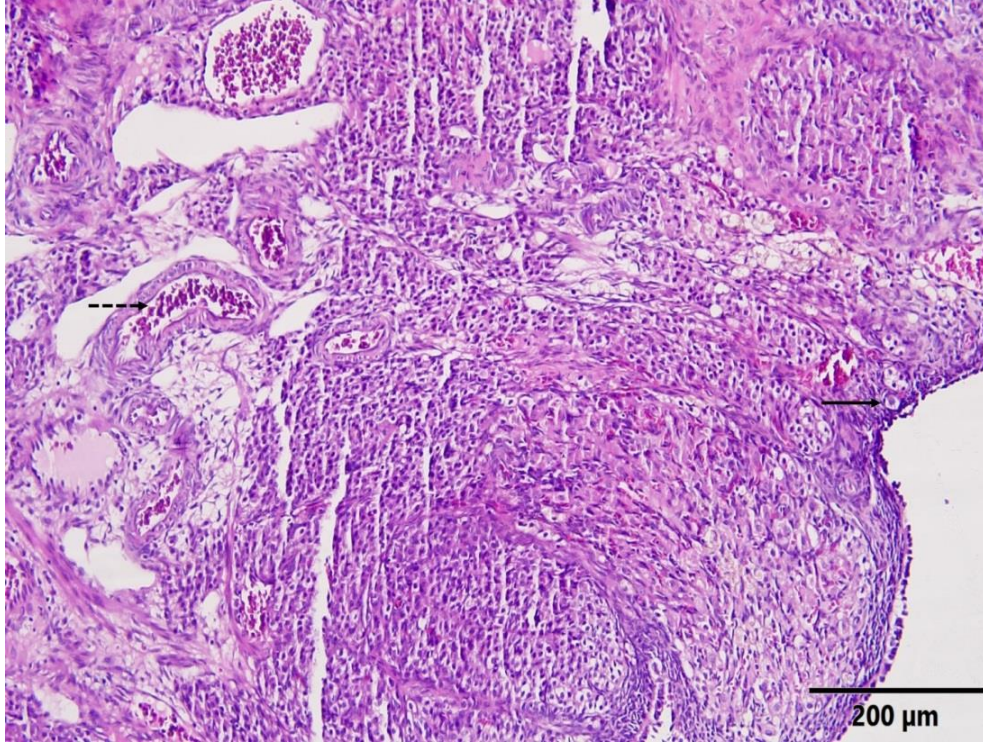
* Veriler normal dağıldığı için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırmalar gerçekleştirildi. Post-hoc test olarak varyanslar homojen olduğu için Tukey testi kullanıldı.



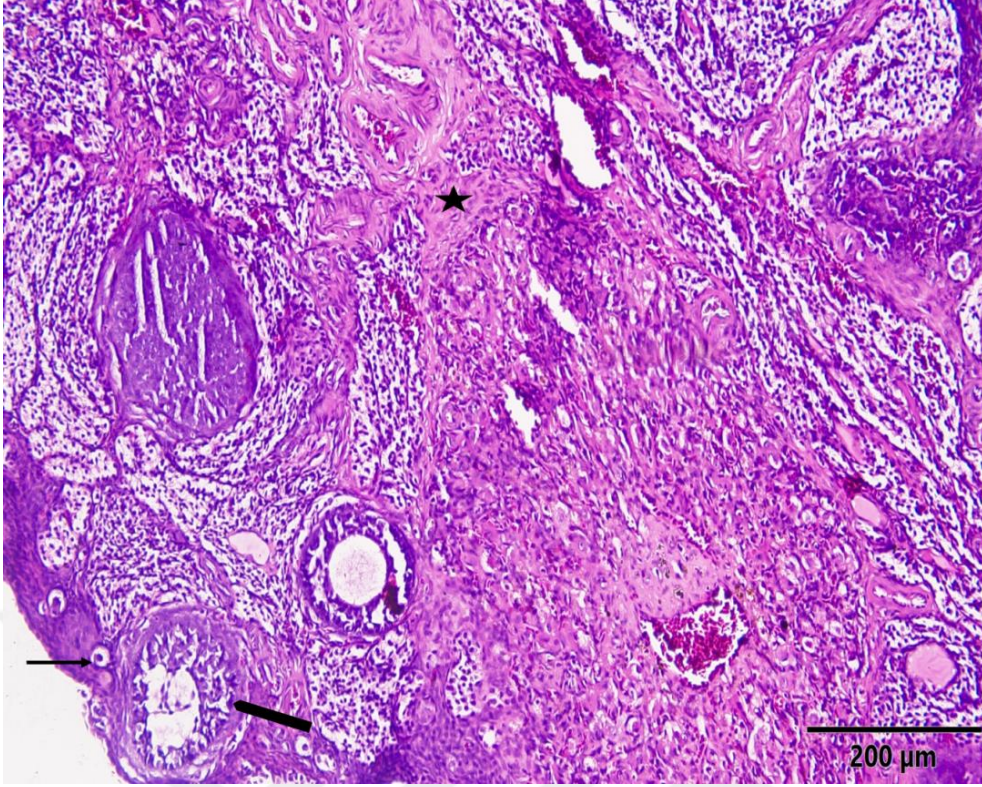
Şekil 2. Gruplar arasında MDA düzeylerinin karşılaştırılması

4.2. Histopatolojik ve Stereolojik Bulgular

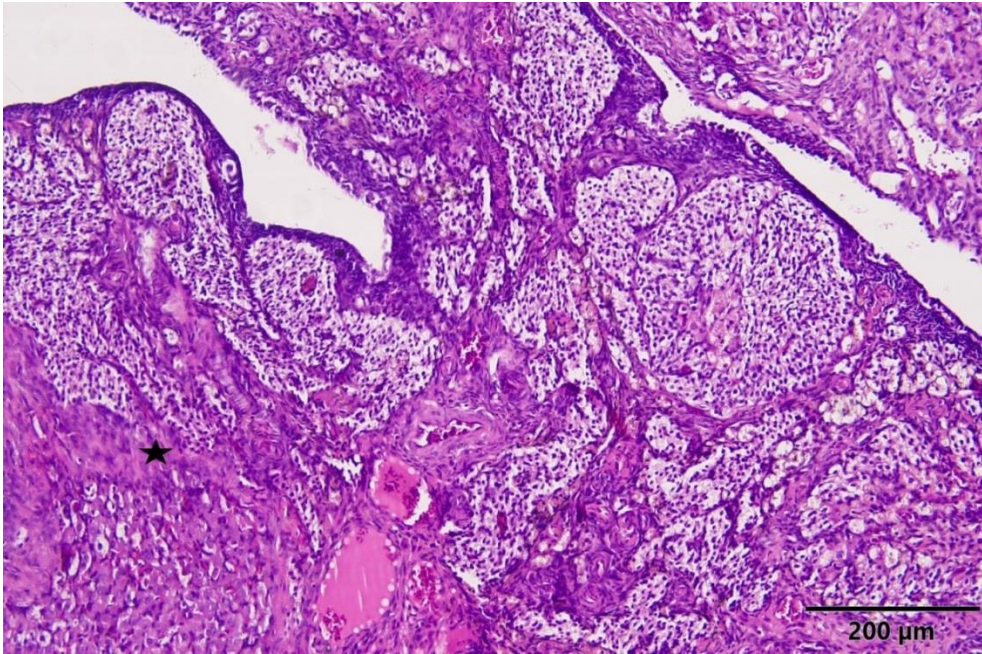
Kontrol grubu normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi. FPR grubunda foliküler hücre bütünlüğünün bozulduğu ve fibrotik alanların arttığı gözlemlendi. DEKSA grubunda kontrol grubuna göre kortikal alanda bağ doku artışı gözlemlendi. FDA grubunda kontrol grubuna göre primordiyal foliküllerin azaldığı ve atretik foliküllerin arttığı, korteks/medulla oranında artış ve folikül hücrelerinde dejenerasyon gözlemlendi. Her dört gruptaki ratların over dokularına ait histopatolojik görüntüler Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6’te verilmiştir.



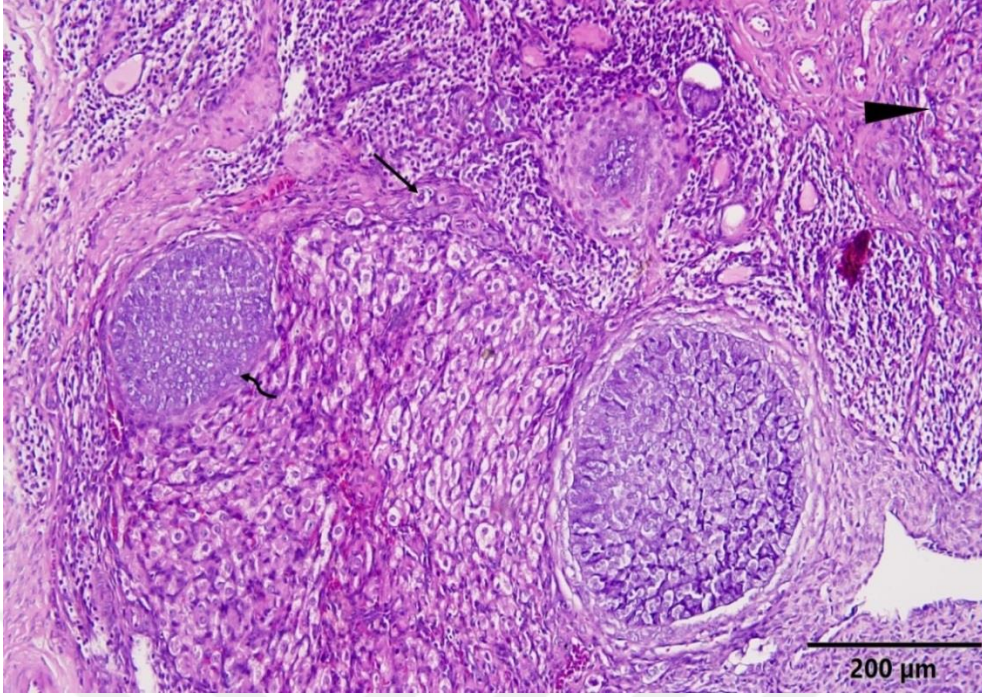
Şekil 3. SG, ince ok primordiyal folikül, kesikli ok: damar. H-E. 20x



Şekil 4. FPR, Yıldız: Fibröz bağ dokusu, Kalın ok: Foliküler hücre deformasyonu. H-E. 20x



Şekil 5. DEKSA grubu. H-E. 20x



Şekil 6. FDA grubu. Kavisli ok: Dejenerasyon, ok başı: Atretik folikül. H-E. 20x

Çalışma gruplarında stereolojik ölçümler yapılmış ve primordiyal folikül sayısı, korteks hacmi, medulla hacmine ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 3’te sunulmuştur.

Gruplarda primordiyal folikül sayısı karşılaştırıldığında, FPR ve DEKSA grubunda SG’a göre daha düşük sayıda folikül görülmesine rağmen farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p=0,075$; $p=0,293$). Fakat kombinasyon uygulanan grupta (FDA) SG’a göre düşük folikül sayısına rastlanmıştır ($p< 0,001$) (Şekil 7).

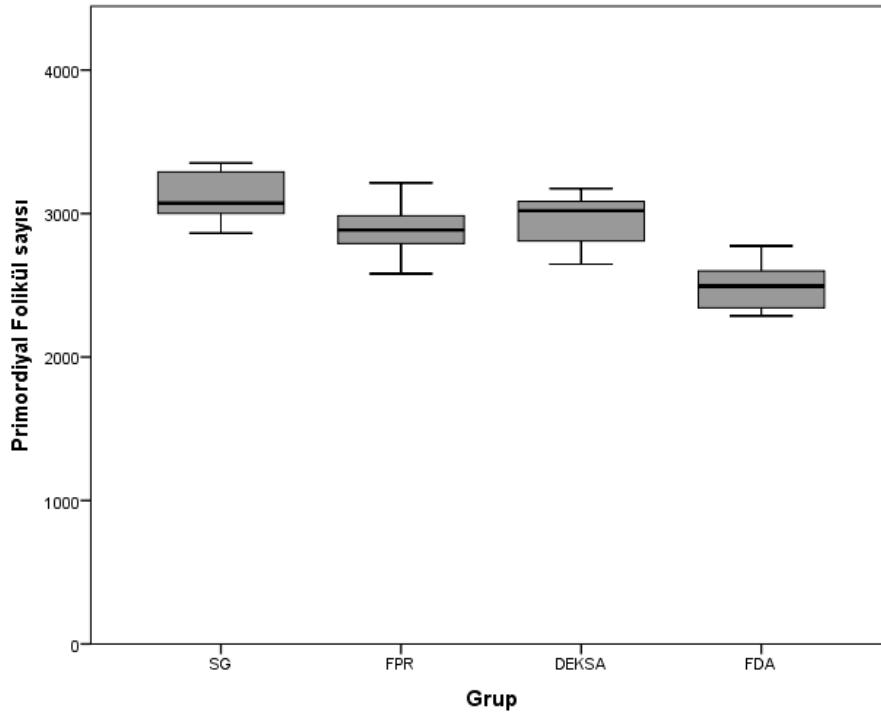
Korteks hacmi incelendiğinde, FPR grubunda hacim SG ile benzer düzeyde görüldü ($p=0,812$). DEKSA ve kombinasyon gruplarında ise hacim SG’a göre daha düşüktü (sırasıyla $p=0,012$; $p<0,001$) (Şekil 8).

Medulla hacmi ölçümleri karşılaştırıldığında tüm ilaç gruplarında SG’a göre yüksek hacme rastlandı (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$) (Şekil 9).

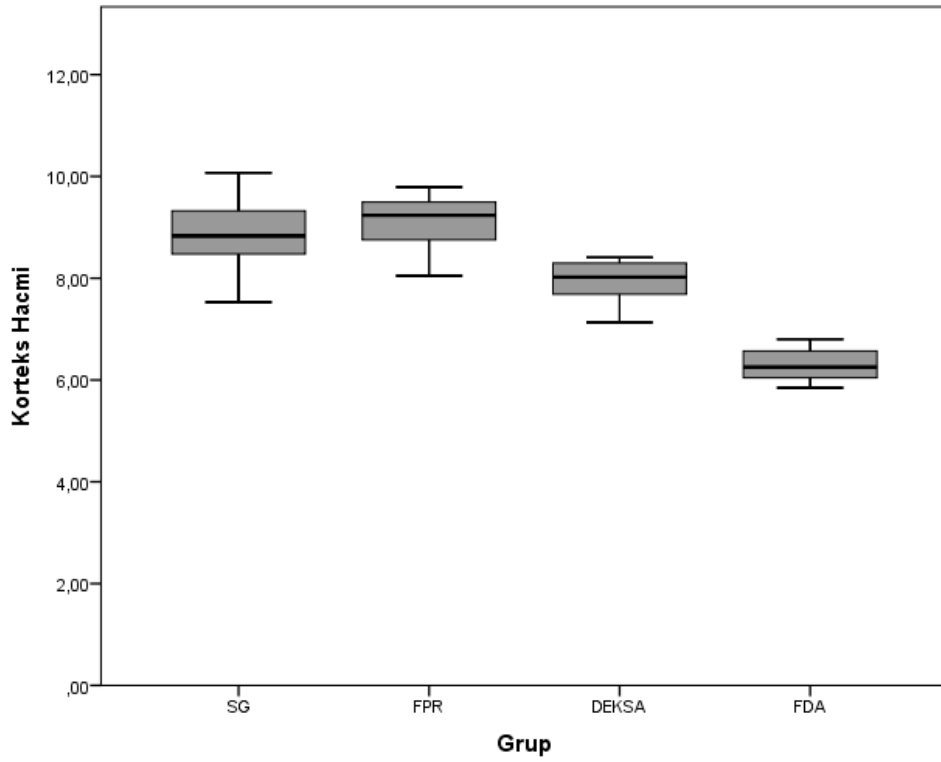
Tablo 3. Ovaryuma ait stereolojik bulgular*

		Primordiyal Folikül sayısı	Korteks Hacmi	Medulla hacmi
SG	Ortalama	3118	8,9	1,3
	Standart sapma	177	0,8	0,2
	Medyan	3072,5	8,8	1,4
	Minimum	2864	7,5	1,1
	Maksimum	3352	10,1	1,8
FPR	Ortalama	2889,6	9,1	2,2
	Standart sapma	186,6	0,6	0,2
	Medyan	2885	9,2	2,1
	Minimum	2581	8,1	2,0
	Maksimum	3214	9,8	2,6
DEKSA	Ortalama	2956,1	7,9	2,8
	Standart sapma	182,7	0,4	0,2
	Medyan	3020	8	2,8
	Minimum	2647	7,1	2,4
	Maksimum	3174	8,4	3,1
FDA	Ortalama	2492	6,3	1,9
	Standart sapma	171,8	0,3	0,1
	Medyan	2494	6,3	1,9
	Minimum	2287	5,9	1,7
	Maksimum	2775	6,8	2,1

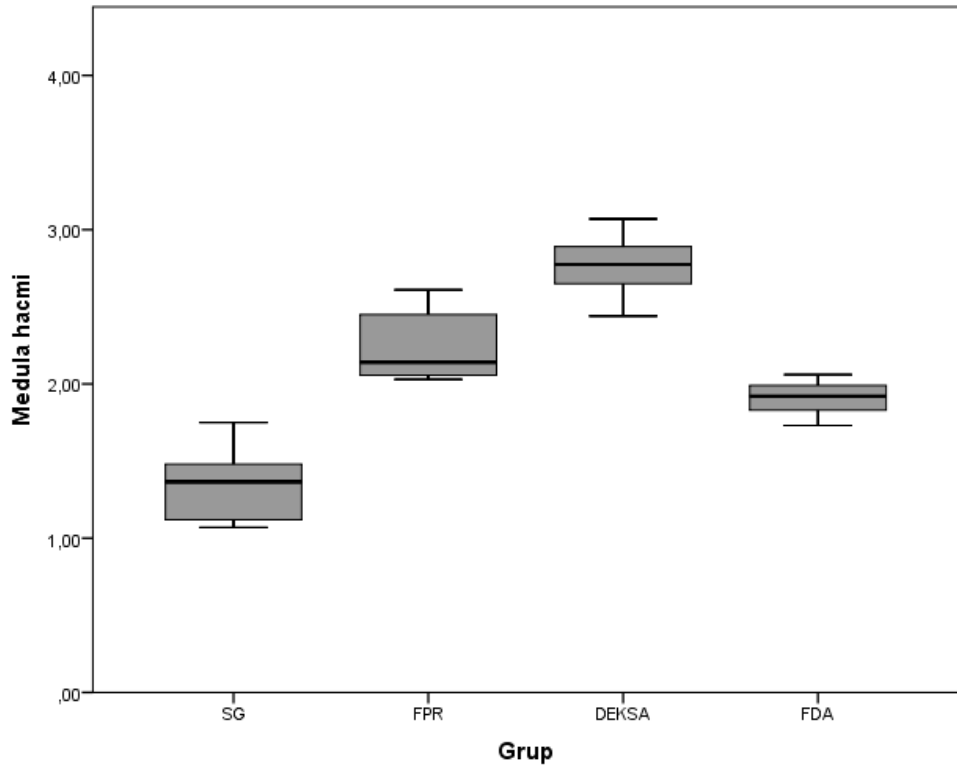
* Veriler normal dağıldığı için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırmalar gerçekleştirildi. Post-hoc test olarak varyanslar homojen olduğu için Tukey testi kullanıldı.



Şekil 71. Gruplar arasında primordiyal folikül sayısının karşılaştırılması



Şekil 82. Gruplar arasında korteks hacminin karşılaştırılması



Şekil 93. Gruplar arasında medulla hacminin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Tüm dünyayı etkisi altına alan koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19), ilk olarak Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde, bir deniz ürünleri pazarına temas öyküsü olan kişilerde ortaya çıkmıştır. Ülkemizde şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2'nin (SARS-CoV2) etken olduğu ilk COVID-19 vakası, 11 Mart 2020'de tespit edilmiş olup, DSÖ, 12 Mart 2020 itibariyle COVID-19'u pandemi ilan etmiştir [107]. Ekim 2021 itibariyle beş milyona yakın kişinin ölümüyle sonuçlanan ve ölüm vakalarının da dahil olduğu toplam 240 milyona yakın onaylanmış vaka DSÖ'ye bildirilmiştir [108]. Ülkemizde ise aynı tarih itibariyle yedi milyondan fazla kişi COVID-19 ile enfekte olmuş, bu vakaların yaklaşık 65 bini ölümle sonuçlanmıştır [109]. COVID-19'un neden olduğu klinik tablolarasemptomatik veya hafif bir üst solunum yolu enfeksiyonu belirtilerinden ağırpnömoniye kadar değişebilmektedir. Ancak SARS-CoV2 sistemik bir virüstür, dolayısıyla ana hedefi olsa datek hedefi akciğerler ve bağışıklık sistemi değildir. Son veriler COVID-19'un ürogenital sistem, sindirim sistemi, santral sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem için de potansiyel bir tehdit olduğunu göstermektedir [110]. Özellikle kadın üreme sistemi üzerinde yapılmış çok az sayıda çalışma olması nedeniyle birçok soru işareti bulunmaktadır.

Günümüzde COVID-19 tedavisinde kullanılan rejimler, tam olarak etkinliği kanıtlanmamış, farklı endikasyonlara yönelik tedavi edici etkileri bulunan veya in vitro çalışma sonuçları ile fayda sağlayacağı düşünülen ilaçlardır [111, 112]. Bu ilaçların farklı farmakolojik özelliklerinden dolayı uygulama şekilleri ve dozları, ilaç etkileşimi ve yan etkileri de farklılık göstermektedir. Bu nedenle tedavi süreci boyunca bu ilaçların etkileşim ve yan etkileri açısından takip edilmeleri gerekmektedir [113].

Biz bu çalışmada COVID-19 tedavisinde tek başına veya kombine halde kullanılabilen favipiravir ve deksametazonun dişi sıçanların over rezervine ve üreme fonksiyonuna etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmayı amaçladık. Literatür incelendiğinde sözü edilen ilaçların over rezervi ve üreme fonksiyonuna etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır ve çalışmamız literatürde bu konuda yapılan ilk çalışmadır.

Çalışmamızda 32 adet dişi sıçan kullanılmış ve bu sıçanlar 8'erli dört gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki sıçanlara herhangi bir ilaç uygulanmamıştır (SG). İkinci gruba tek başına favipiravir (FPR), üçüncü gruba tek başına deksametazon (DEKSA) ve son olarak dördüncü gruba favipiravir+deksametazon kombine tedavisi (FDA) uygulanmıştır. Bu dört grubun biyokimyasal olarak karşılaştırılmasında en duyarlı over rezerv testlerinden biri olan AMH ölçümü kullanılmış; uygulanan ilaçların oksidan ve antioksidan etkinliklerinin

belirlenmesinde doku MDA ve tGSH ölçümü yapılmıştır. Son olarak ise her gruptaki sıçanların over dokuları histopatolojik ve steorolojik olarak folikül sayısı, korteks ve medulla hacmi açısından karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda yer alan grupların AMH ölçümlerine bakıldığında SG ve DEKSA grubunda benzer olduğu, FPR ve FDA grubunda ise SG'ye göre daha düşük düzeyde olduğu görülmüş ancak bu farklılık anlamlı bulunmamıştır. Oksidatif stres açısından doku MDA düzeyine bakıldığında SG ve DEKSA grubunda benzer olduğu, FPR grubunda SG'nin yaklaşık iki katı, FDA grubunda ise SG'nin yaklaşık 6 katı olduğu görülmüştür. FPR ve FDA grubundaki doku MDA yüksekliği SG ve DEKSA grubuna göre, aynı zamanda FDA grubundaki doku MDA yüksekliği FPR grubuna göre anlamlı olarak bulunmuştur. Antioksidan etkinlik açısından gruplar arasındaki tGSH düzeyleri karşılaştırıldığında ise SG ve DEKSA grubunda birbirine yakın seviyede olup FPR ve FDA grubunda anlamlı seviyede düşük olduğu görülmüştür. Yine FDA grubunda tGSH miktarının FPR grubundan anlamlı düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır. Gruplarda primordiyal folikül sayısı karşılaştırıldığında, FPR ve DEKSA grubunda SG'a göre daha düşük sayıda olan folikül sayısı istatistiksel olarak anlamlı değilken FDA grubunda SG'ye göre anlamlı derecede düşük folikül sayısına rastlanmıştır.

SARS-CoV2'nin tedavisinde kullanılan ilaçların etkileri ve yan etkilerine değinmeden önce virüsün kendisinin farklı organ ve sistemler üzerindeki etkilerinden bahsedilebilir. COVID-19'un ana hedefi akciğerler, bağışıklık sistemi organları ve sistemik küçük damarlar olsa da, içerisinde ürogenital sistemin de olduğu diğer sistemleri de etkileyebilmektedir [110]. Araştırmacılar SARS-CoV2 füzyon protein genini karakterize ederek angiotensin dönüştürücü enzim-2'nin (ACE2) fonksiyonel reseptörü olduğunu ve hücrelere bu şekilde girdiğini belirlemişlerdir. ACE2 bir çinko metallopeptidazdır, endotel ve epitel hücrelerinin yüzeyinde yaygın olarak bulunur [114]. İnsan dokuları arasında testis, ince bağırsak, böbrekler, kalp, tiroid ve yağ dokusu en yüksek; akciğer, kolon, karaciğer, mesane, adrenal bez orta seviye; kemik iliği, kan, kandamarları, dalak, beyin ve kas en düşük ACE2 ekspresyon seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir. İlk başlarda sadece solunum sistemini etkilediği düşünülse de ACE2 enziminin vücudun birçok dokusunda eksprese edilmesinden dolayı yeni çalışmalar diğer sistemlere doğru yönelmiştir [115]. Yukarıda sayılan dokuların ACE2 eksprese etmelerinden dolayı, SARS-CoV2'nin bir kez kana karışması durumunda vücuda yayılması ve hastalarda farklı sistem ve organlara ait belirti ve bulgular oluşturması kaçınılmazdır [116]. Üreme sistemi en yüksek ACE2 ekspresyon düzeylerine sahiptir; özellikle de overler, uterus, plasenta ve vajende enzim ekspresyonun yüksek düzeyde olduğu görülmektedir [117].

GeneCards veri tabanına göre ACE2 enzimi overlerde yoğun bir şekilde eksprese edilmektedir ve overler sahip oldukları reseptörler sayesinde anjiotensin II'ye yanıt verirler [118-120]. Daha önceki bir hayvan çalışmasında, ovaryan granüloza hücrelerinde de ACE2 ekspresyonu rapor edilmiştir. Bu da overlerin SARS-CoV2'nin hedefi haline gelebileceği anlamına gelmektedir [121].

Şu anda, COVID-19'un doğurganlık çağındaki kadınların over işlevi üzerindeki etkisine ilişkin yeterli klinik veri bulunmamaktadır. Son on yılda kadın üreme sağlığı giderek daha önemli hale gelmiş ve COVID-19'un üreme sistemi üzerindeki etkilerine küresel olarak dikkat çekilmiştir. Bu nedenle, COVID-19 viral enfeksiyonunun doğurganlık çağındaki kadınlarda endokrin bozukluklara ve over hasarına neden olup olmadığını doğrulamak için acilen klinik kanıtlara ihtiyaç vardır. SARS-CoV-2'nin, yumurtalıkların foliküler membranına ve granüler hücrelerine saldırabileceği ve oositlerin kalitesini düşürerek kadın kısırlığına yol açabileceğini öne süren araştırmalar mevcuttur [122]. Virüsün direkt etkisini bir kenara bıraksak bile SARS-CoV-2'nin neden olduğu kronik inflamasyonun doğrudan yumurtalıklarda ve hipotalamus-hipofiz-ovaryum aksında yüksek riskler oluşturabileceğine ve dişi üreme sisteminin yapı ve fonksiyonunu bozabileceğine şüphe yoktur [123, 124].

Li ve ark.'nın 2020 yılında Çin'de yaptıkları çalışmaya göre COVID-19 tanısı almış reproduktif dönemdeki (hamilelik ve emzirme durumu olmayan) 177 kadının %75'inin adet hacminde değişiklik olmamış, % 20'sinde önemli bir azalma ve % 5'inde artış olmuştur. Menstrüel siklus süresine bakıldığında ise hastaların %72'sinde adet döngüsünde değişiklik olmadığı, %18'inde siklus süresinin uzadığı, %3'ünde siklus süresinin kısaldığı ve %7'sinde siklus bozukluğu görülmüştür. Bunun yanında seks hormonlarının (FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron) ve AMH'nin medyan konsantrasyonları, hem hafif hem de ağır COVID-19 hastalarında kontrol grubuna göre marjinal olarak daha yüksek bulunmuştur ancak bu fark anlamlı bulunmamıştır. Sonuç olarak, çoğu kadın COVID-19 hastasının yumurtalık endokrin sisteminin ciddi şekilde etkilenmediğini öne sürmüşlerdir [125].

Çalışmamızın asıl konusu olan ve COVID-19 tedavisinde tek başına veya kombine halde kullanılabilen favipiravir ve deksametazonun dişi üreme sistemi ve ovaryan rezerv üzerindeki etkileri ile ilgili literatürde pek az sayıda çalışma bulunmaktadır. İlk olarak favipiravire değinecek olursak;

Favipiravir; viral replikasyonu bloke eden bir ribonükleik asit (RNA) polimeraz inhibitörü olup, birçok RNA virüsüne etkili olduğu gösterilmiştir. Favipiravir, influenza tedavisinde etkinliği onaylanmış bir ilaçtır. Özellikle influenza A (H1N1), A (H5N1) ve A (H7N9) virüslerinin tedavisinde etkin olarak kullanılmaktadır [126]. COVID-19

enfeksiyonunda favipiravirin yüksek dozlarda kullanımı önerilmektedir [112]. National Medical Products Administration of China tarafından, Mart-2020 tarihinde favipiravir, minimal yan etkili ilk anti-COVID-19 ilaç olarak onaylanmıştır [127].

Favipiravir, sınırlı veriler doğrultusunda düşük yan etki profili sergilemekte olup, şimdiye kadar bildirilen yan etkiler arasında bulantı, kusma, gaz artışı, diyare, döküntü göğüs ağrısı, psikiyatrik semptomlar, karaciğer fonksiyon bozukluğu (serum transaminaz (ALT, AST, ALP) ve total bilirubin düzeylerinde artış), nötrofil düzeyinde azalma ve hiperürisemi bulunmaktadır [128, 129]. Doi ve ark.'nın Japonya'da yaptığı ve 89 COVID-19 hastasının dâhil edildiği bir klinik çalışmada, favipiravir uygulanan hastalarda bildirilen toplam 144 advers etkiden en sık gözlenen; hiperürisemi (%84,1) ardından serum trigliserid düzeylerinde (%11,0) ve serum ALT düzeylerinde artış (%8,5) olarak ifade edilmiştir [78]. Literatürde favipiravirin dişi üreme sistemine biyokimyasal veya histopatolojik etkisiyle ilgili bir çalışma bulunamamış ve şu ana kadar bildirilen yan etkileri arasında da genital sistemle ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmamızda favipiravir uygulanan deney grubunda AMH ve tGSH düzeylerinin ve folikül sayısının sağlıklı gruba göre daha düşük, MDA düzeylerinin ise daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca FPR grubunda foliküler hücre bütünlüğünün bozulduğu ve fibrotik alanların arttığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda test ettiğimiz bir diğer ajan olan deksametazon bir kortikosteroid olup güçlü antiinflamatuvar ve antifibrotik etkili bir ilaçtır. Bu etkisini vazodilatasyonu inhibe ederek, inflamasyon bölgesine lökosit göçünü azaltarak ve vasküler geçirgenliği artırarak göstermektedir. Düşük dozda kullanıldığında, proinflamatuvar sitokin transkripsiyonunu aşağı doğru regüle etmekte, sonuç olarak uzun bir sitokin yanıtını önleyerek pnömonide pulmoner ve sistemik inflamasyonun çözümünü hızlandırmaktadır. Kortikosteroidler; high-flow oksijen takviyesi veya non invaziv ve invaziv ventilatör desteği alan veya Ekstrakorporal Membran Oksijenizasyon (ECMO) yapılan COVID-19 hastaları için önerilmektedir. Uzun süredir alerji, astım ve inflamasyon tedavisinde kullanılan deksametazonun 6000'den fazla hasta gönüllünün dahil edildiği bir çalışmada COVID-19 nedeni ölümleri azalttığına ilişkin kanıtlar bulunmaktadır [86, 130]. COVID-19 hastalarında deksametazon tedavisi uygulanırken önemli kısıtlamalardan birisi tedavinin viral klirens üzerine etkisidir. İki büyük meta-analizin sonuçları incelendiğinde, dahil edilen çalışmaların bazılarında deksametazonun viral klirens uzamaya yol açtığı gözlenirken, bazılarında bu sürenin değişmediği, az sayıda çalışmada ise sürenin kısaldığı görülmüştür. Düşük doz steroid tedavisinin viral klirens üzerine düşük oranda etkisi olduğu, ancak viral klirens gecikmenin prognozu nasıl etkilediği konusunda netlik olmadığı belirtilmiştir. Bunun yanında sekonder enfeksiyon gelişimi, hiperglisemi,

hipertansiyon, psikoz ve heparin birlikte uygulandığında gastrointestinal kanama riskinin artması gibi yan etkiler de görülebilmektedir [131, 132].

Er ve ark. koçlarda deksametazonun kandaki oksidatif duruma etkisini araştırmışlar ve cilt altına tek doz deksametazon (0.5 mg/kg) uygulamasının ilk 24 saat içinde serum oksidan seviyelerini azalttığını belirtmişlerdir. Ancak mevcut araştırmada deksametazon uygulamasının serum oksidan düzeylerinde istatistiki düzeyde olmayan dalgalanmalara neden olduğunu belirlemişlerdir ($p>0.05$) [133]. İlacın ratlarda MDA düzeyini düşürücü etkisi olduğu bildirilmesine [134] rağmen, invitro şartlarda gelişen oksidatif stresi engelleyemediğini [135] ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında rat mide dokusu MDA düzeyini artırdığını gösteren [136] çalışmalar bulunmaktadır. Sözü edilen çalışmaların sonuçları birlikte değerlendirildiğinde deksametazonun oksidatif stres üzerine etkisinin uygulama dozuna, seçilen oksidatif stres parametre türüne, gelişen oksidatif stresin şiddetine ve hayvan türüne göre değişiklik gösterebileceği ifade edilmiştir.

Gong ve ark.'nın 2021 yılında Çin'de yaptığı bir rat çalışmasında prenatal deksametazon maruziyeti (PDM)'nin, dişi yavrular üzerinde uzun süreli üreme toksisitesine neden olup olmadığı ve nesiller arası aktarılabilirliği araştırılmıştır. Deksametazon, F1 neslinin fetal ve yetişkin yavrularını elde etmek için gebe wistar sıçanlarına gebeliğin 9. gününden 20.gününe kadar deri altından uygulanmış; F1 yetişkin dişileri F2 neslini, F2 dişileri de F3 neslini üretmek için normal erkeklerle çiftleştirilmiştir. Mevcut çalışmanın bulguları, PDM'nin doğumdan önce ve sonra dişi yavru sıçanların (F1, F2, F3) kanındaki AMH seviyelerini ve primordial folikül sayısını düşürdüğünü; bunun da her düzeyde anormal folikül havuzları ve folikül gelişimi, artmış ovaryan foliküler atrezi ile birlikte olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, PDM yavru farelerinin düşük over rezervinin, maternal hat yoluyla F2 ve F3 nesillerine aktarılabilceğini ve uzun süreli üreme bozukluğunu indükleyen bir intrauterin programlama etkisinin var olduğunu göstermiştir[137]. Çalışmamızda deksametazon uygulanan grupta AMH, MDA ve tGSH düzeylerinin SG ile benzer olduğu, dolayısıyla deksametazonun over rezervine ve oksidan parametrelere belirgin etkisi olmadığı ancak kontrol grubuna göre overlerde kortikal alanda bağ doku artışına neden olduğu gözlenmiştir. Literatürde deksametazonun favipiravirle kombine halde over rezervine biyokimyasal veya histopatolojik etkisiyle ilgili bir çalışma bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda ise FDA grubunda AMH düzeyi FPR grubundan daha yüksek ancak DEKSA grubundan daha düşük bulunmuş ve deksametazonun, favipiravirin over rezervine olan olumsuz etkisini azalttığı düşünülmüştür. FDA grubunda MDA düzeyi diğer gruplardan daha yüksek bulunmuş, tGSH düzeyi ise diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur. Dolayısıyla

AMH'da görülenin tersine deksametazon, oksidan ve antioksidan sistemlerde favipiravirin olumsuz etkisini daha da artırıcı etki göstermiştir. Yine bu grupta kontrol grubuna göre primordial foliküllerin azaldığı ve atretik foliküllerin arttığı, korteks/medulla oranında artış ve folikül hücrelerinde dejenerasyon gözlenmiştir.

Sonuç olarak, COVID-19 tedavisinde tek başına veya kombine halde kullanılabilen favipiravir ve deksametazonun olası ve bildirilen yan etkileri dışında, dişi reproduktif sisteme ait advers etkileri ve ilaç etkileşimleri olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda favipiravir ve/veya deksametazonun serum AMH düzeyini ve ovaryan primordial folikül sayısını azaltarak over rezervini olumsuz yönde etkileyebileceği, over dokusunda oksidan reaktiflerin miktarını artırıp antioksidan reaktiflerin miktarını azaltarak oksidatif strese neden olabileceği in vivo olarak gösterilmiştir. Şu ana kadar COVID-19 tedavisindeki amaç mortalitenin azaltılması ve hayati komplikasyonların önlenmesi olduysa da, insan hayatının vazgeçilmez bir unsuru olan doğurganlığın devamlılığı için hem etkenin kendisinin hem de tedavisinin neden olabileceği diğer sistemlere ait yan etkilerin ve ilaç etkileşimlerinin izlenmesi amacıyla birçok yeni çalışmanın yapılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Seperoff L, Glass RH and Kase NG. Clinical Endocrinology and Infertility, Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Lippincott Williams & Wilkins: Baltimore, 1999.
2. Rabinovici J and Jaffe RB. Development and regulation of growth and differentiated function in human and subhuman primate fetal gonads. Endocr Rev; 11: 532-557, 1990.
3. Oktem O and Urman B. Understanding follicle growth in vivo. Hum Reprod; 25: 2944-2954, 2010.
4. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. Fertility and sterility; 99(4): 963-969, 2013.
5. Shi Z and Hu Z. A review of studies on animal reservoirs of the SARS coronavirus. Virus Res; 133: 74-87, 2008.
6. Altındış M and Toptan H. SARS CoV 2 Laboratuvar Tanısı. J Biotechnol and Strategic Health Res; 1: 76-84, 2020.
7. İzci-Çetinkaya F, Karagöz H and Yıldız O. Comparison of liver safety of favipiravir and hydroxychloroquine in COVID-19 treatment. Klimik Derg; 33(3): 235-240, 2020.
8. Keskin S, Alanya-Tosun Ş ve Özel MK. Kadın genital sistem anatomisi, İnfertilitede güncel yaklaşımlar. Akademisyen kitabevi: Ankara. 3-17, 2020.
9. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, et al. Jinekolojik cerrahiye bakış, Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 917-947, 2015.
10. Yalçın Ö. Kadın genital sistem anatomisi, Kadın Doğum-Jinekoloji. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 1-8, , 2017.
11. Osmani L. Atorvastatin'in Diyabetik Sıçan Ovaryumları Üzerinde Biyokimyasal ve Histolojik Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Kocaeli, 2018.
12. Sokol ER, Genadry R, Anderson JR ve Erk A. Anatomi ve Embriyoloji, Berek&Novak Jinekoloji (15.baskı). Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 62-111, 2017.
13. Buyru F, Baştu E ve Yalçın Ö. Kadın genital sistemi ve gonadların embriyolojisi., Kadın Doğum-Jinekoloji. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 9-13, 2017.
14. Köker İ, Güzel B ve Ünal E. Kadın genital sistemi ve gonadların gelişmesi, Kadın hastalıkları ve doğum temel bilgileri. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 3-12, 2006.
15. Nergiz Y. Haspolat YK, Büyükgebiz A, Yolbaş İ, Aktar F (Editörler). Genital sistem gelişimi, Puberte. Orient Yayınları: Ankara. 51-60, 2017.

16. Fanghanel J and Wendler D. Entwicklung und differenzierung der inneren weiblichen geschlechtsorgane. Z Klin Med; 44: 1429, 1989.
17. Gambone JC, Moore JG, Hacker NF, Moore JG ve Gambone JC. Kadın Üreme sistemi anatomisi ve embriyolojisi, Obstetrik ve jinekolojinin temelleri (4.Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 20-32, 2009.
18. Gondos B, Bhiraleus P and Hobel CJ. Ultrastructural observations on germ cells in human fetal ovaries. Am J Obstet Gynecol; 110: 644-652, 1971.
19. Oktem O and K Oktay. The ovary: anatomy and function throughout human life. Ann N Y Acad Sci, 1127: 1-9, 2008..
20. Olive DL ve Palter SF. Üreme Fizyolojisi, Berek&Novak Jinekoloji (15.baskı). Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 138-158, 2017.
21. Wassarman PM and Albertini DF. The mammalian ovum, The physiology of reproduction, Knobil E and Neill JD, Editors. Raven Press: New York. 240-244, 1994.
22. Ross MH and Pawlina W. Histology: a text and atlas with correlated cell and molecular biology. Wolters Kluwer Health: Philadelphia, 2016.
23. Johnson J, Canning J and Kaneko T. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. Nature; 428: 145-150, 2004.
24. Johnson J, Bagley J and Skaznik-Wikiel M. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. Cell; 122: 303-315, 2005.
25. Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, Horner JW and DePinho RA. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. Science 5630: 215–218), 2003.
26. Kale İ. Menstrüel siklus fizyolojisi, İnfertilitede güncel yaklaşımlar, Tosun ŞA ve Özel MK, Editorler. Akademisyen kitabevi: Ankara. 19-34, 2020.
27. Fritz MA ve Speroff L. Menstrüel siklusun regülasyonu, Klinik Jinekolojik endokrinoloji ve İnfertilite. Güneş Tıp Kitabevleri: Ankara. 199-242, 2014.
28. Kobayashi M, Nokano R and Ooshima A. Immunohistochemical localization of pituitary gonadotropins and gonadal steroids confirms the ‘two cell, two-gonadotropin’ hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. J Endocrinol; 126(3): 484-488, 1990
29. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, et al. Üreme endokrinolojisi, Williams Jinekoloji. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul;. 399-439, 2015.
30. Goodman AI and Hodgen GD. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. Recent Prog Horm Res; 39: 1-73, 1983.

31. Akhan SE ve Dural Ö. Normal siklus ve menstrüasyon, Kadın Doğum-Jinekoloji., Yalçın Ö, Editör. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. 29-32, 2017.
32. Yoshimura Y, Santulli R and Atlas SJ. The effects of proteolytic enzymes on in vitro ovulation in the rabbit., Am J Obstet Gynecol. 468-475, 1987.
33. Ulrich ND and Marsh EE. Ovarian Reserve Testing: A Review of the Options. Their Applications, and Their Limitations. ClinObstet Gynecol; 62(2): 228-237, 2019.
34. Balachandren N and Davies M. Fertility, ovarian reserve and cancer. Maturitas; 105: 64-68, 2017.
35. Fritz MA ve Speroff L. Kadın infertilitesi, Klinik jinekolojik endokrinoloji, Speroff L, Editör. Güneş Tıp Kitabevleri: Ankara. 1137-1190, 2014.
36. Abdalla H and Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. Hum Reprod; 19: 893-898, 2004.
37. Broekmans FJ, Kwee J and Hendriks DJ. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update; 12(6): 685-718, 2006.
38. Jain T, Soules MR and Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. Fertil Steril; 82: 80-185, 2004.
39. Kuohung W. Evaluation of female infertility, <http://www.uptodate.com/contents/evaluation-of-female-infertility>; Hornstein, 2013.
40. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW and Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update; 12: 685-718, 2006.
41. Smotrich DB, Widra EA and Gindoff PR. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. Fertil Steril; 64(6): 1136-1140, 1995.
42. McIlveen M, Skull JD and Ledger WL. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high risk IVF population. Hum Reprod; 22(3): 778-785, 2007.
43. Buyalos RP, Daneshmand S and Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. Fertil Steril; 68: 272-277, 1997.
44. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW and Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update; 12: 685-718, 2006.

45. Licciardi FL, Liu HC and Rosenwaks Z. Day 3 östradiol serumconcentrations as prognosticators of ovarian stimulation response andpregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *FertilSteril*; 64: 991-994, 1995.
46. American Society for Reproductive Medicine. Testing interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertility and Sterility*; 103(3): 9-17, 2015.
47. Lambalk CB, Koning CH and A AF. Assessment of ovarian reserve: Ovarian biopsy is not a valid method for the prediction of ovarian reserve. *Human Reproduction*; 19(5): 1055-1059, 2004.
48. Cate RL, Mattaliano RJ and Hession C. Isolation of the bovine andhuman genes for Müllerian inhibiting substance and expression of thehuman gene in animal cells. *Cell*; 45: 685-698, 1986.
49. Cohen-Haguenauer O, Picard JY and Mattéi MG. Mapping of the gene for anti-müllerian hormone to the short arm of human chromosome. 19.*Cytogenet Cell Genet*; 44: 2-6, 1987.
50. Rey R, Lukas-Croisier C, Lasala C and Bedecarrás P. AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. *Mol Cell Endocrinol*; 211: 21-31, 2003.
51. Weenen C, Laven JS and Von-Bergh AR. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*; 10(2): 77-83, 2004.
52. Hansen KR, Hodnett GM and Knowlton N. Correlation of ovarian reserve tests with histo- logically determined primordial follicle number. *Fertil Steril*; 95(1): 170-175, 2011.
53. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, et al. Serum antimul- lerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B or estradiol. *Fertil Steril*; 82(5): 1323-1329, 2004.
54. Muttukrishna S, H Suharjono H and McGarrigle H. Inhibin B and anti-Mullerian hormo- ne: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients, *BJOG*; 111(11): 1248-1253, 2004.
55. Nelson SM, Iliodromiti S and Fleming R. Reference range for the antimüllerian hormone Generation II assay: a population study of 10,984 women, with comparison to the established Diagnostics Systems Laboratory nomogram. *Fertil Steril*; 101(2): 523-529, 2014.
56. Toner JP and Seifer DB. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimüllerian hormone. *Fertility and sterility*,; 99(7): 1825-1830, 2013.

57. Peñarrubia J, Fábregues F and Manau D. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin releasing hormone agonist gonadotropin treatment. *Hum Reprod*; 20: 915-922, 2005.
58. Ficicioglu C, Kutlu T and Baglam E. Early follicular antimullerian hormone as an indicator of ovarian reserve. *Fertil Steril*; 85(3): 592-696, 2006.
59. Broer S, Eijkemans C and Scheffer GJ. Anti-mullerian hormone predicts menopause: a long- term follow-up study in normoovulatory women. *J ClinEndocrinol Metab*; 96(8): 2532-2539, 2011.
60. Tal R, Seifer DB and Khanimov M. Antimullerian hormone (AMH) is an independent predictor of twin versus singleton pregnancy in fresh ART cycles. *Reprod Biomed Online*; 26(4): 360-367, 2013.
61. Gnoth C, Schuring AN, Friol K and Tigges J. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program. *Hum Reprod*; 23(6): 1359-1365, 2008.
62. Steiner AZ, Pritchard D and Stanczyk FZ. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. *JAMA*; 318(14): 1367-1376, 2017.
63. Hendriks D, Broekmans FJ and Bancsi LF. Repeated clomiphene citrate challenge testing in the prediction of outcome in IVF: a comparison with basal markers for ovarian. *Hum Reprod*; 20(1): 163-169, 2005.
64. Hendriks DJ, Mol BW and Bancsi LF. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril*; 83(2): 291-301, 2005.
65. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med*, 2020.
66. WHO. Novel Coronavirus—China. <https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novelcoronavirus-china/en/>, 2020.
67. Riou J and Althaus CL. Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. PMID: 32019669, PMCID: PMC7001239.
68. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*: NEJMoa2002032, 2020.
69. Wang C, Horby P, Hayden FG and Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*; 395: 470–473, 2020.

70. Phan LT, Nguyen TV, Q C Luong, Nguyen TV and Nguyen HT. Importation and human-to-human transmission of a novel coronavirus in Vietnam. *N Engl J Med*: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2001272>, 2020.
71. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L and Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*; 46(5): 846-848, 2020.
72. Song Y, Zhang M, Yin L, Wang K and Zhou Y. COVID-19 treatment: close to a cure? A rapid review of pharmacotherapies for the novel coronavirus (SARS-CoV-2). [doi:10.1016/j.pmed.2020.101163](https://doi.org/10.1016/j.pmed.2020.101163); PMID:32634603, PMCID:PMC7334905, 2020.
73. Mallah SI, Ghorab OK, Al-Salmi S, Abdellatif OS, Tharmaratnam T, et al. COVID-19: breaking down a global health crisis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*; 20(1), 2021.
74. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smee DF, et al. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res*; 100(2): 446–454, 2013.
75. Coomes EA and Haghbayan H. Favipiravir, an antiviral for COVID-19? *J Antimicrob Chemother*; 75(7): 2013-2014, 2020.
76. Tu YF, Chien CS, Yarmishyn AA, Lin YY, Luo YH, et al. A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials. *Int J Mol Sci*; 21(7): 2657, 2020.
77. Shrestha DB, Budhathoki P, Khadka S, Shah PB, Pokharel N, et al. Favipiravir versus other antiviral or standard of care for COVID-19 treatment: a rapid systematic review and metaanalysis. *Virol J*; 17(1): 141, 2020.
78. Doi Y, Hibino M, Hase R, Yamamoto M, Kasamatsu Y, et al. A Prospective, Randomized, Open-Label Trial of Early versus Late Favipiravir Therapy in Hospitalized Patients with COVID-19. *Antimicrob Agents Chemother*; 64(12): e01897-20, 2020.
79. Q QC, Yang M, Liu D, Chen J, Shu D, et al. Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering (Beijing)*; 6(10): 1192-1198, 2020.
80. Chinello P, Petrosillo N, Pittalis S, Biava G, Ippolito G, et al. QTc interval prolongation during favipiravir therapy in an Ebolavirus-infected patient. *PLoS Negl Trop Dis*; 11(12), 2017.
81. Çap M, Bilge Ö, Işık F, Burak C, Karagöz A, et al. The effect of favipiravir on QTc interval in patients hospitalized with coronavirus disease 2019. *J Electrocardiol*: 115-119, 2020.
82. Takoi H, Togashi Y, Fujimori D, Kaizuka H, Otsuki S, et al. Favipiravir-induced fever in coronavirus disease 2019: A report of two cases. *Int J Infect Dis*; 101: 188-190, 2020.

83. Kurita T, Ishida K, Muranaka E, Sasazawa H, Mito H, et al. A Favipiravir-induced Fever in a Patient with COVID-19. *Intern Med*; 59(22): 2951–2953, 2020.
84. WHO. Clinical management of COVID-19 interim guidance. 27 May 2020. www.euro.who.int/en/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2020/clinical-management-of-covid-19-interim-guidance,-27-may-2020.
85. Siddiqi HK and Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant*; 39(5): 405-407, 2020.
86. Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M and Bell JL. Recovery Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized patients with Covid-19- Preliminary Report. *N Engl J Med*, 2020.
87. WHO/2019-nCoV/Corticosteroids/2020.1.
88. Bhimraj A, Morgan RL and Shumaker AH. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the treatment and management of patients with COVID-19. www.idsociety.org/COVID19guidelines.
89. Bai C, Chotirmall SH and Rello J. Updated guidance on the management of COVID-19: from an American Thoracic Society/European Respiratory Society coordinated International Task Force. *Eur Respir Rev*; 29, 2020.
90. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>.
91. Bansal AK and Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int*: 686137, 2010.
92. Shinde A, Ganu J and Naik P. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review. *J Dental Allied Sciences*; 1(2): 63-66, 2012.
93. Karabulut H ve Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg*; 4(1): 50-59, 2016.
94. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T ve Durmaz Y. Algal Antioksidanlar. *Su Ürünleri Dergisi*; 23(1): 85-89, 2006.
95. Bray TM. Dietary antioxidants and assessment of oxidative stres. *Nutrition*; 16: 578-581, 2000.
96. Iwama KG. Stress in fish. *Fish Biology Fisheries*; 8: 35-56., 2004.

97. Moraes G. Metabolical responses in adaptation to stress in fish. Brazil: International Congress on the Biology of Fish; 47, 2004.
98. Ritola O, Peters LD, Livingstone DR and Seppa PL. Effects of in vitro exposure to ozone and hyperoxia on superoxide dismutase, catalase, glutathione and lipid peroxidation in red blood cells and plasma. *Aquaculture Res*; 33: 165-175, 2002.
99. Tarin JJ, Brings J ve Cano A. Serbest radikalleri antioksidanlar ve infertilite ile klinik ilişkiler. *Human Reproduction*; 13: 2371-2376, 1998.
100. Ege T. Kalp ve damar hastalıklarında iskemi-reperfüzyon hasarı, Kalp ve damar cerrahisi, E ED, Editör. Çapa Tıp Kitabevi: İstanbul. 197-215, 2004.
101. Kanbagli O, Balkan J, Aykac-Toker G and Uysal M. Hepatic mitochondrial prooxidant and antioxidant status in ethanol-induced liver injury in rats. *Biological & pharmaceutical bulletin*; 25(11): 1482-1484, 2002.
102. Knight JA, Pieper RK and McClellan L. Specificity of the thiobarbituric acid reaction: its use in studies of lipid peroxidation. *Clinical chemistry*; 34(12): 2433-2438, 1988.
103. Czerska M, Mikolajewska K, Zielinski M, Gromadzinska J and Wasowicz W. Today's oxidative stress markers. *Medycyna pracy*; 66(3): 393-405, 2015.
104. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De-Tata V and Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochemical pharmacology*; 66(8): 1499-1503, 2003.
105. Ohkawa H, Ohishi N and Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*; 95(2): 351-358, 1979.
106. Sedlak J and Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*; 25(1): 192-205, 1968.
107. T.C. Sağlık Bakanlığı COVID-19 Bilgilendirme Sayfası. Available from: <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39060/0/covid19rehberigenelbilgilerepidemiyolojivetani.pdf.pdf>. Erişim tarihi: 16 Ekim 2020.
108. Organization WH. Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard 2021, Oct 15 Available from: <https://covid19.who.int/>.
109. <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66935/genel-koronavirus-tablosu.html>.
110. Zhang Y, Geng X, Tan Y, Li Q, Xu C, et al. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020.
111. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ and Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA*; 323: 1824-1836, 2020.

112. Uğuz M ve Eşkut B. Covid 19 enfeksiyon tedavisi. *Med Res Rep*; 3(Suppl.1): 17-31, 2020.
113. Rismanbaf A and Zarei S. Liver and kidney injuries in COVID-19 and their effects on drug therapy; a letter to editor. *Arch Acad Emerg Med*; 8(1): e17, 2020.
114. Zhou XL, Yang XG, Wang B, Hu L and Zhang W. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*; 579(7798): 270-273, 2020.
115. Li MY, Li L, Zhang Y and Wang XS. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infectious diseases of poverty*; 9: 1-7, 2020.
116. Hamming I, Timens W, Bulthuis M, Lely A, Navis GV, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology. A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*; 203(2): 631-637, 2004.
117. Jing Y, Run-Qian L, Hao-Ran W, Hao-Ran C, Ya-Bin L, et al. Potential influence of COVID-19/ACE2 on the female reproductive system. *Mol Hum Reprod*: gaaa030., 2020.
118. Yurt A ve Saygın M. Corona Virus (Covid-19) ve Üreme Sistemi İlişkisi. *SdÜ Sağlık Bilimleri Derg*; 11(3): 363-368, 2020.
119. Speth R, Daubert D and Grove K. Angiotensin II: a reproductive hormone too? *Regulatory peptides*; 79(1): 25-40, 1999.
120. https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACE2#protein_expression.
121. Honorato-Sampaio K, Pereira VM, Santos RA and Reis AM. Evidence that angiotensin-(1-7) is an intermediate of gonadotrophin-induced oocyte maturation in the rat preovulatory follicle. *Exp Physiol*; 97: 642-650, 2012.
122. Xu H, Zhong L and Deng J. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci*; 12(1): 816, 2020.
123. Harbuz MS, Chover-Gonzalez AJ and Jessop DS. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis and chronic immune activation. *Ann NY Acad Sci*; 992: 99-106, 2003.
124. Kirshenbaum M and Orvieto R. Premature ovarian insufficiency (POI) and autoimmunity – an update appraisal. *J Assist Reprod Genet*; 36(11): 2207-2215, 2019.
125. Li K, Chen G, Hou H, Li H, Cheng L, et al. Analysis of sex hormones and menstruation in COVID-19 women of child-bearing age. *RBMO*; 42(1): 260-267, 2021.
126. Delang L, Abdelnabi R and Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Research*; 153: 85–94, 2018.

127. Küçük İG ve Öngel K. Covid-19 Tedavisinde Favipiravir Kullanımı: Tartışılan Konular. TJFMPC; 15(1): 5-7, 2021.
128. Sürmelioglu N ve Demirkan K. COVID-19 Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Akılcı İlaç Kullanımı. Archives Medical Review Journal. 29; 29(Özel Sayı 1): 44-53, 2020.
129. Cai Q, Yang M, Liu D, Chen J, Shu D, et al. Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. Engineering (Beijing); 6(10): 1192–1198, 2020.
130. Coronavirus Drug and Treatment Tracker <https://www.nytimes.com/interactive/2020/science/coronavirus-drugs-treatments.html>. (Erişim: 05 Ağustos 2020).
131. Cano EJ, Fuentes XF, Campioli CC, O'Horo JC, Saleh OA, et al. Impact of corticosteroids in coronavirus disease 2019 outcomes: systematic review and metaanalysis. Chest; 159(3): 1019-1040, 2021.
132. Van-Paassen J, Vos JS, Hoekstra EM, Neumann KM, Boot PC, et al. Corticosteroid use in COVID 19 patients: A systematic review and metaanalysis on clinical outcomes. Critical Care; 24(1): 43-44, 2020.
133. Er A, Çorum O, Eser H, Bahçiva E, Dik B, et al. Koçlara deksametazon uygulamasının kan oksidatif durum ve prostaglandin F2 α metaboliti düzeyine etkisi. Eurasian J Vet Sci; 32(2): 89-93, 2016.
134. Gokce M, Saydam O, Hanci V, Can M and Bahadır B. Antioxidant vitamins C, E and coenzyme Q10 vs dexamethasone: comparisons of their effects in pulmonary contusion model. J Cardiothorac Surg; 26(7): 92-98, 2012.
135. Deng Z, Zhou JJ, SY SYS, Zhao X, Sun Y, et al. Procaterol but not dexamethasone protects 16HBE cells from H₂O₂-induced oxidative stress. J Pharmacol Sci; 125: 39-50, 2014.
136. Swamy AH, Sajjan M, Thippeswamy AH, Koti BC and Sadiq AJ. Influence of proton pump inhibitors on dexamethasone-induced gastric mucosal damage in rats. Indian J Pharm Sci; 73: 193-198, 2011.
137. Gong X, Dai S, Wang T, Zhang J, Fan G, et al. MiR-17-5p/FOX L2/CDKN1B signal programming in oocytes mediates transgenerational inheritance of diminished ovarian reserve in female offspring rats induced by prenatal dexamethasone exposure. Cell Biol Toxicol: doi: 10.1007/s10565-021-09645-6, 2021.