

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL SİSPLATİN GONADOTOKSİSİTESİNDE
ASETİL L-KARNİTİNİN OVARYUM FOLLİKÜL
GELİŞİMİNDEKİ KORUYUCU ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. SEDA NUR AKYOL**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. CANDAN ÖZOĞUL**

**ANKARA
EKİM 2013**

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL SİSPLATİN GONADOTOKSİSİTESİNDE
ASETİL L-KARNİTİNİN OVARYUM FOLLİKÜL
GELİŞİMİNDEKİ KORUYUCU ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. SEDA NUR AKYOL**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. CANDAN ÖZOĞUL**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2010-
30 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
EKİM 2013**

KABUL ve ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Seda Nur Akyal
Baba Adı	Hasan
Doğum Yeri/Tarihi	Amasya. 16.03.1982
Diploma Tarihi / Diploma No	31.07.2007/ 07-311.071
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Ün. Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Histoloji ve Embriyoloji AD
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay: 10
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Deneysel sisplatin Gonadotoksisitesinde Asetil L-karnitinin Ovaryum Follikül Belirtilimindeki Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi

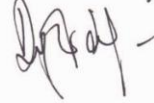
JÜRİ KARARI:

Tezin başarılı olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir

JÜRİ ÜYELERİ

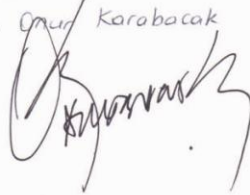
BAŞKAN

Prof. Dr. Deniz Erdöğen



ÜYE

Prof. Dr. Onur Karabacak



ÜYE

Prof. Dr. Candan Ötöğül



KISALTMALAR

AMH	: Anti Mülleriye Hormon
bFGF	: Temel Fibroblast büyüme faktörü,
BMP-6	: Kemik Morfogenik Protein
Cdk	: Siklin Bağımlı Kinaz
CKI	: Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü
CSF	: Koloni Stimüle Edici Faktör
DER	: Düz Endoplazmik Retikulum
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FSH	: Follikül Stimulan Hormon
GnRH	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
GÜDAM:	: Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GV	: Germinal Vezikül
GVBD	: Germinal Vezikül Yıkılması
i.p.:	: İntraperitoneal
IFN	: İnterferon
IGF	: İnsülin Benzeri büyüme Faktörü
LH	: Lüteinize Edici Hormon
MPF	: Olgunlaşmayı Sağlayan Faktör
mg/kg	: Miligram/kilogram
SF	: Serum fizyolojik
TGF- β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü β

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

KABUL ve ONAY	i
KISALTMALAR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLolar LİSTESİ	v
GRAFİKLER LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Ovaryum Embriyolojisi	4
2.1.1. Oogenezis	5
2.2. Ovaryum Anatomisi	6
2.3. Ovaryum Histolojisi	7
2.3.1. Ovaryum Follikülleri	9
2.4. Ovaryum Fizyolojisi	13
2.5. Follikülogenezisin ko-regülatörleri	16
2.6. Kemik Morfogenik Protein (BMP 6)	19
2.7. Konneksin 43.....	21
2.8. Normal Hücre Döngüsü.....	24
2.9. p34cdc2	25
2.10. Kemoterapi ve Antineoplastik Ajanlar	27
2.11. Sisplatin	30
2.11.1. Sisplatinin Yapısı ve Etki Mekanizması	30
2.11.2. Sisplatin Toksisitesi.....	32
2.12. Antioksidanlar	34
2.13. Asetil L-Karnitin	35

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	41
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma.....	41
3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	46
3.3. İstatistiksel Yöntem.....	48
4. BULGULAR	49
4.1. Vücut Ağırlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	49
4.2. Primordial Follikül, Unilaminar ve Multilaminar Primer Follikül Sayılarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	53
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular	57
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ	91
7. KAYNAKLAR.....	93
8. ÖZET	111
9. SUMMARY	113
10. EKLER.....	115
11. ÖZGEÇMİŞ:.....	121

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası ağırlıklarının istatistiksel farklılıkları	51
Tablo 2. Gruplar arası deney öncesi ve deney sonrası ağırlık farklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması.	52
Tablo 3. Gruplara ait ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri.	54
Tablo 4. Dört gruba ait primordial folikül, unilaminar ve multilaminar primer follikül sayılarının karşılaştırılması.	55
Tablo 5. Gruplar arası primordial follikül sayılarının istatistiksel olarak karşılaştırılması.	57

GRAFİKLER LİSTESİ

- Grafik 1.** Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları 50
- Grafik 2.** Gruplara ait primordial, unilaminar ve multilaminar folikül sayıları.
(Ortanca değere göre oluşturulmuştur.) 55

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Ovaryumun korteksinde ve medullasında bulunan genel yapılar 8
- Şekil 2.** Follikül gelişiminde etkili olan büyüme faktörleri ve etkileri 17

RESİMLER LİSTESİ

- Resim 1.** Kontrol grubunda BMP-6 ekspresyonu; Primordial follüküllerde yer alan primer oositlerde (kırmızı oklar) BMP-6 ekspresyonu yoğun olarak belirlenirken follükül hücrelerinde immün tutulum gözlenmedi (yeşil oklar). 58
- Resim 2.** Kontrol grubunda BMP-6 ekspresyonu; Unilaminar ve multilaminar primer follüküldeki primer oosit (kırmızı ok) follükül hücreleri (yeşil ok) ve teka interna hücreleri (sarı ok) pozitif olarak belirlendi. 58
- Resim 3.** Kontrol grubunda BMP-6 ekspresyonu; Sekonder follükülde granüloza hücrelerinde (yeşil oklar) zayıf tutulum, teka interna hücrelerinde (sarı oklar) kuvvetli tutulum belirlendi. 59
- Resim 4.** Tersiyer follükülün granüloza hücrelerinde (yeşil oklar) ve teka interna hücrelerinde (sarı oklar) kuvvetli tutulum saptandı. 59
- Resim 5.** Asetil L-karnitin grubunda BMP-6; Primordial follükülde (kırmızı ok) ve sekonder follükülde (sarı ok) oositlerde ve follükül hücrelerinde (yeşil oklar) ve teka interna hücrelerinde (mor oklar) pozitif tutulum gözlemlendi. 60
- Resim 6.** Asetil L-karnitin grubunda BMP-6; Unilaminar follüküllerde (kırmızı ok) ve multilaminar follüküllerde (turuncu oklar) hem oosit hem de follükül hücreleri zayıf pozitif tutulum göstermekteydi. 60
- Resim 7.** Asetil L-karnitin grubunda BMP-6; L-karnitin grubunda tersiyer follükülün granüloza hücrelerinde (yeşil oklar) ve teka interna hücrelerinde (kırmızı oklar) pozitif tutulum 61
- Resim 8.** Sisplatin grubunda BMP-6; primordial follüküllerde oosit ve follükül hücrelerinde (kırmızı oklar) ve multilaminar primer follüküllerde ise oosit follükül hücreleri (sarı ok) ve teka interna hücrelerinde (mor ok) negatif tutulum göstermekteydi. 62

- Resim 9.** Sisplatin grubunda BMP-6; primordial folliküllerde oosit ve follikül hücrelerinde negatif tutulum belirlenirken (kırmızı oklar), sekonder folliküllerde ise oosit tutulumu yoktu. (yeşil ok) follikül hcreleri ise antruma dökülmüş olarak hücresel debriser halinde gözlendi (sarı oklar) 62
- Resim 10.** Sisplatin grubunda BMP-6; Tersiyer follikülde granüloza hücrelerinde desquamasyon belirgin olarak gözlenirken follikül çevresindeki az sayıda teka interna hücresi (mor oklar) pozitif reaksiyon göstermekteydi. Hücreler BMP-6 negatifti. 63
- Resim 11.** Asetil L-Karnitin+ Sisplatin grubunda BMP-6 ekspresyonu: [küçük resim] primordial folliküllerde oositler (kırmızı ok) pozitif tutulum gösterirken follikül hücreleri (kırmızı ok) negatif reaksiyon gösterdi. [büyük resim] multilaminar folliküllerde oosit (kırmızı ok) ve follikül hücreleri (yeşil ok) pozitif. 64
- Resim 12.** Asetil L-Karnitin+ Sisplatin grubunda BMP-6 ekspresyonu: tersiyer follikülde BMP-6 negatif granüloza hücreleri (yeşil oklar) 64
- Resim 14.** Kontrol grubunda; Sekonder folliküllerde konneksin 43 ifadenmesi granüloza hücrelerinde (kırmızı oklar) ve teka interna hücrelerinde (yeşil oklar) pozitif 66
- Resim 15.** Kontrol grubunda konneksin 43 dağılımı; Tersiyer follikül granüloza hücrelerinin bağlantı yerlerinde rozet ya da plak tarzında tutulum (kırmızı oklar), granüloza hücre çekirdeklerinde ve teka interna hücrelerinde pozitif tutulum (yeşil oklar) 66
- Resim 16.** Asetil L-cartinin grubunda konneksin 43 tutulumu; geç sekonder folliküllerde granüloza hücrelerinde (kırmızı oklar) ve teka interna hücrelerinde pozitif tutulum 67
- Resim 17.** Asetil L-Kartinin grubunda konneksin 43 tutulumu; tersiyer folliküllerde çok sayıda follikül hücrelerinde (kırmızı oklar) ve kumulus hücrelerinde (yeşil oklar) 68

- Resim 18.** Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; Primordial (kırmızı ok), multilaminar primer folliküllerde (yeşil ok) konneksin 43 işaretlenmesi gözlenmedi. 69
- Resim 20.** Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; Tersiyer follikülde granüloza hücrelerinde (kırmızı ok) ve teka interna hücrelerinde (yeşil oklar) tutulum saptanmadı. Ayrıca bu grupta tersiyer folliküllerde follikül duvarında yıkım, lümende hücresel debrisler (sarı oklar) gözlemlendi. 70
- Resim 21.** Asetil L-karnitin+ Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; primordial follikülde (kırmızı ok) tutulum göstermezken, primer follikülde granüloza hücrelerinin (sarı oklar) bazıları konneksin 43 pozitif. 71
- Resim 22.** Asetil L-karnitin+ Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; sekonder follikülde granüloza hücrelerinin (kırmızı oklar) bazıları konneksin 43 pozitif. 71
- Resim 23.** Asetil L-karnitin +Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; erken tersiyer follikülde granüloza hücreleri arasında (kırmızı oklar) çok az sayıda rozet ya da plak şeklinde işaretlenme gözlemlendi. 72
- Resim 24.** Kontrol grubunda p43 cdc2 tutulumu; Multilaminar primer follikülde yer alan oositte (kırmızı ok) negatif tutulum 73
- Resim 25.** Kontrol grubunda p34cdc2 tutulumu; primordial (kırmızı ok) ve erken antral folliküllerde (sarı oklar) yer alan oositlerde negatif tutulum 73
- Resim 26.** Kontrol grubunda p43 cdc2 tutulumu; antral folliküllerde (sarı oklar) yer alan oositlerde negatif tutulum 74
- Resim 27.** Kontrol grubunda p43 cdc2 tutulumu; I. Mayoz bölünmeye yaklaşan erken tersiyer follikülde yer alan oositte (kırmızı ok) kuvvetli p34cdc2 tutulumu 74

- Resim 28.** Sisplatin grubunda erken tersiyerde follikülde negatif oosit (kırmızı ok) tutulumu 75
- Resim 29.** Asetil L-karnitin grubunda erken tersiyer follikülde pozitif oosit (kırmızı ok) tutulumu. 76
- Resim 30.** Asetil L-Karnitin +Sisplatin grubunda erken tersiyer follikülde pozitif oosit (kırmızı ok) tutulumu. 76

1. GİRİŞ

Kanser, günümüzde görülme sıklığı gittikçe artan, mortalitesi oldukça yüksek olan bir sağlık problemidir. İstatistiklere göre kanser, kalp ve damar hastalıklarından sonra ölümlerin ikinci en sık sebebidir. (1,2)

Kanser olguları tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Dünyada her yıl yaklaşık 12 milyon kişiye kanser tanısı konulduğu ve yaklaşık 8 milyon kişinin kanserden öldüğü bildirilmiştir. TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) verilerine göre, 2002 yılında kansere bağlı ölüm oranı % 12 iken bu oran 2012 yılında % 21'e yükselmiştir. (3,4)

Kanser insidansındaki artışla beraber kanserle mücadelede kullanılan tedavi yöntemleri de giderek önem kazanmaktadır.

Kanser tedavisinde Kemoterapi, radyoterapi, immünoterapi ve cerrahi gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Kemoterapi ile kanserli hücreler yok edilip, büyüme ve çoğalmaları engellenmek istense de bu sırada normal hücre ile kanser hücreleri arasındaki yapısal benzerlikten dolayı normal sağlıklı hücrelerin de zarar görmesi söz konusudur. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar kansere bağlı ölüm oranlarını azaltsa da, uzun dönem sağ kalımlarda büyüme-gelişme problemleri, kardiovasküler problemler ve sekonder malign tümörlerin gelişmesine neden olup yaşam kalitesini etkilemektedir.(5)

Kemoterapötik ajanların üreme organları üzerinde de toksik etkileri vardır. Bu organlardan ovaryumlar kemoterapötik ilaçlara son derece duyarlıdır. Kemoterapi follikül havuzundaki primordiyal folliküllerin sayısında azalmaya,

oosit, granüloza ve teka hücre hasarına, prematür ovaryan yetmezliğe neden olarak reproduktif sorunlar oluşturmaktadır. (6,7) Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan Melphalan, busulfan, nitrogen mustardlar, prokarbazine, ifosfamide, thiotepa, 5-fluorouracil, sisplatin, vinkristine, methotreksate gibi ajanlar geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz infertiliteye neden olan antineoplastiklere örnek olarak verilebilir. (8)

Sisplatin, bazı erişkin kanserlerde ve Wilms, Nöroblastoma, germ hücreli tümör, osteosarkoma gibi çocukluk çağı kanserlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ototoksisite, nörotoksisite, nefrotoksisite sisplatin tedavisi sırasında karşılaşılan ciddi yan etkilerdendir. (9) Bunların yanı sıra testislerde sperm üretimini baskılaması ve ovaryumlarda primordial follikül ve granüloza hücre hasarı oluşturması gonadotoksik etkileri de olduğunu göstermektedir. (8, 10, 11)

Kemoterapinin olumsuz etkilerinden ovaryumlarda yer alan germ hücrelerini korumak ve fertilitenin devamlılığını sağlamak amacıyla kemoterapi öncesi oosit ve embriyo dondurma yöntemleri gibi alternatif önlemler ve yeni alternatif tedaviler geliştirilmiştir. (6, 12, 13, 14)

Alternatif tedavilerden birisi antioksidan kullanımıdır. Sisplatin tedavisi sonucu ototoksisite ve nefrotoksisite oluşmakta ve bu hasar serbest oksijen radikallerinin oluşumuyla açıklanmaktadır.(15) Antioksidanlar, serbest oksijen radikal hasarını önleyici/azaltıcı etkiye sahip ajanlardır. Günümüzde kullanılan başlıca antioksidan ajanlar; selenyum, vitamin C, vitamin E, asetil L-karnitin, melatonin dir. Asetil L- karnitin, hücrenin enerji üretimi için gerekli olan yağ

asitlerinin mitokondriye geçişinde kullanıldığı bir kofaktördür. Aynı zamanda mitokondri fonksiyonlarında önemli rol oynayan protektif bir ajandır. (16, 17)

Bu alışma, sisplatinin ovaryumlardaki toksik etilerini ortaya koymak ve bu etkilere karşı asetil L-karnitinin koruyucu etkilerini oosit maturasyonunda ve follikül gelişiminde önemli rolleri olan p34cdc2, konneksin 43 ve BMP-6 ekspresyonu üzerinden açıklamak amacıyla planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ovaryum Embriyolojisi

Cinsiyet farklanması ve farklılaşan dişi üreme organlarının gelişimi kompleks bir süreçtir. Bu süreçte SRY, FIG α , Wnt4, R-SPONDIN1-a, Dax1 gibi birçok gen rol alır. (18). Testis Belirleyici faktör Y kromozomunun kısa kolunda yer alan SRY geninin protein ürünüdür, SRY geni etkisi altındaki embriyo erkeklik yönünde farklılaşacaktır. Primordial germ hücreleri, gelişimin 2. haftası boyunca epiblast içinde oluşur ve vitellus kesesi duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirir. 4. haftada ameboid hareketlerle allantoise yakın dorsal mezenter boyunca ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşırlar. Gonadlar fetal 5. haftada intermedier mezodermin lateralinde gonadal kabarıklıklar olarak gelişmeye başlar. Posterior abdominal duvarı döşeyen kölom epitelinin proliferasyonu olması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla kalınlaşır ve gonadal sırtlar belirir. 6. haftada primordial germ hücreleri gonadal sırtları işgal ederler. (19, 20)

Primordiyal germ hücre göçüyle birlikte proliferasyona devam eden kölom epitelinin altındaki mezenşim içerisine doğru hücre kordonları göndererek primitif cinsiyet kordonlarını oluştururlar. Bu evreye kadar her iki sekste de gonadlar aynı histolojik özelliklere sahiptir. Bu nedenle 7. haftaya kadar olan bu döneme farklılaşmamış evre adı verilmektedir. (20)

Embriyo XX kromozomuna sahipse primitif cinsiyet kordonları kölom epitelini kaybederek düzensiz hücre kümeleri haline gelir ve gelişecek olan ovaryum medullasının vasküler yapılarını oluşturur. (18,20)

Dişilik yönünde farkanacak olan embriyolarda yüzey epiteli prolifer olmaya devam eder ve ikinci bir hücre göçüyle kortikal kordonları geliştirir. 4. ayda kortikal kordonlar hücre kümelerine ayrılarak primitif germ hücrelerini çevreler ve primordial follikülleri oluştururlar. Böylece ovaryumların korteks bölgesi gelişmiş olur. (19, 20)

2.1.1. Oogenezis

Dişi gonada ulaşır ulaşmaz oogonyuma farkan primordial germ hücreleri erken fetal yaşamda ard arda mitotik bölünmeler geçirirler ve çoğalırlar. Çoğalan oogonyumlar primer oosite dönüşür ve I. Mayoz bölünmenin profazının diploten evresine girer, bölünmeyi durdurarak puberteye kadar bekler. İntrauterin hayatın 5. ayında ovaryumlarda yaklaşık olarak 7.000.000 üreme hücresi bulunur. Bunlar zamanla apoptozisle azalırlar ve ovaryum yüzeyine yakın olanlar kalır. Kalan üreme hücrelerinin çoğunluğu primer oositlerdir. Primer oositlerin çevresi tek katlı yassı hücrelerle çevrenir ve primordial follikülleri oluşturur. Doğumda ovaryumlarda yaklaşık olarak 700 000- 2 milyon primordial follikül bulunur. Bu oositler puberteye kadar I. Mayoz bölünmenin profazının diploten evresinde bekler. Ayrıca puberteye kadar çoğunluğu atreziye uğrar ve pubertede de yaklaşık 400000 civarı primer oosit bulunur. (19, 20)

2.2. Ovaryum Anatomisi

Ovaryumlar iki taraflı olarak pelvis minor'un duvarındaki fossa ovarica denilen çukurda yerleşmiş badem şekilli dişi üreme organlarıdır. İntraperitoneal organlardır. Ovaryumlar embriyonal yaşamda ilk başta karın arka duvarında yer alırken daha sonra yavaş yavaş pelvise inerler ve 7. ayda fossa ovarica'ya yerleşirler. Fossa ovarica'nın önünde a. umbilicalis, arkasında a. iliaca interna ve ureter yer alır. (21, 22)

Her bir ovaryum yaklaşık olarak 3 cm uzunluğunda, 1,5-2 cm genişliğinde, 1 cm kalınlığında olup ağırlığı da 4-6 gr civarındadır. Grimsi pembe renkteki ovaryumların dış yüzeyi peritoneum'la örtülüdür ve puberte başlayana kadar düzgün ve parlaktır, puberteden sonra ovulasyona ve doğurmaya bağlı olarak dış yüzeydeki düzgünlük kaybolur ve matlaşır. (21, 23, 24)

Ovaryumların facies lateralis ve facies medialis olarak iki yüzü, margo liber ve margo mesovaricus olarak iki kenarı, extremias tubaria ve extremias uterina olarak iki ucu vardır. Facies medialis pelvis boşluğuna bakar ve tuba uterina ile örtülüdür. Facies lateralis pelvis duvarına bakar ve parietal periton ile komşudur. Margo liber arka kenardır. Bu kenar serbest, hareketli ve konvektir. Margo mesovaricus ön kenardır, periton katlantısı olan mesovaryum ile lig. latum uteri'nin arka-üst yüzüne tutunur. Mesovaryum'un iki yaprağı arasında damar ve sinirlerin girip çıktıkları yere hilum ovarii adı verilir. Extremitas tubarina üst uçtur. Bu uca içerisinden a.v. ovarica ve plexus ovaricus'un dalları geçen periton katlantısı olan lig suspensorium ovarii ve fimbria ovarica tutunur. Extremitas uterina ise alt uçtur ve lig. ovari proprium aracılığıyla uterusu tutunur. (21)

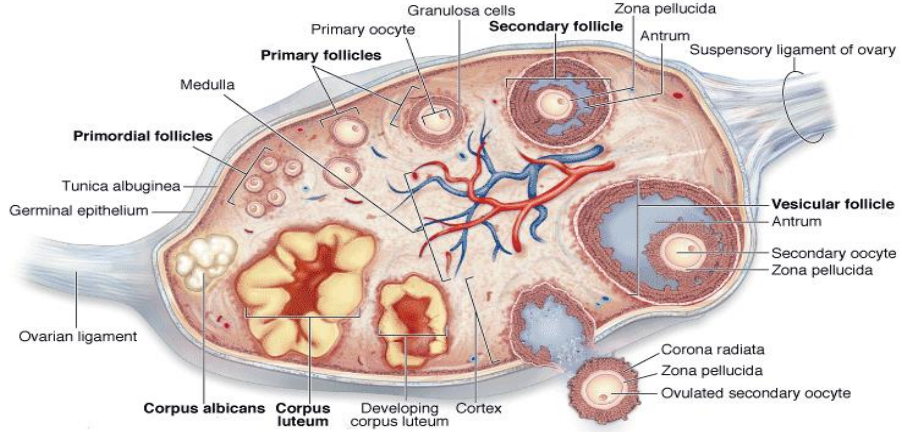
Ovaryumlar dıştan tek katlı kübik germinal epitelle evrenir. Bunun altında tunika albuginea adı verilen kalın bir bağ dokusu katmanı yer alır. Bunun da altında dışta korteks ovarii ve ite medulla ovarii bulunur. Medulla'da yer alan hilum ovarii'den damar ve sinirler girip çıkar.

Ovaryumlar beslenmesini çoğunlukla a. ovarica aracılığıyla az bir miktar da a. uterina'nın ramus ovaricus'undan sağlar. A. ovarica'lar aorta abdominalis'ten L-2 seviyesinde ayrılır lig. suspensorium ovarii içine girer, mesovarium'da dallarını verir, hilum ovarii'den içeri girer ve folliküllerin çevresinde kapiller ağlar oluşturur. Ovaryumun venleri plexus pampiniformis'i oluşturur ve hilum ovarii'den çıkar ve v. ovarica'yı oluşturur. Sağ v. ovarica v. cava inferior'a, sol v. ovarica ise v. renalis sinistra'ya dökülür. Ovaryumlar lenf drenajını nodi preaortici ve nodi aortici laterales'e açılan lenf damarları ile sağlar. İnervasyonu ise plexus ovaricus tarafından sağlanır. Parasempatikleri n. vagus'tan, sempatikleri ise M.spinalis'in T 10-11 segmentlerinden gelir. (21, 22)

2.3. Ovaryum Histolojisi

Vücutta bir çift halinde bulunan ovaryumların dış yüzeyleri gençlerde tek katlı yassı erişkinlerde tek katlı kübik epitel olan germinal epitelle evrenmiştir. Germinal epitelin peritona bakan yüzünde mikrovilluslar ve az sayıda kinosilyalar bulunur. Epitelin hemen altında ise sıkı bağ dokusundan oluşan tunika albuginea yer alır. Bu tabaka ovaryumlara dış görünümdeki beyaz rengini vermektedir. Tunika albuginea tabakasından sonra da ovaryumun parankiması yer alır.

Parankim dış tarafta yer alan korteks ve iç tarafta yer alan medulladan oluşur. Korteks parankimin büyük bir kısmını oluşturur, burada hücreden zengin bir bağ dokusu ve sayısız ovaryan folliküller yer alır. Bağ dokusu hücreleri dışında epiteloid İnterstisyel hücreler yer alır ve bunlar östrojen sentezlerler. Medulla ise kan damarları, lenf damarları, sinir lifleri ve gevşek bağ dokusundan oluşur. Ovaryum medullasında da epiteloid İnterstisyel hücreler yer alır. Medullada yer alan bir diğer epiteloid hücre de Hilus hücreleridir. Bu hücreler de organel içeriği olarak benzedikleri Leydig hücreleri gibi androjen salgırlarlar. (23, 24, 25, 26)



Şekil 1. Ovaryumun korteksinde ve medullasında bulunan genel yapılar (23)

2.3.1. Ovaryum Follikülleri

Primordial Follikül: Ovaryumlarda ilk kez fetal hayatın 3. ayında görülürler. Kortekste tunika albugineanın hemen altında yer alırlar. Primer oosit ve oositin etrafını saran tek sıra yassı follikül hücrelerinden oluşurlar. Oositin büyüklüğü yaklaşık 25-30 µm dir. Follikül hücrelerini dıştan sınırlayan bazal lamina follikülü vasküler stromadan ayırır.

Oosit organelden zengindir. Elektron mikroskopik olarak belirgin golgi kompleksi, yaygın endoplazmik retikulum, bol mitokondriyon, lizozom ve annuler lameller bulunmaktadır. Bu organellerin sitoplazmada yoğunlaşmasıyla oluşan yapılara ise Balbiani cisimciği adını alır. Her ovarian siklusta yaklaşık 15-20 adet primordial follikül gelişim göstermektedir. (23, 24, 25, 26)

Primer Follikül: Puberteye girildiğinde hipofizden FSH hormonunun salınımıyla primer folliküller gelişmeye başlar. Tek katlı yassı follikül hücreleri kübik hücrelere dönüşür ve bu evredeki folliküle **unilaminer primer follikül** adı verilir. Follikül hücrelerinin hızla proliferasyonu sonucu çok katlı forma dönüşür ve **multilaminer primer follikül** adını alır. Primer oositin büyüklüğü 100 µm ye ulaşır. Follikül hücreleri ince sitoplazmik uzantılar göndererek oositin mikrovilluslarıyla temas ederler. Bu temas bölgelerinde oluklu bağlantılar (gap junction) yer almaktadır. Böylelikle follikülün normal gelişimi için, oosit ve granüloza hücreleri arasındaki besin maddeleri ve sinyal moleküllerinin geçişinde iletişim sağlanmış olur. Bu bağlantı oosit tarafından sentezlenen spesifik proteinlerce desteklenir ve ekstraselüler bir kılıf olan **Zona pellusida** oluşur. Zona pellusida 5-10 µm kalınlığında, ışık kırıcı ve homojen bir tabakadır. Oosit

tarafından sentezlenen proteinler; sülfatlı asidik **ZP1, ZP2 ZP3 ve ZP4** glikoproteinlerini içerir. **ZP3** bunlardan en önemlisidir. Spermatozoa bağlayıcı reseptör görevi görür ve akrozom reaksiyonunu indükler. **ZP4**'ün de akrozom reaksiyonunu indükleyici rolü vardır ama bütün türlerde tanımlanamamıştır. **ZP2** sekonder **SBP** (sperm binding protein) dir. **ZP1, ZP2 ve ZP3** heterodimerleri arasında çapraz bağlar oluşturarak zona pellusidanın bütünlüğünü sağlar (23, 24, 25, 26,27, 28).

Folikülün çok katmanlı hale geçişinde granüloza hücrelerinin proliferatif aktivitesini uyaran oosit kaynaklı aktivin sinyal molekülü rol alır. Follikül tek tabakalıyken zona pellusida kesintiliyken, multilaminar follikülde devamlıdır.

Folikül hücreleri çok tabakalı hale geçtikten sonra artık **granüloza hücresi** olarak adlandırılır. Follikülü çevreleyen stromal hücreler **teka hücrelerini** oluşturur. Teka iki tabakadan oluşur; iç tabaka **teka interna**, dış tabaka ise **teka eksternadır**. Granüloza hücreleri ile teka interna hücreleri arasında bir bazal lamina vardır. İç ve dış teka tabakaları arasındaki sınır ile teka eksterna ve etrafındaki stroma arasındaki sınır belirgin değildir. Teka interna iyi damarlanan bir bölgedir ve burada bulunan hücreler LH reseptörü bulundurur ve androjen sentez ve sekresyonundan sorumludurlar. Teka eksterna tabakası ise düz kas hücreleri ve kollagen demetleri ve teka internanın kapiller ağını oluşturacak olan damarları içerir.

Sekonder Follikül: Büyümeye devam eden folliküllerde granüloza hücreleri tarafından sentezlenen likör folliküli hücreler arasında birikmeye başlar, içi sıvı dolu boşluklar birleşerek follikül antrumunu oluşturur. Bu evrede Primer

oositin büyüklüğü yaklaşık olarak 125 µm, follikül çapı ise yaklaşık olarak 200 µm dir. Bu dönemde granüloza hücreleri tarafından antral sıvıya salınan **Oosit Maturasyon İnhibitörü (OMI)** ile oositin büyümesi durur. Ancak granüloza hücreleri çoğalmaya devam eder. Granüloza hücrelerindeki bu çoğalma ön hipofiz bezinden salınan FSH'a bağlıdır. Granüloza hücreleri FSH etkisi altında hem çoğalır hem de hücrelerarası boşluğa follikül sıvısını biriktirir. Follikül sıvısının yapısında; büyüme faktörleri, hiyaluronat, plazminojen, heparan sülfat, fibrinojen ve steroid bağlayıcı proteinlerle birlikte steroid hormonlar yer alır. Follikül büyüyüp antrum genişledikçe granüloza tabakasının oositin etrafında yer alan kısmı **kumulus ooforus** adını alır. Oositi hemen dıştan çevreleyen ilk sıra kumulus hücreleri de **korona radyata** olarak adlandırılır. Korona radyata hücreleri zona pellusidanın yapısına katılan mikrovilluslara sahiptir bu mikrovilluslar oositin mikrovillusları ile oluklu bağlantılar (gap junction) aracılığı ile iletişim kurar. Granüloza hücrelerindeki mikrovillusların sayısı serbest antral yüzdeki LH reseptör artışına paralel artış gösterir.

Graaf (tersiyer/ preovulatuvar/ olgun) Follikülü: Follikül çapı yaklaşık olarak 15-20 mm dir. Artan antrum sıvısı nedeniyle iç ve dış basınç artarak follikül ovaryum yüzeyine doğru kabarmaya başlar. Kumulus ooforus follikül duvarından ayrılarak antrumda serbest halde yüzer duruma geçer. Bu evrede oosit maturasyonunu tamamlayarak I. Mayoz bölünmeyi gerçekleştirir, sekonder oosit oluşur ve oosit ovaryumdan atılmaya hazır duruma gelir. Diğer taraftan da teka interna hücrelerinin sitoplazmasında yağ damlacıkları görülür, steroid sentezleyen hücre görünümü kazanırlar. LH teka interna hücrelerini androjen salgılaması için

uyarır. Androjenler granüloza hücrelerindeki DER'e taşınır ve FSH'n etkisi ile granüloza hücreleri aromataz enzimi aracılığı ile androjenleri östrojene çevirir.

Atretik Follikül: Birçok follikül olgunlaşma sürecine girer ama tek bir follikül bunu tamamlar (**dominant follikül**). Olgunlaşmayacak olan folliküller gelişimin herhangi bir evresinde atreziye uğrar. Atrezi sırasında önce oosit daha sonra da granüloza hücreleri dejenere olur. Granüloza hücrelerinde mitoz durduktan sonra apoptozis başlar, oluşan apoptotik cisimcikler fagosite edilirler. Granüloza hücreleri ve teka hücreleri arasındaki bazal membran da kalınlaşıp hiyalinize bir bant olan **camsı membranı (Glassy membran)** oluşturur. Zona pellusida da parçalanır ve fagosite edilir. Teka interna hücreleri hipertrofiye uğrar, follikül antrumu bağ dokusu ile dolar. Bu yapı korpus albikansa benzer ama daha küçüktür. (23, 24, 25, 26, 27)

Ovulasyon: Ovulasyon menstrual döngünün 14. gününde gerçekleşen olgunlaşan oositin beraberindeki yapılarla birlikte ovaryum üzerinden karın boşluğuna atılma işlemidir. Her menstrual siklusta bir ya da iki adet maturasyonunu tamamlamış oosit atılır.

Follikül hücrelerince salgılanan östrojen nedeniyle kandaki östrojen seviyesi giderek artar. Östrojen etkisiyle hem granüloza hücreleri artmaya devam eder hem de ovulasyona yakın seviyeleri artan östrojen ovulasyondan 12-24 saat önce LH seviyesinde hızlı bir artışa yol açar. LH'deki artışla follikülde progesteron ve prostoglandinlerin sentezi artar, proteolitik enzimler aktive olur ve follikül duvarı rüptüre olur. Maturasyonunu tamamlamış sekonder oosit kumulus hücreleri ve diğer yapılarla birlikte atılır. (24, 25, 26)

Korpus Luteum: Ovulasyondan sonra teka internadaki damarlar yıtılır ve oositten arta kalan follikül lümeninin içine az miktarda kanama olur ve **korpus hemorajikum** oluşur. Follikülü bağ dokusu hücreleri doldurur, granüloza ve teka hücreleri morfolojik değişikliklere uğrar. Granüloza hücrelerinin granüloza lutein hücrelerine ve teka internadaki hücrelerin teka lutein hücrelerine dönüşümüyle oluşan yapı **korpus luteum** olarak isimlendirilir. Sitoplazmaları lipid damlacıkları ile dolan granüloza lutein hücreleri soluk boyanırlar ve progesteron sentezlerler. Teka lutein hücreleri, granüloza lutein hücrelerinden daha küçüktürler östrojen sentezlerler. Döllenme gerçekleşmediği taktirde korpus luteum sadece 14 gün aktif kalır ve **menstruasyon korpus luteumu** olarak adlandırılır. Daha sonra yağlı dejenerasyon gelişir, hücreler küçülür ve damarlanma azalır. Bağ dokusunda hiyalinizasyon gelişir. Beyaz bir skar dokusu halinde **korpus albicans** oluşur. Döllenme gerçekleştiği takdirde korpus luteum hücreleri daha da büyüyerek **korpus luteum pregnansiyi** meydana getirir. Korpus luteum pregnansi de gebeliğin 4.-5. aylarından itibaren fonksiyonlarını plasentaya devreder. (23, 24, 25, 26, 27)

2.4. Ovaryum Fizyolojisi

Ovaryum fonksiyonlarını başlıca; hipotalamustan salınan GnRH, ön hipofizden salınan gonadotropinler; FSH ve LH ve ovaryumdan salınan östrojen ve progesteron tarafından kontrol edilir.

Gonadotropinler tarafından uyarılmayan ovaryumlar inaktif haldedirler. Puberteyle birlikte GnRH'nin pulsatil salınımı ile fonksiyonlar başlar. GnRH sekresyonu dopamin, β -endorfin, serotonin ve norepinefrin tarafından düzenlenir. Pulsatil olarak salınan GnRH de ön hipofizden FSH ve LH hormonlarının salgılanmasını uyarır. Ve bu hormonlar da follikül gelişimini başlatırlar. (27,29)

Ovaryan döngü folliküler ve luteal dönemlerden oluşur.

Folliküler Dönem: Menstruasyonun ilk gününden başlayıp ovulasyona kadar süren evredir, 10-15 adet primordial follikül gelişmeye başlar 1 ya da 2 adet olgun follikül oluşur. Folliküler dönemde granüloza hücrelerinden östrojen salınımı söz konusudur.

Luteal Dönem: Ovulasyondan sonra başlayıp korpus luteumun yıkımına kadar olan evredir. Ovulasyonun ardından oositi atılan olgun follikül korpus luteuma dönüşür, östrojen ve progesteron hormonlarının kaynağı görevini görür, döllenme gerçekleşmediğinde ise dejenerasyona uğrar.

Folliküler dönemde FSH düzeyinde erken dönemde artış vardır, LH ise sabit bir oranda salgılanır. FSH granüloza hücreleri, LH ise teka hücreleri üzerine etki eder. FSH granüloza hücrelerinin çoğalmasını ve östrojen üretimini indükler, antrumun genişlemesine destek sağlar. Sentezlenen östrojen kana geçer ve plazma östrojen seviyesi belirli bir düzeyde tutulmuş olur. Östrojenin kendisi de granüloza hücrelerinin çoğalmasını uyarır ve östrojen üretimi daha da artar. LH sadece teka hücrelerinin çoğalmalarını ve bu hücrelerden androjen sentezini de uyarır. Androjenler difüzyonla granüloza hücreleri içerisine girer ve burada aromataz enzimi tarafından östrojene dönüştürülür.

İkinci haftanın başlangıcına kadar, bir follikül dominant hale gelirken gelişmekte olan diğer folliküller dejenere olurlar. Bunun nedeni folliküllerin canlılığı ve atrezinin önlenmesi için en önemli faktör olan FSH'nin plazma düzeyinin azalmasıdır. Dominant follikülün canlılığını sürdürebilmesi iki nedene bağlıdır. Birincisi bu follikülün granüloza hücrelerinde FSH reseptörleri artmıştır ve FSH'ye duyarlılık da artmıştır. İkincisi ise, granüloza hücreleri bu dönemde LH tarafından da uyarılmaya başlar çünkü artık granüloza hücrelerinde bol miktarda LH reseptörü vardır.

Dominant follikülde daha fazla östrojen salgılanır ve artan östrojen, gonadotropin salgılanması üzerine negatif geri bildirim yapar. Östrojenin bu etkisi ile ön hipofizden FSH ve LH salınımı azaltılır. FSH seviyeleri daha da düşer. FSH'nin LH'den daha fazla azalmasının nedeni granüloza hücrelerinin salgıladığı inhibinin ağırlıklı olarak FSH sekresyonunu baskılamasıdır.

Geç folliküler dönemde plazma östrojen değerlerinin bir veya iki gün süreyle yüksek düzeyde seyretmesi hipofiz bezinde LH serbestleyen mekanizmaların GnRH'ye duyarlılığının artmasına ve aynı zamanda hipotalamustan GnRH salgısının uyarılmasına neden olur. Bu da östrojenin pozitif geri bildirim mekanizmasıdır. Sonuç olarak hızla yükselen östrojen düzeyi büyük LH dalgasına yol açar. LH'nin döngü ortasındaki bu artışı ovulasyonu indükleyen esas etkidir (LH piki). Yükselmiş plazma LH düzeyleri sonucunda primer oosit I. mayoz bölünmesini tamamlar, antrum büyüklüğü ve folliküle gelen kan hacmi artar, granüloza hücreleri tarafından sentezlenen enzim ve prostoglandinler artar ve follikül-ovaryum membranları yıkılmaya başlar. Stigma bölgesinin zayıflaması

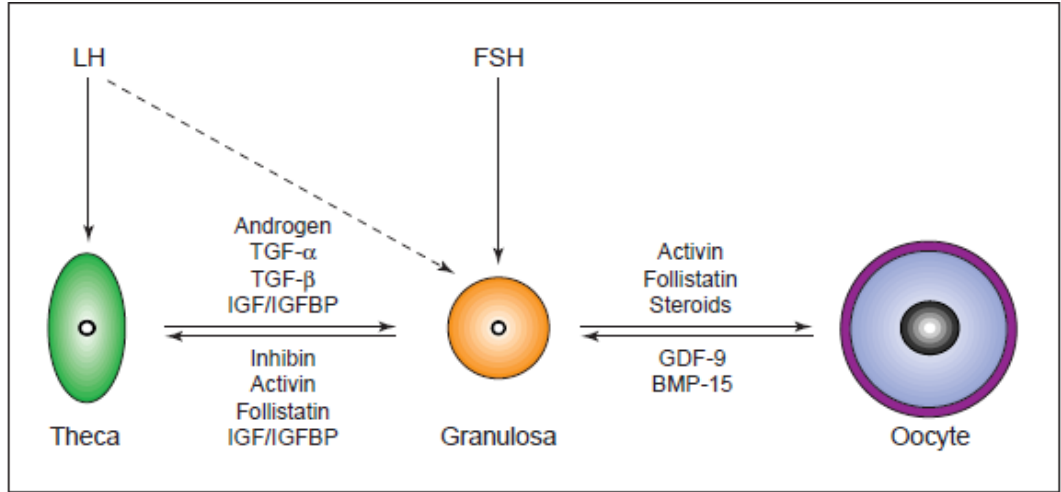
sonucu oosit ve onu saran kumulus hücreleri birlikte pelvik boşluğa atılır. Yüksek düzeyde LH salgısı sadece olgun follikülden ovulasyonu değil, follikülden geriye kalan granüloza ve teka hücrelerinin korpus luteuma dönüşümünü sağlayan reaksiyonları da uyarır. Düşük ama yeterli miktarda LH, korpus luteum fonksiyonunun 14 gün daha devam etmesini sağlar. Gebe olmayan kadında korpus luteum, bol miktarda progesteron, östrojen ve inhibin salgılar. Luteal fazın ilk döneminde östrojen seviyesi yüksek olsa da, progesteron büyük LH dalgalarının oluşmasını engeller. Luteal evrede inhibin konsantrasyonundaki artış da FSH sekresyonunun baskılanmasına katkıda bulunur. Bu nedenle, döngünün luteal evresinde görülen gonadotropin değerleri oldukça düşüktür. Gonadotropin salgısında artış olmadığı zaman korpus luteumun ömrü oldukça kısadır. Bu nedenle eğer gebelik meydana gelmezse, iki hafta içinde dejenere olur.

Korpus luteumun dejenere olmasıyla birlikte, plazma östrojen ve progesteron değerleri de düşer. Östrojen ve progesteronun inhibitör etkisinden kurtulan FSH ve LH hormonlarının sekresyonları tekrardan artar ve yeni bir döngü başlamış olur. (29, 30, 31)

2.5. Follikülogenezisin ko-regülatörleri

Ovaryumların, fertilizasyon yeteneği olan oosit maturasyonunu sağlamak ve hormon üretimi yapmak gibi görevleri işlevsel alt birimleri olan folliküllerle sağlanır. Bu da follikülerin büyüme ve gelişmesi ile ilgili intra/ekstra ovaryan hormonlar ve büyüme faktörleri arasındaki kompleks bir mekanizma ile sağlanır.

Follikül gelişiminde, hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipofizden salgılanan follikül stimulan hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH), ayrıca ovaryumda sentezlenen otokrin ve parakrin etkili lokal büyüme faktörleri rol alır. Büyüme faktörleri oosit, granüloza hücreleri ve teka hücrelerinde sentezlenip salınabilir. (23, 24, 25, 26) Hipofizden salınan gonadotropinler ve metabolik hormonlar gibi dış faktörler dışındaki follikülogenezise destek olarak katılan lokal üretilmiş olan çeşitli büyüme faktörlerine ko-regülatörler denilmektedir.(32)



Şekil 2. Follikül gelişiminde etkili olan büyüme faktörleri ve etkileri (32)

Başlıca büyüme faktörleri ve diğer faktörler:

- Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- β) ailesi (TGF- β , GDF9, **BMP6**, BMP7, BMP15, AMH, Aktivin, İnhibin)
- İnsülin benzeri büyüme faktörü ailesi (IGF)
- Temel Fibroblast büyüme faktörü (bFGF)

- c-Kit reseptörleri
- İnterferonlar (IFN α , IFN β)
- Nörotropinler
- Smadlar (smad-2,-4),
- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)
- Ovaryan Oluklu Bağlantılar/Gap Juntionlar (Cx26, Cx30.3, Cx32, Cx37, Cx40, **Cx43**, Cx45 ve Cx57)
- Olgunlaşmayı Sağlayan Faktör/MPF (**p34Cdc2** kinaz ve siklinB1 heterodimeri)
- Koloni Stimüle Edici Faktör (CSF)
- Ret Finger Protein-Like 4 (RFLP4) geni (27, 33, 34, 35)

Primordiyal follikülden primer follikül oluşması ön hipofiz hormonların siklik değişikliklerinden bağımsızdır, ko-regülatörler etkili olabilir. Primer follikül oluştuktan sonra folliküllerin ileri gelişimi gonadotropinlerin (FSH, LH) ve ko-regülatörlerin etkisi ile olmaktadır. Ko-regülatörlerden BMP-15, GDF-9, BMP-6 ve c-Kit oosit kaynaklıdır. AMH, EGF, bFGF, BMP-2, BMP-5, BMP-6, inhibin ve aktivin granüloza hücre kaynaklıdır. TGF- β , BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-7 teka hücre kaynaklıdır. BMP-6, BMP-2 gibi bazı regülatörler ise birden çok hücre kaynaklıdır. Tüm bu faktörler, otokrin ve parakrin etkileriyle bir bütün olarak uyum içerisinde fonksiyon gösterirler. (27, 33, 34, 35)

2. 6. Kemik Morfogenik Protein (BMP 6)

TGF- β en az 35 üyesi olan bir protein grubudur. Bu proteinler tüm vücuda dağılmış durumdadırlar ve intrauterin ve postnatal yaşam boyunca sayısız fizyolojik yolda ekstraselüler ligand olarak görev yaparlar. TGF- β süper ailesi, gelişimsel olarak ovaryan somatik hücrelerden ve oositlerden eksprese edilerek follikülogenezisin intraovaryan regülatörü gibi görev alırlar.

Bu grubun üyeleri arasında; BMP ailesi, GDF ailesi, activin/inhibin ailesi, GDNF ailesi, AMH ve nodal yer almaktadır. (35)

BMP-6 gen ifadenmesinin activin-A ve BMP-7 ile arttığı tespit edilmiştir.

BMP-6 ve activin arasında resiprokal etkileşim olabilir. BMP-6 follikülogenezisin ilk evresinde activin indükleyicisi olarak rol oynayabilir.

BMP-6, primordial ve primer folliküllerde yoğun olarak eksprese edildiği halde bu folliküllerde FSH reseptörünün eksprese edilmemesi activinin follikül büyümesinde rol aldığını ortaya koymaktadır.

Granüloza hücrelerinden salınan activin A, BMP-7 ve BMP-6 mRNA seviyesini artırır. Bu ikisi FSH reseptörünü uyaran proteinlerdir. Ayrıca Activin A ve BMP-7'nin FSH reseptörlerini BMP-6 up regülasyonu üzerinden düzenleyebileceği de belirtilmiştir. (35)

Oositlerden ve granüloza hücrelerinden eksprese edilen BMP-6, granüloza hücreleri üzerinde proliferasyonu sağlar ve prematür luteinizasyonu önleyerek follikülün maturasyonunu destekler. Yapılan çalışmalarda BMP-6'nın BMP-15, BMP-7, GDF-9 ile birlikte, erken luteinizasyonu önleyerek follikülogenezisi sürdürdüğü bildirilmiştir. (35, 36)

BMP-6'nın follikülogenez üzerindeki etkileri türler arası farklılık göstermektedir.

BMP-6 ratlarda granüloza hücrelerinde FSH reseptörü, inhibin α , inhibin/aktivin β alt ünitelerinin mRNA ekspresyonunu azaltarak follikülogenezisi etkilerken, sığır granüloza hücrelerinde ise inhibin A ve aktivin A üretimini artırır.

Granüloza hücrelerinin BMP-6 ile inkübasyonunda ise inhibin/aktivin β A ve β B alt ünitelerinin ekspresyonunun anlamlı arttığı, inhibin α nın etkilenmediği görülmüş. FSH reseptör mRNA ekspresyonunun 3 kat arttığı AMH mRNA ekspresyonunun da anlamlı arttığı görülmüş.

Rat granüloza hücrelerinde BMP-6 mRNA seviyelerinin dominant follikül seçimi sırasında azaldığı bildirilmiştir.

İnsanlarda da BMP-6'nın dominant follikül seçimi sırasında mRNA seviyelerinin anlamlı bir şekilde düştüğü tesbit edilerek, bunun sonucunda BMP-6'nın FSH aktivitesini süprese ettiği düşünülmüştür.

İnsan ovaryumlarında BMP-6 ekspresyonu primordial ve primer folliküllerin oositlerinde belirgin gözlenirken, primordial follikül hücrelerinde nadir, primer ve sekonder follikül hücrelerinde ise az olarak gözlenmiştir, tersiyer follikül hücrelerinde yüksek, atretik follikül hücrelerinde ise oldukça zayıf gözlenmiştir. (35, 36, 37, 38, 39)

2.7. Konneksin 43

Oluklu bağlantılar; inorganik iyonların, amino asitlerin, vitaminlerin, nükleotidlerin, ikincil mesajcılarının, küçük metabolitlerin geçişine izin veren hücreler arası bağlantı birimleridir. Transmembran protein moleküllerinin özel bir şekilde düzenlenmesiyle oluşurlar. Bu proteinlere **konneksin** denir. 6 adet konneksin konneksonu oluşturur, komşu hücrelerin eş hizadaki 2 konneksonu da oluklu bağlantıyı oluşturur.

Oluklu bağlantılar aracılığıyla hücreler kendi aralarında hem elektriksel hem de metabolik olarak haberleşirler.

Vücudumuzda bir çok hücre arasında iletişim sağlamak amacıyla yer alan oluklu bağlantılar kemik, kemik iliği, beyin, kalp gibi bir çok organın gelişiminin düzenlenmesinde rol alırlar. (40, 41, 42, 43)

Kalp hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve elektriksel aktivasyonda önemli rolleri vardır. Yapılan bazı çalışmalarda transmembran proteinlerinden biri olan konneksin 43 eksikliğinin kardiyak malformasyonlara neden olduğu için yaşla bağdaşmadığı belirtilmiştir. (44, 45, 46, 47)

Ayrıca daha önceki çalışmalarda oluklu bağlantıların apoptozisi önlemedeki rolleri gösterilmiştir. Francis RJ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada konneksin 43 ün apoptozisi önlediği ve granüloza hücrelerinin yaşamlarının devamlılığı için gerekli olduğu belirlenmiş ve bu bilgi önceki bulguları desteklemiştir. (48)

Tüm bu fonksiyonlarla beraber oluklu bağlantı proteinlerinin dişi ve erkek üreme sistemlerinde de önemli rolleri bulunmaktadır. Erkek üreme sisteminde

proliferasyonu, germ hücre mayozunu ve diferensiasyonunu, bu hücrelerin epididimisteki final maturasyonlarını ayrıca seminal vezikül, prostat ve korpus kavernozumun gelişimini sağladığı gösterilmiştir. (49)

Dişi üreme sisteminde ise ovaryan follikül gelişiminde; hem follikül içinde oosit ve granüloza hücreleri arasında hem de follikül hücrelerinin birbirleriyle iletişimde oluklu bağlantılar önemli görevler üstlenirler. Ayrıca, oosit maturasyonu, corpus luteum biçimlenmesi, embriyonun implantasyonu için uterusun hazırlanması, trofoblast invazyonunun düzenlenmesi ve plasental fonksiyonlar için gerekli olduğu gösterilmiştir. Memeli oositleri onları çevreleyen kumulus hücreleri ile iletişimlerini oluklu bağlantılar aracılığı ile yaparlar. Ayrıca kumulus hücreleri ve granüloza hücreleri arasında da zengin bir oluklu bağlantı iletişim ağı mevcuttur. (50, 51, 52)

Cx26, Cx30.3, Cx32, Cx37, Cx40, Cx43, Cx45 ve Cx57 gibi konneksinler türe bağımlı olarak oosit ve granüloza hücre kompleksi içinde eksprese olurlar. (40, 41)

Yapılan çalışmalarda konneksin 37'nin oosit ve somatik hücreler arasındaki oluklu bağlantıların oluşumunda ana konneksin olduğu, konneksin 43'ün ise granüloza hücreleri arasındaki oluklu bağlantıların düzenlenmesinde esas rol alan konneksin olduğu bildirilmektedir. (53, 54, 55)

Konneksin 43 ovaryumda bol bulunan multifosforile bir proteindir ve onun fosforile hali oluklu bağlantının iletkenlik ve geçirgenliğini belirler. (56)

Konneksin 43 ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı türlerde farklı ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir. Konneksin 43 ilk primordial folliküllerde

yapılanırken, pre-granuloza hücrelerinde görülmeye başlar. Domuz ovaryumlarında yapılan çalışmalarda primer folliküllerin granuloza hücrelerinde saptanmış ve follikül büyüklüğü arttıkça ekspresyonunun da arttığı belirlenmiştir, bazı çalışmalarda ise ekspresyonun sekonder follikülden itibaren başladığı saptanmıştır. (57, 58)

Koyunlarda konneksin 43 antral folliküllerin hem granuloza hücrelerinde hem de teka hücrelerinde saptanmış. Sığırlarda primer follikül hücrelerinden itibaren artan düzeyde granuloza hücrelerinde görülmüş. En yüksek düzeyde sağlıklı antral folliküller ve korpus luteumda eksprese edildiği saptanmıştır. (55, 59)

Granot ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada sıçan ve farelerde oositte konneksin 43 mRNA ve protein ürünü belirlenmiş olsa bile yapılan diğer çalışmalar bunu desteklememiştir, konneksin 43 ekspresyonunun granuloza hücreleri ile sınırlı olduğu saptanmıştır. (56)

Konneksin 43'ün follikül gelişimdeki rolünü anlamak için konneksin 43 knock out fareler kullanılmış. Konneksin 43 eksikliği yaşama bağdaşmayan bir durum olduğu için prenatal konneksin 43 knock out farelerin ovaryumları alınarak in vivo ya da in vitro olarak postpubertal maturasyonlarını tamamlamak için gelişmeye bırakılarak konneksin 43 yokluğunda follikül gelişiminin genelde unilaminer primer follikül evresinde kaldığı görülmüştür. Bu da konneksin 43'ün granuloza hücre proliferasyonunda rol aldığını düşündürmektedir. Ayrıca bu folliküllerde bulunan oositlerin morfolojik olarak anormal oldukları gözlenmiştir.

Bu bulgular primer follikülden eksprese edilen tek konneksinin konneksin 43 olabileceğini düşündürmüştür. (60)

Konneksin 43 gonadotropinlerle transkripsiyonel, translasyonel, post-translasyonel seviyelerde regüle edilir. Normal ovaryan fonksiyonların yanında oluklu bağlantıların, özellikle konneksin 43'ün kanser süpresyonunda da rolü vardır. (41)

2.8. Normal Hücre Döngüsü

Hücrenin, hücre bileşenlerini eşleyerek bölünmesi sürecine hücre döngüsü denir. Hücre döngüsü G1, S, G2 ve M fazlarından oluşur. G1, S ve G2 fazları döngünün yaklaşık %90 ını oluşturur ve 16-24 saat sürerken M fazı ise 1-2 saat sürer. G1 fazı, DNA sentezi için hazırlık aşamasıdır, S fazında DNA replikasyonu olur, G2 fazında mitoz hazırlık proteinleri sentezlenir, M fazında ise mitoz tamamlanır. Döngüdeki bu geçişlerin devamlılığı için katalizör görevli siklin bağımlı kinazlar (cdk) ve regülatör görevli siklinler bir kompleks oluşturarak birlikte fonksiyon görürler. Cdk'lar protein fosforilasyonu yapan enzimlerdir. Aktiviteleri DNA sarmalının açılması için gereklidir ayrıca geçiş noktalarını başlatan hedef proteinleri fosforilleyerek aktive ederler.

Hücre döngüsünde bir faz tamamlanmadan sonraki faza geçilirse genetik materyalde doğru kopyalanma olamayacağı için hücrede hasar meydana gelebilir. Bunun önlenmesi için de G1-S, G2-M ve Metafaz- Anafaz geçişlerinde kontrol noktaları bulunmaktadır. Bu kontrol noktalarında hücrenin döngüye devam edip

etmeyeceğine ya da bir sonraki faza geçilip geçilmeyeceğine karar verilir. Toksinlere ya da diğer çevresel etkenlere maruz kalan hücrede DNA da hasar meydana gelirse bu kontrol noktalarında hücre durur, hücreye tamir için zaman sağlanır, tamir gerçekleştirilirse hücre döngüye devam eder, tamir gerçekleştirilemezse hücre apoptozise gider.

Normal hücrede bu kontrollerde tümör baskılayıcı genler işlev görür. DNA da bir hasar varsa bu genler siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI) üzerinden siklin bağımlı kinazların ya da siklin/cdk kompleksinin inhibisyonu ile döngüyü durdurur. Örneğin G1-S geçişinde; p53 tümör baskılayıcı geni, p21 (CKI) ekspresyonunu artırır. p21 ise siklin/cdk kompleksini inhibe ederek ya da PCNA (proliferating cell nuclear antijen)'yı inhibe ederek döngüyü durdurur. G2- M geçişinde ise DNA hasarına yanıt olarak döngü durdurulup cdk1 defosforillenmesinin inhibisyonu sağlanır. Burada Chk1 ve Chk2 'ler devreye girer ve bunlar da cdc2 (cdk1) / siklin B kompleksini defosforile ederek aktive eden cdc25C'yi fosfatlayarak inhibe ederler ve hücre döngüsü G₂'de durdurulur. (61, 62)

2.9. p34cdc2

Olgunlaşmayı İlerleten Faktör (MPF); hem üreme hücrelerinde hem de somatik hücrelerde bulunan, hücre döngüsünde mitozaya giriş için gerekli olan bir komplekstir. MPF ilk kez 1970'lerde kurbağa oositleri ile yapılan deneylerde fark edilmiştir. 1971'de Mause ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada G₂'de

duraklatılmış kurbağa oositlerine G₂'den M'ye geçmiş olan hücrelerin sitoplazmaları aktarılmış ve hormon uyarımı olmadan G₂ geçişinin indüklendiği görülmüş ve sitoplazmada bulunan MPF'nin bunun için yeterli olduğu gösterilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalar da MPF'nin p34cdc2 kinaz ve siklin B1 alt birimlerinden oluştuğunu göstermiş. Siklin B1 düzenleyici alt birim, p34cdc2 de protein kinaz fonksiyonu olan katalitik alt birim olarak belirlenmiştir. (62)

Siklin B sentezi S evresinde başlar ve birikir. S ve G₂ evreleri süresince de cdc2 ile birleşir. Birleştikleri zaman cdc2, kinaz aktivitesi için treonin-161 üzerinden fosfatlanır. Treonin-14 ve tirozin-15 üzerinden fosfatlanarak ise inaktif halde kalır. G₂ den M'ye geçişte ise cdc25C protein fosfatazı tarafından treonin-14 ve tirozin-15 üzerinden defosforillenecek cdc2/siklin B aktif hale gelir. Aktifleşen cdc2 protein kinaz da M evresini başlatan hedef proteinleri fosfatlar. Sonra siklin B übukitin aracılı proteaz ile parçalanır ve cdc2 de inaktive olur, hücre de mitozdan çıkar. (61, 62)

MPF aktivitesi germinal vezikülün yırtılmasından hemen önce görülür, I. metafaza kadar artar, anafaz-telofazda azalır sonra tekrar artar ve metafaz II de maksimum seviyeye çıkar.

Mitoz bölünme ile çoğalan oositler, fütal yaşam esnasında I. mayotik bölünmeye başlar. Fakat doğumdan önce veya hemen sonra 1. mayoz bölünmenin profaz evresinde puberteye kadar durur. Ovülasyondan hemen önce MPF aktivitesi artar, germinal kese yırtılır ve oosit mayoz I' i tamamlar. Bu alt ünitelerden birisinin yokluğunda oosit I. mayozu tamamlayamaz. Ovaryumda

oositin mayotik düzenleyicisidir, follikül çapı, oosit çapı ve oosit gelişimsel yeteneği ile pozitif ilişkilidir. (63, 64, 65)

Hücre döngüsünün G_1 ve G_2 kontrol noktaları bulunmaktadır. G_1 kontrol noktasında DNA hasarı olursa tümör süpressör gen olan p53 proteininin aracılığı ile hücre döngüsü duraklatılır. P53, p21 ekspresyonunu artırır. P21 de siklin bağımlı kinazlarla (cdk) etkileşir ve cdk/siklin kompleksini inhibe eder. S ve G_2 noktalarında ise DNA hasarına yanıt olarak Chk1 ve Chk2 'ler devreye girer. cdc2/ siklin B kompleksini defosforile ederek aktive eden cdc25C'yi fosfatlayıp inhibe ederler ve hücre döngüsü G_2 'de durur. (61, 62)

2.10. Kemoterapi ve Antineoplastik Ajanlar

Kanser, vücutta bir grup normal hücrenin kontrolsüz ve anormal bir şekilde çoğalıp invaziv özellik kazanarak vücuttaki diğer organlara yayılmasıyla karakterize bir hastalıktır. (1)

Kanser oluşumunda, hücreler apoptozise gitmesi gerekirken, DNA hasarı ya da yanlış transkripsiyon sonrası anormal şekil ve hızda büyümeye ve çoğalmaya başlarlar böylece tümör adı verilen kitle oluşumuna yol açarlar. Ayrıca kanser hücreleri sınırsız bir şekilde çoğalabildikleri gibi güçlü hücrelerarası bağlara sahip olmadıkları vücudun diğer bölgelerine yayılarak uzak yerlerde çoğalma yeteneği (metastaz) geliştirirler. Yayıldıkları yerdeki doku ve hücreleri işgal ederek, işlevlerini önlerler.

Hastaya kanser tanısı konulduktan sonra hastanın genel durumuna, hastalığın aşamasına, tümörün histolojik yapısına ve metastaz yapıp yapmamasına göre tedavi belirlenir. Genellikle uygulanan tedavi yöntemleri ise kemoterapi, radyoterapi, immünoterapi, kemik iliği transplantasyonu ve cerrahi tedavidir. Hastalığın evresine göre bu tedavi yöntemlerinden bir veya bir kaç uygulanmaktadır. (66, 67, 68, 69)

Kemoterapi, tüm vücudu etkileyen genel bir tedavi yöntemi. Kemoterapide ana hedef kanserli hücrelerin büyümesini, çoğalmasını durdurmak aynı zamanda yok etmek ve normal hücrelere verilecek hasarı en düşük düzeyde tutmaktır. Kemoterapi doğal veya sentetik kimyasal maddeler, biyolojik ajanlar veya hormonlarla yapılan tedavilerin tümünü içine almaktadır.

Kemoterapi uygulamaları; Küratif kemoterapi (primer tedavi amaçlı), Neoadjuvan kemoterapi (cerrahi ve radyoterapi öncesinde tümör boyutlarını küçültmek için), Adjuvan kemoterapi (cerrahi ve radyoterapi sonrası tedaviye yardım için), Palyatif kemoterapi (inoperabl olgularda semptom kontrolü için), Konkomitan kemoterapi (Radyasyon ve biyolojik tedavilerin daha iyi sonuç vermesi için), Kombine kemoterapi (birden çok kemoterapotik ajanın bir arada verildiği) şeklinde sınıflandırılabilir.

Kemoterapi tedavisinde kullanılan antineoplastik ajanlar kimyasal yapıları ve etki mekanizmalarına göre sınıflandırılırlar:

Antimetabolitler: DNA ve RNA proteinlerin sentez zincirinin değişik basamaklarında substrat veya koenzim olarak rol oynayan çeşitli doğal metabolitlerin analoglarıdır. Bu nedenle enzim üzerinde kendilerine özgü

noktalara karşı onlarla yarışır ve bağlanmalarını inhibe ederler, bazıları ise yarışma söz konusu olmaksızın aktif noktalara kovalent bağla bağlanarak, metabolit senteziyle ilgili bir enzimi geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe ederler. Folik Asit Antimetabolitleri (Metotreksat), Pürin Antimetabolitleri(6-Merkaptopürin), Pirimidin Antimetabolitleri (5-Flourourasil).

Alkilleyici Ajanlar: DNA daki guanin bazları arasında geri dönüşümsüz bağlanma oluşturarak DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonunu bozarlar. Bu gruptaki ilaçlara örnek: Klorambusil, Busulfan, Siklofosfamid, Mekloreタミン, Karmustin, Dakarbazin.

Antibiyotikler: DNA ile bağlanıp, RNA sentezini ve DNA'ya bağlı protein sentezini inhibe ederek hücre bölünmesini engellerler. Örnek: Daktinomisin, Doksorubisin, Daunorubisin, Bleomisin.

Enzimler: Hücre metabolitlerini inhibe ederler ve protein sentezine engel olurlar. Bu gruptaki ilaçlara örnek: L-asparaginase'dır.

Hormonlar ve Hormon Antagonistleri: Hücrelerin proliferasyonu bir hormon tarafından baskı altında tutulan ya da aktive edilen dokulardan kaynaklanan kanserlerin tedavisinde etkilidir. Bu gruptaki ilaçlara örnek: Glukokortikoidler (Prednizon, Deksametazon), Antiöstrojenler (Tamoksifen), GnRH Analogları (Formestan), Antiandrojenler (Siproteron Asetat).

Bitkisel Kaynaklı İlaçlar: Vinka Alkaloidleri. Hücre döngüsünde metafaz aşamasını engellerler ve hücre ölümüne neden olurlar (Vinkristin, Vinblastin).

Platinum Bileşikleri: Sisplatin, Karboplatin.

Monoklonal Antikorlar: İmatinib, Transtuzumap (66, 69, 70, 71)

2.11. Sisplatin

2.11.1. Sisplatinin Yapısı ve Etki Mekanizması

Sisplatin kanser tedavisinde sıkça kullanılan ajanlardan birisidir. Tek başına ya da diğer kemoterapi ajanlarıyla birlikte kullanılır. Wilms tümörü, nöroblastom, hepatoblastom, beyin tümörleri, germ hücreli tümör gibi çocukluk çağı tümörlerinin ve özofagus, mesane, prostat, testis, baş-boyun, safra kesesi, endometrium, akciğerin küçük hücreli kanseri gibi erişkin tümörlerinin tedavisinde kullanılır. Kendisi tümörler üzerinde toksik etki göstermekle birlikte tümör hücrelerini radyoterapinin sitotoksik etkilerine karşı duyarlı hale getirir. (71)

Sisplatinin keşfi tesadüfidir. Michigan State Üniversitesinde, Rosenberg ve arkadaşları 1965'te elektromanyetik radyasyonun memeli hücreleri ve bakteriler üzerindeki etkilerini araştırırken çalışma ortamında *Escherichia coli* bakterileri kullanmışlardır. Platin elektrotlarının kullanıldığı ortamda bakterilerin büyümeye devam ettiği ama bölünmelerinin durduğu fark edilmiştir. Bu etkinin de elektromanyetik radyasyondan değil de platin türevlerinden kaynaklandığı anlaşılmıştır. İlerleyen araştırmalar sonucunda ise buradaki biyolojik ajanın sisplatin izomeri olduğu saptanmıştır. İlk kez Michele Peyrone tarafından 1845'te *cis*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂] olarak tanımlanmıştır. (71, 72)

Sisplatinin bakteri bölünmesine etkisi üzerine tümör hücrelerinin de büyümesini önleyebileceği düşünüldüğü için kemoterapotik ajan olarak kullanımı düşünülmüştür.

Sisplatin, merkezdeki iki değerlikli platin atomuna iki amonyum molekülü ve iki klor atomunun bağlanmasından oluşur. Kapalı formülü $PtCl_2H_6N_2$ dir. Diğer isimleri; cis-diaminedikloroplatinum (II), cis-platinum (II), cis-DDP, CDDP dir. Divalent, inorganik suda çözünür bir moleküldür. Moleküler ağırlığı 300.1 g/mol' dür. Bileşik cis ve trans olmak üzere iki izomere sahiptir. Sadece cis formu sitotoksik özelliğe sahiptir.

Sisplatin intravenöz ya da intraperitoneal olarak uygulanmaktadır. İntravenöz uygulamalardan sonra plazma yarılanma ömrü 25-50 dakika civarındadır. Platinumun %90 dan fazlası kanda plazma proteinlerine bağlanır. Sisplatinin yüksek konsantrasyonları böbrek, KC, bağırsaklar, ve testiste bulunur. Santral sinir sistemine geçişi ise azdır. İlk 1 saatte yaklaşık %25 i böbreklerden atılır, 5 gün içerisinde de %43 kadarı bilier yolla atılır, intestinal yoldan atılımı çok düşüktür.

Sisplatin hücre içinde nükleik asit ve proteinlerle reaksiyona girer ve bu şekilde kanser hücreleri üzerinde etkilerini gösterir. Sisplatinin hücre içine girişi diffüzyonla ve aktif transportla olur. Pasif diffüzyonla alımı hücre içi klor iyonlarının konsantrasyonuna bağlıdır. Aktif transportla alımında ise bakır transport proteini CTR1 rol almaktadır.

İlaç hücre içerisine alındıktan sonra su ile reaksiyona girer ve klor iyonlarını kaybeder. Böylelikle kaybettiği klor iyonları yerine su molekülü kazanır ve genetik materyalle reaksiyona girecek olan pozitif yüklü aktif form oluşmuş olur. Bu aktif forma genetik materyal dışında membrandaki fosfolipidler, mikrofilamanlar, tiyoller vb. de bağlanır.

İlacın sitotoksik etki gösterdiği başlıca hedef ise DNA dır. Sisplatin, DNA'daki guanin bazının oldukça reaktif olan 7. azot atomu ile kolayca tepkimeye girerek tekli bağ, DNA ile sitozol ve çekirdekdeki proteinler arasında, iki DNA zinciri arasında (interstrand) ve en sık olarak da tek DNA zincirindeki pürin bazları arasında (intrastrand) kovalent çapraz bağlar oluşturur. Böylelikle de DNA'nın transkripsiyonunu ve replikasyonunu bozarak hücre siklusunun G2 fazında durmasına neden olur. Aynı zamanda S fazındaki çapraz bağlar üzerinde de etkileri düşünülmüştür. Ortaya çıkan hücre hasarı tamir mekanizmaları ile onarılmayacak boyutlardadır ve bu nedenle hücre apoptozise gider. (70, 71, 73, 74, 75)

Ayrıca sisplatin dokuda reaktif oksijen radikallerinin üretimini uyarmaktadır. Bu oluşan serbest radikaller ise hem hücre membranı lipidlerini peroksidasyon ile bozarak hem mitokondrial işlev bozukluğuna yol açarak hücre hasara sebep olmaktadır. Bununla birlikte sisplatin antioksidan sistemde görevli olan süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimlerde azalmaya da neden olmaktadır. (73, 74, 75, 76)

2.11.2.Sisplatin Toksisitesi

Bulantı/ kusma, tad alma duyusunda bozulma, ishal, iştah kaybı sisplatinin kısa dönemde karşımıza çıkan yan etkileridir. Bu yan etkiler ciddi ve uzun süreli de görülebilir. Saç dökülmesi de görülebilir ama tedavi bitiminde geri döner. Hipomagnezemi, hipokalsemi, hipokalemi, hipofosfatemi gibi elektrolit

bozuklukları görülebilir. Hipokalsemi ve hipomagnezemiye bağlı tetani gelişebilir.

Acil ve ciddi yan etkiler ise; enjeksiyon yerinde ağrı, yanma ve kızarıklık, el ve ayaklarda uyuşma, karıncalanma, soğukluk, mavi renk değişikliği, refleks kaybı, kas krampları, eklem ağrısı, ayak veya bacak şişmesi, mental durumda bozulma, baş ağrısı, kalp atışlarında bozulma, idrarda kan, nöbetler, bilinç bulanıklığı, görme bozuklukları ve bronkokonstriksiyon, taşikardi ve hipotansiyonla seyreden uygulamadan birkaç dakika içinde gözlenen ve i.v epinefrin steroid ve antihistaminik uygulamasıyla düzelebilen anaflaksi benzeri alerjik reaksiyonlardır. Acil gelişen yan etkilerde ilaç kesilip klinik tabloya müdahale edilir.

Ayrıca daha uzun dönemde kendisini gösteren ve geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz olan yan etkiler görülmektedir. Bu yan etkilerden en belirgin olanı nefrotoksisitedir. İlacın vücuttan atılımı böbrekler yoluyla olmaktadır ve diğer organlara göre daha çok böbreklerde birikmektedir. Böbreklerde proksimal tübül hasarlanması, akut böbrek yetmezliği, akut tübüler nekroza yol açabilmektedir. Diğer yan etkilerinden biri olan ototoksisite ise kendini kulak çınlaması ve yüksek frekanslarda işitme kaybı olarak gösterir. İşitme kaybı tek taraflı ya da iki taraflı olabilir. Yüksek dozlardan sonra veya tekrarlayan dozlara bağlı periferik nöropati gelişebilir. Geçici lökopeni, trombositopeni, ve anemiyle beraber orta ya da ağır miyelosüpresyon görülebilir. Sisplatin aynı zamanda mutajenik, teratojenik ve karsinojeniktir. Sisplatin sonrası ikincil lösemiler de

bildirilmiştir. Kadınlarda ovaryan kansere yönelik sisplatinle yapılan tedavilerde sekonder lösemi riskinde 4 kat artış gözlenmiştir. (70, 71, 77, 78, 79, 80)

Sisplatin uygulamasından önce ve uygulamayla beraber yeterli hidrasyon sağlanması ve diüretik desteği yan etkileri önleme açısından özellikle de nefrotoksisiteye karşı etkili olabilmektedir. Bu uygulama ile ilacın vücuttan atılımı hızlandırılmaktadır. Ayrıca da yapılan çalışmalar son yıllarda kullanımları gittikçe önem kazanan antioksidanların sisplatin toksisitesinde işe yaradığını göstermiştir. Bunlardan bir kısmı melatonin, vitamin E, vitamin C, L-karnitin dir. (71, 81, 82)

2.12. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksidasyon sonucunda vücutta ortaya çıkabilecek olan serbest radikallerin oluşumunu engelleyici veya etkilerini azaltan moleküllerdir. Normalde vücutta serbest radikallerin oluşumu ve bunların etkilerinin nötralize edilmesinde bir denge söz konusudur. Bu denge serbest radikaller lehine bozulduğu zaman, kimyasal tepkimelerle hücrelerin hasarı, apoptozis ile ölümü ya da DNA'nın yapısının bozulmasıyla kanser hücresine dönüşüm görülebilmektedir. (83)

Vücutta oluşan başlıca serbest radikal türleri; süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, singlet oksijen, nitrik oksit, lipid peroksit, peroksil radikalidir.

Serbest radikaller etkilerini; lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve genetik materyal üzerinden gösterirler. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile tepkimeye girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Proteinlerde ise fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin kümeleşmesine yol açarlar. Proteinler de başlıca hormonlar ve enzimler gibi birçok yapının bileşeni oldukları için bu yapıların da işlevlerinde aksaklıklar gözlenir. DNA 'da ise nükleotidlerle reaksiyona girerler, baz çifti değişikliklerine, sarmal yapının bozulmasına ve DNA kırıklarına yol açarlar. (83, 84, 85)

Vücutta başlıca antioksidan savunma sistemleri: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, ürik asit, sistein, histidin, albümin, Ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, Glutatyon, C vitamini, A vitamini, E vitamini, ubikinonlar, melatonindir.

Antioksidanlar, oluşan reaktif bileşenleri indirgerler ve peroksidasyonları önlemiş olurlar ya da direk tepkime vererek de etki gösterirler. (83, 84, 85, 86)

2.13. Asetil L-Karnitin

Karnitin ilk kez 1905 yılında hayvan kaslarından izole edilmiştir. 1927'de ise kimyasal yapısı belirlenmiştir. Bu yapıya göre karnitin, amino asitlere benzeyen ancak hiçbir protein yapısına girmediği için gerçek bir amino asit olarak kabul edilmeyen vitamin benzeri bir amindir.

Suda çözünebilen L- karnitinin kimyasal formülü 3-hidroksi-4-N-trimetilamino-butirat'tır. L-karnitin'in diğer kimyasal formları, asetil-L-karnitin ve propionil-L-karnitin'dir. (87, 88, 89)

L-karnitin, tüm memelilerde bulunan önemli bir endojen moleküldür. Başlıca kaynağı diyet (%75) olmakla birlikte, %25'i karaciğer ve böbrekte lizin ve metiyoninden sentezlenir. L-karnitin özellikle et, süt ve süt ürünlerinde bol bulunur, bitkisel besinlerde ise çok az seviyededir.(87, 88, 89, 90)

Endojen L-karnitin sentezi bir reaksiyon zinciri ile beş basamakta gerçekleşmektedir. Sentezin ilk basamağı proteine bağlı lizinin metilasyonudur. Metilleyici ajan SAM, tepkime sonucu oluşan madde ise trimetillizindir. İkinci basamakta 3-hidroksitrimetillizin oluşur. Üçüncü basamakta deoksikarnitinaldehit, dördüncü basamakta ise deoksikarnitin oluşur. Son basamakta ise deoksikarnitin hidroksilaz enziminin katalizörlüğünde karnitin oluşur. L-karnitin'in insanlardaki günlük sentez seviyesi 0,16 mg/kg ile 0,48 mg/kg arasında değişmektedir. Böylece yaklaşık 70 kg ağırlığındaki bir insan günde 11-34 mg L-Karnitin sentezi yapabilir.(90, 91) Kalp, iskelet kası, karaciğer, böbrekler, yağ dokusu, epididimis ve seminal sıvı karnitinden zengindir. Testosteronun etkisi ile epididimiste karnitin düzeyi plazmadan sağlanarak artmaktadır. Kan yolu ile taşınan karnitin ağırlıklı olarak kalp ve iskelet kasında depolanır.(92, 93)

L-Karnitin görev aldığı diğer metabolik olaylar;

- Dallı zincirli aminoasit metabolizması
- Keton cisimlerinin kullanımı
- Peroksizomal beta oksidasyon
- Eritrosit membranında yağ asiti-fosfolipid dönüşümü
- Yağ asit zincir kısaltma işlemlerinin yan ürünlerinin peroksizomlardan dışarı çıkarılması
- Antioksidan etki, serbest radikallerin temizlenmesi (94)

L-karnitin memeli metabolizmasında ATP üretiminde, organik asitlerin detoksifikasyonunda ve uzun zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyonu için sitoplazmadan mitokondrinin iç membranına geçişinde görev alan bir bileşiktir. L-karnitinin işlevi ile ilgili bir bozukluk yağ asitlerinin mitokondriye taşınmasını kısıtlayarak sitoplazmada yağ asitlerinin birikimini artırır. Mitokondrionlarda yağ asitlerinin azalan düzeyi beta oksidasyonunu sınırlar ve daha az ATP oluşumuna yol açar. Karnitin desteği ile yağ asidi taşınmasını sağlayarak enerji üretimini artırılır. Koenzim A (KoA)'lara karşı geçirgen olmayan mitokondriyon membranından uzun zincirli yağ asitlerinin taşınmasını aktive eder ve sonrasında beta oksidasyon ile ATP sağlanır. Birçok hücrel metabolik yolda kullanılan KoA'ların çoğu mitokondrion içinde bulunur. L-karnitin, beta oksidasyonu hızlandırarak asetil-KoA miktarını artırır. Toksik etkili asetil-KoA gruplarını tamponlayarak trikarboksilik asit (TCA) döngüsünde KoA'ların yeniden kullanılmasını sağlar. Bu şekilde asetil-KoA/KoA oranını düzenler.

İntramitokondriyal asetil-KoA'ların birikimi başta sitrat döngüsündeki enzimler olmak üzere glikoneogenez, üre döngüsü ve yağ asit oksidasyonu gibi birçok mekanizmanın enzimlerini inhibe edebilir. Bu nedenle hücrede asetil-KoA/KoA oranı çok önemlidir.

L-karnitin ve türevlerinin güçlü antioksidan özelliği in vitro ve in vivo çalışmalarda kanıtlanmıştır. L-karnitin serbest uzun zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyona girebilmek için mitokondriyon matriksine geçişini sağlar. Beta oksidasyon sonucu oluşan asetil KoA, trikarboksilik asit döngüsüne girer. Bu döngüde çok miktarda oksijen tüketilip, ATP üretilir. Bu döngü sonucunda H₂O'ya indirgenen oksijenin konsantrasyonu azalır ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu azalmış olur. (95, 96)

Hücre içi oksidatif hasar, lipid peroksidasyonuna, fosfolipid yıkımına ve serbest yağ asidi miktarının artışına neden olur. Serbest uzun zincirli yağ asitleri hidrofobik anyonlardır. Doku düzeylerinde bu anyonların artışı mitokondriyon da dahil hücre membran yapı ve fonksiyonlarında değişimlere neden olur. Farklı hücre tiplerinde yapılan çalışmalar karnitinin hücre membran geçirgenliğindeki değişiklikleri, apoptozisi, mitokondriyal disfonksiyonu ve lipid peroksidasyonunu güçlü bir şekilde engellediğini göstermiştir. (97, 98)

L-karnitin oksidatif stresi engeller, oksidatif hasardan korunmaya yönelik katalaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesini düzenler ve onları peroksidatif hasardan korur, birçok mitokondriyal toksik ajana karşı koruyucudur. Yapılan çalışmada yaşlı ratlara L-karnitin uygulaması ile L-karnitinin güçlü bir antioksidan ve serbest radikal çöpçüsü olduğu, askorbik asit, glutatyon ve E

vitamini gibi antioksidanların etkisini arttırdığı ve nöronlarda peroksidatif hasarın göstergesi olan lipofuskin birikimini azalttığı gösterilmiştir. (99)

Asetil L-karnitin, L-karnitinin kısa zincirli ester türevi olup vücutta en çok bulunan açilkarnitin türüdür. Asetil L-karnitin, L-karnitinin fizyolojik özelliklerini taşımasına ek olarak, içerdiği asetil grubu nedeniyle yüksek enerji metabolizması sırasında önemli bir asetil grubu vericisi olarak görev alır ve mitokondriyal işlevlerde önemli bir rol üstlenir. (100) . Asetil L-karnitin, yağ asidi oksidasyonu sırasında asetil KoA'nın mitokondriye girişini hızlandırır, beyinde asetilkolin sentezine katkıda bulunur. Ayrıca protein ve fosfolipid sentezini uyarır. Kısaca karnitin ve esterleri, yağ asitleri ve açil KoA'nın sitoplazmada ve mitokondride toksik birikimini engellemekte, mitokondriyumlara enerji üretimi için asetil-KoA sağlamaktadır. (94)

Asetil L-karnitin oluşumu sitoplazmik bir enzim olan tiokinaz ile başlar. Tiokinaz enzimi yağ asitleri, ATP ve KoA kullanılarak açil KoA sentezler. Açil KoA, karnitin ile karnitin palmitoil transferaz-I yolunda birleşerek açil karnitin oluşturulur. Bu bileşik özel sistemlerle mitokondriyal matrikse taşınır. İç mitokondriyal membrandan geçen her açil karnitin molekülü için bir karnitin dışarı atılır. İç mitokondriyal membrandaki palmitoil transferaz-II, açil karnitini karnitine çevirerek açil KoA'yı serbest bırakır. Son olarak, mitokondriyal matrikste bulunan karnitin asetil transferaz enzimi, karnitin ve asetil KoA'dan Asetil L-karnitin ve KoA üretir. (92)

Asetil L-karnitin, glutasyonu arttırıp, yağ asitlerinin peroksidasyonu ile son ürün olarak meydana gelen MDA'nın oranını düşürerek lipidler üzerinde

koruyucu etki yapar. (111) Ayrıca Asetil L- karnitinin ksantin oksidazı kısmen inhibe ettiği, buna bağlı olarak oksidatif hasarı engellediği gösterilmiştir. (101)

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)' nden sağlanan 200-250 gram ağırlığında, 48 adet Wistar Albino cinsi, dişi sıçanlar kullanıldı. Denekler, laboratuvar ortamında 3 gün süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde ve 20 ± 2 °C' lik sıcaklıkta tutuldular. Tüm deneklerin su ve besine serbest erişimi sağlandı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar 4 gruba ayrıldı.

Grup I (n=6) (Serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu):

	I.Uygulama (24 rat)		II.Uygulama (12 rat)		III.Uygulama (12 rat)	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
Kontrol	6	0	Tamamlandı		Tamamlandı	

0. dakikada: Hidrasyon sıvısı.

1., 2. ve 3. günlerde, 5mL/kg/doz serum fizyolojik (SF) günde bir defa intraperitoneal (İ.P.) uygulandı.

30. dakikada: Asetil L- Karnitin yerine plasebo SF uygulaması.

1., 2. ve 3. günlerde, SF içinde 10 mg/mL yoğunlukta çözülen Asetil L- Karnitin solüsyonu ile aynı hacimde 20 mL/kg SF plasebo olarak subcutan uygulandı.

	Asetil L-Karnitin yerine plasebo SF uygulanması
200 gram sıçan	4 mL SF subkutan uygulandı.
250 gram sıçan	5 mL SF subkutan uygulandı.

60. dakikada: Sisplatin yerine plasebo SF uygulaması

Sisplatin solüsyonu 0,5 mg/mL SF içinde hazırlandı. Sisplatin 13 mg/kg/doz bir saatte İ.P. uygulanacağı için plasebo uygulamada SF 1., 2. ve 3. günlerde 26 mL/kg bir saatte İ.P. olarak uygulandı.

	Sisplatin yerine plasebo SF uygulanması
200 gram sıçan	5,2 mL SF 1 saatte İ.P. uygulandı.
250 gram sıçan	6,5 mL SF 1 saatte İ.P. uygulandı.

Sisplatin uygulamasından sonra sıklıkla bulantı, kusma, ishal görüldüğü için bu yolla kaybedilen sıvının mutlaka yerine konması önerilmektedir (9, 94). Bu nedenle, çalışmada Sisplatinin neden olabileceği nefrotoksisiteyi önlemek amacıyla deneklerin deney süreci boyunca hidratizasyonları yapıldı. Sisplatin verilen gruplara başlangıç olarak uygulanan 5ml/kg/doz SF intraperitoneal (İ.P.) hidrasyon, aynı stres ortamını oluşturmak amacıyla Sisplatin verilmeyen gruplara da uygulandı.

Grup II (n= 6) (Asetil L-Karnitin uygulanan grup):

	I.Uygulama (24 rat)		II.Uygulama (12 rat)		III.Uygulama (12 rat)	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
Asetil L-Karnitin	6	0	Tamamlandı		Tamamlandı	

0. dakikada: Hidrasyon sıvısı.

1., 2. ve 3. günlerde, 5mL/kg/doz SF günde bir defa intraperitoneal (İ.P.) uygulandı.

30. dakikada: Asetil L- Karnitin uygulaması.

Asetil L- Karnitin SF içinde çözülerek 10 mg/mL yoğunlukta solüsyon olarak hazırlandı. Bu gruptaki sıçanlara 1., 2. ve 3. günlerde Asetil L- Karnitin 200mg/kg/doz subcutan uygulandı.

60. dakikada: Sisplatin yerine plasebo SF uygulaması.

Sisplatin solüsyonu 0,5 mg/mL SF içinde hazırlandı. Sisplatin 13 mg/kg/doz bir saatte İ.P. uygulanacağı için plasebo uygulamada SF 1., 2. ve 3. günlerde 26 mL/kg bir saatte İ.P. olarak uygulandı.

Grup III (n=18) (Sisplatin uygulanan grup):

	I.Uygulama (24 rat)		II.Uygulama (12 rat)		III.Uygulama (12 rat)	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
Sisplatin	1	5	2	4	6	0

0. dakikada: Hidrasyon sıvısı.

1., 2. ve 3. günlerde, 5mL/kg/doz SF günde bir defa intraperitoneal (İ.P.) uygulandı.

30. dakikada: Asetil L- Karnitin yerine plasebo SF uygulaması.

1., 2. ve 3. günlerde, SF içinde 10 mg/mL yoğunlukta çözölen Asetil L- Karnitin solösyonu ile aynı hacimde 20 mL/kg SF plasebo olarak subcutan uygulandı.

60. dakikada: Sisplatin uygulaması.

1. günde 0,5 mg/mL salin içinde hazırlanan Sisplatin solösyonu 13 mg/kg/doz bir saatte İ.P uygulandı. 2. ve 3. günlerde plasebo olarak SF 26 mL/kg İ.P uygulandı.

Grup IV (n=18) (Asetil L-Karnitin ve sonrasında Sisplatin uygulanan grup):

	I.Uygulama (24 rat)		II.Uygulama (12 rat)		III.Uygulama (12 rat)	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
Asetil L-Carnirin + Sisplatin	1	5	1	5	5	1

0. dakikada: Hidrasyon sıvısı.

1., 2. ve 3. günlerde, 5mL/kg/doz SF günde bir defa intraperitoneal (İ.P.) uygulandı.

30. dakikada: Asetil L- Karnitin uygulaması.

Asetil L- Karnitin SF içinde çözülerek 10 mg/mL yoğunlukta solüsyon olarak hazırlandı. Bu gruptaki sıçanlara 1., 2. ve 3. günlerde Asetil L- Karnitin 200mg/kg/doz subcutan uygulandı.

60. dakikada: Sisplatin uygulaması

1. günde 0,5 mg/mL salin içinde hazırlanan Sisplatin solüsyonu 13 mg/kg/doz bir saatte İ.P uygulandı. 2. ve 3. günlerde plasebo olarak SF 26 mL/kg İ.P uygulandı.

Sisplatin uygulamasından 72 saat sonra (4.gün) sıçanlar ketamin hidroklorid (40 mg/kg) ve ksilazin hidroklorid (5mg/kg) enjeksiyonu ile uyutularak ötenazileri gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası sıçanların overleri alındı. Işık mikroskopik incelemeleri içinde hayvanlardan alınan doku örnekleri %10'luk nötral formalinde 72 saat tespit edildi. Daha sonra alışıl gelmiş histolojik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı.

3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal boyamalar için 4 µm kalınlığında polilizinli lamlara alınan kesitler 37°C' deki etüvde bir gece tutuldu, daha sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C' ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat, sonrasında 61°C' de 20 dakika bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 20'şer dakika ksilol'e etkin bırakıldı. Daha sonra 10'ar dakika sırasıyla %100, %96,%90, %80 ve % 70'lik alkol serilerinden geçirildi.

Dehidrate edilen dokuları alkolden arındırmak için kesitler 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirildi. Daha sonra doku içerisinde formaldehit'in kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla, dokulara 1µ sitrat tamponu (pH 6.0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) ile mikrodalga fırında retriiver işlemi uygulandı. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki dokular 20 dakika dışarıda soğumaya bırakıldı. Daha sonra dokular sitrattan arındırılmak için 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirildi. Dokuların etrafı PAP-pen ile çevrilerek nemli ortam olan immünohistokimya barına dizildi. Dokular 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (Ph:7,4) ile yıkandı. Daha sonra, 15 dakika %3'lük hidrojen peroksit (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında PBS ile camlar yıkandı.

Yıkanan camlara 5 dakika UltraV block (Cat: TA-125-UB, Lot: AUB100129, Lab Vision, Thermo Scientific) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemden sonra dokular yıkanmadan primer antikör aşamasına geçildi.

Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, 1/100 oranında hazırlanan Cdc2p34 (Cat: sc-954, Lot: 12210), BMP-6 (Cat: ab15640, Lot: 962605), p-connexin 43 (Cat: sc-101660, Lot: H0310) primer antikörlerine etkin bırakılarak +4°C’de 1 gece inkübe edildi. Ertesi gün işlemlere devam edildi. Primer antikordan sonra camlar 3 kez 3’er dakika PBS ile yıkandı. Daha sonra 10 dakika biotinli sekonder antikör (Cat:TP-125-BN, Lot: PBN100121, Lab Vision, Thermo Scientific) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim (Cat: TS-125- HR, Lot: SHR100406, Lab Vision, Thermo Scientific) kompleksine etkin bırakıldı. İşlem sonunda dokular yine 3 kez 3’er dakika PBS ile yıkandı.

Son olarak ortama diaminobenzedin içeren (DAB) substratı (Cat: DABS-125, Lot: 90824B, Spring Bioscience) içeren kromojen DAB (Cat: DABC-004, Lot: 90428, Spring Bioscience) eklenerek yaklaşık 5-10 dakika bekletildi ve gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. Zemin boyası olarak Mayer’in hematoksilen’i kullanıldı.

DAB ile boyanan camlar azalan alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında 20 dakika ksilolde bekletilerek lamel entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında fotoğrafları çekilerek değerlendirildi.

3.3. İstatistiksel Yöntem

Deneyin başlangıç ve bitiş tarihlerinde tartılan ratların ağırlıkları arasındaki farklar Wilcoxon sıralı işaretler testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Ovaryumlardaki primordial follikül, unilaminar primer follikül, multilaminar primer folliküller sayılıp gruplar arasındaki farklar Kruskal Wallis testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan follikül değerleri için de ikili gruplar arasındaki fark Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. $p < 0.05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneyimizde I. uygulama için 24 sıçan kullanıldı. Sisplatin ve Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubundan 5'er sıçan deney sonlandırılmadan önce öldü. II. uygulama için 12 sıçan kullanıldı. Sisplatin grubunda 4, Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubunda 5 sıçan deney sonlandırılmadan önce öldü. III. uygulamada da 12 sıçan kullanıldı. Sisplatin grubunda ölü denek görülmedi ancak Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubunda 1 denek deney sonlandırılmadan önce öldü. Bu nedenle bulgular 28 denek üzerinden yorumlandı.

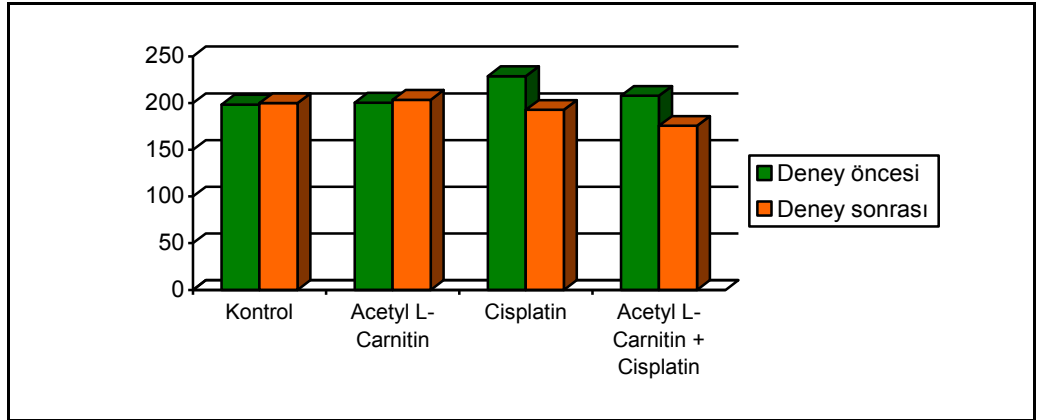
4.1. Vücut Ağırlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Yapılan değerlendirmelerde sıçanların deney öncesi ve deney sonrası ağırlık ortalamaları alındı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Yapılan değerlendirmede Kontrol grubu ve Asetil L-Karnitin grubu deneklerin deney süreci sonunda kilo aldığı, Sisplatin ve L-Karnitin+Sisplatin gruplarındaki deneklerin ise kilo kaybettiği belirlendi. Ancak Sisplatin grubundaki kilo kaybı Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubuna göre daha fazlaydı.

Deneyin başlangıç ve bitiş tarihlerinde tartılan sıçanların ağırlıkları arasındaki farklar Wilcoxon sıralı işaretler testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. $p < 0.05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Deney öncesi ağırlıklarına göre grupların ağırlık düzeyleri ortalamaları; kontrol grubu 198.50 ± 6.97 gr, Asetil L-Karnitin grubu 200.50 ± 4.72 gr, Sisplatin grubu 228.88 ± 14.39 gr, Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu 207.85 ± 13.84 gr olarak saptandı.

Deney sonrası ağırlıklarına göre grupların ağırlık düzeyleri ortalamaları; kontrol grubu 200.00 ± 6.35 gr, Asetil L-Karnitin grubu 203.50 ± 6.09 gr, Sisplatin grubu 192.77 ± 23.60 gr, Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu 175.71 ± 19.43 gr olarak saptandı.(Grafik 1)



Grafik 1. Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları

Kontrol grubunun deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. ($p= 0.357$)

Asetil L-Karnitin grubunun deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları karşılatırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. ($p=0.080$)

Sisplatin grubunun deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları karşılatırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi. ($p=0.008$)

Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubunun deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. (**p=0.018**) (Tablo 1)

Tablo 1. Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası ağırlıklarının istatistiksel farklılıkları (P< 0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve koyu karakterler ile vurgulanmıştır.) * Wilcoxon sıralı işaretler testi

		Ortalama	Standart sapma	Varyans	Minimum değer	Medyan	Maksimum değer	P*
Kontrol	İlk gün	198,50	6,97	48,70	194	196	212	0,357
	Son gün	200	6,35	40,40	194	198,5	212	
Asetil L-Karnitin	İlk gün	200,50	4,72	22,30	194	200	208	0,080
	Son gün	203,50	6,09	37,10	193	205	210	
Sisplatin	İlk gün	228,88	14,39	207,11	207	230	249	0,008
	Son gün	192,77	23,60	557,19	157	194	234	
Asetil L-Karnitin +Sisplatin	İlk gün	207,85	13,84	191,81	193	203	228	0,018
	Son gün	174,71	19,43	377,57	156	172	211	

Mann Whitney U Testi ile gruplar arası deney öncesi ve deney sonrası ağırlık farkları karşılaştırıldı. (Tablo 2)

Tablo 2. Gruplar arası deney öncesi ve deney sonrası ağırlık farklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması. (P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve koyu karakterler ile vurgulanmıştır.) * Mann Whitney U Testi

	Ağırlık Değişimleri	P*
Kontrol Asetil L-Karnitin	1,5 gr ↑	0,570
	3 gr ↑	
Kontrol Sisplatin	1,5 gr ↑	0,001
	36,11 gr ↓	
Kontrol Asetil L-Karnitin +Sisplatin	1,5 gr ↑	0,003
	32,14 gr ↓	
Asetil L-Karnitin Sisplatin	3 gr ↑	0,001
	36,11 gr ↓	
Asetil L-Karnitin Asetil L-Karnitin +Sisplatin	3 gr ↑	0,003
	32,14 gr ↓	
Sisplatin Asetil L-Karnitin +Sisplatin	36,11 gr ↓	0,958
	32,14 gr ↓	

↑ Artma
↓ Azalma

Kontrol grubu ile Asetil L-Karnitin grubu karşılaştırıldığında ortalama ağırlık değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.(P=0.570)

Kontrol grubu ile Sisplatin grubu karşılaştırıldığında ortalama ağırlık değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi.(P=0.001)

Kontrol grubu ile Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu karşılaştırıldığında ortalama ağırlık değişiminde istatistiksel olarak bir anlamlı azalma gözlendi.(P=0.003)

Asetil L-Karnitin grubu ile Sisplatin grubu karşılaştırıldığında ortalama ağırlık değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi.(P=0.001)

Asetil L-Karnitin grubu ile Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu karşılaştırıldığında ortalama ağırlık değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi.(P=0.003)

Sisplatin grubu ile Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu karşılaştırıldığında ortalama ağırlık değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.(P=0.958)

4.2. Primordial Follikül, Unilaminar ve Multilaminar Primer Follikül

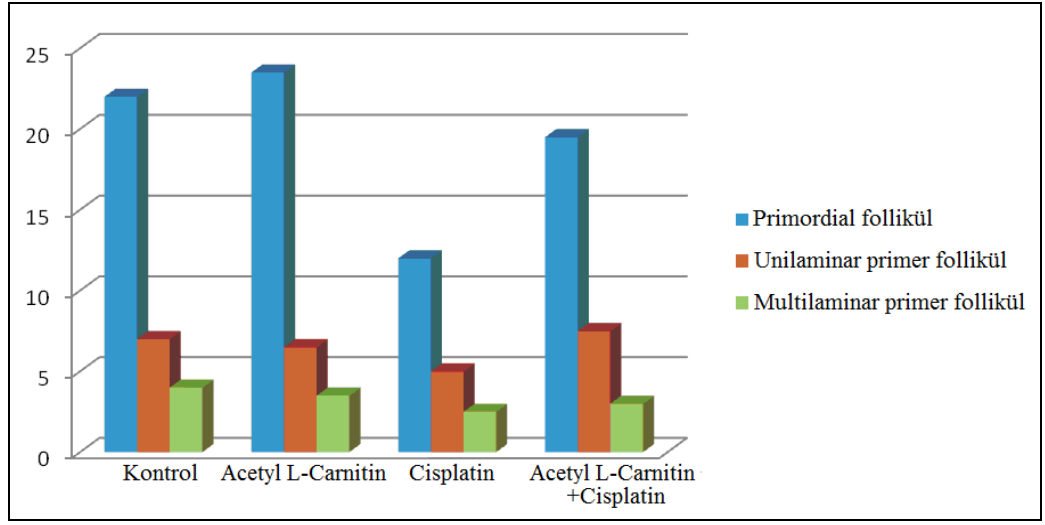
Sayılarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Yapılan deneylerden sonra her gruptaki deneklerden 6'şar kesit üzerinden primordial, unilaminar ve multilaminar folliküllerin sayımları yapılmıştır. Deney sonrası gruplara ait follikül sayılarının ortalamaları primordial follikül için; kontrol grubu 21,33±3,72, Asetil L-Karnitin grubu 24,16±7,25, Sisplatin grubu

12,83±5,15, Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu 19,33±2,16 olarak saptandı. Unilaminar primer follikül için; kontrol grubu 6,50±3,08, Asetil L-Karnitin grubu 6,00±3,03, Sisplatin grubu 5,00±2,36, Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu 7,66±2,33 olarak saptandı. Multilaminar primer follikül için; kontrol grubu 4,00±1,09, Asetil L-Karnitin grubu 3,50±1,87, Sisplatin grubu 2,66±1,63, Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu 3,16±0,98 olarak saptandı. (tablo 3, grafik 2)

Tablo 3. Gruplara ait ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri.

	ORT±SS			ORTANCA (Min/Max)		
	Primordial follikül	Unilaminar Primer follikül	Multilaminar Primer follikül	Primordial follikül	Unilaminar Primer follikül	Multilaminar Primer Follikül
Kontrol	21,33±3,72	6,50±3,08	4,00±1,09	22,00 (16,00/26,00)	7,00 (2,00/10,00)	4,00 (3,00/6,00)
Asetil L-Karnitin	24,16±7,25	6,00±3,03	3,50±1,87	23,50 (16,00/33,00)	6,50 (2,00/10,00)	3,50 (1,00/6,00)
Sisplatin	12,83±5,15	5,00±2,36	2,66±1,63	12,00 (8,00/21,00)	5,00 (2,00/8,00)	2,50 (1,00/5,00)
Asetil L-Karnitin +Sisplatin	19,33±2,16	7,66±2,33	3,16±0,98	19,50 (16,00/22,00)	7,50 (5,00/11,00)	3,00 (2,00/5,00)



Grafik 2. Gruplara ait primordial, unilaminar ve multilaminar follikül sayıları.

(Ortanca değere göre oluşturulmuştur.)

Dört gruba ait primordial, unilaminar ve multilaminar folikülleri arasında yapılan kıyaslamada Kruskal Wallis testine göre istatistiksel olarak sadece primordial foliküller arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. (tablo 4)

Tablo 4. Dört gruba ait primordial follikül, unilaminar ve multilaminar primer follikül sayılarının karşılaştırılması. ($P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve koyu karakterler ile vurgulanmıştır.) * Kruskal Wallis testi

	Primordial Follükül	Unilaminar Follükül	Multilaminar Follükül
P*	0,018	0,456	0,427

Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapılan ileri analizlerde grupların primordial folikülleri arasında ikili karşılaştırılması analiz edilmiştir (tablo 5).

Buna göre;

Kontrol grubu ile Asetil L-Karnitin grubu kıyaslandığında primordial follikül sayıları arasındaki fark anlamsız bulundu. (p=0,589),

Kontrol grubu ile Sisplatin grubu kıyaslandığında primordial follikül sayıları arasındaki fark anlamlı bulundu. Kontrol grubunda primordial follikül sayısı sisplatin grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,009),

Kontrol grubu ile Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu kıyaslandığında primordial follikül sayıları arasındaki fark anlamsız bulundu. (p=0,310)

Asetil L-Karnitin grubu ile Sisplatin grubu kıyaslandığında primordial follikül sayıları arasındaki fark anlamlı bulundu. Asetil L-Karnitin grubunda primordial follikül sayısı sisplatin grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,009),

Asetil L-Karnitin grubu ile Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu kıyaslandığında primordial follikül sayıları arasındaki fark anlamsız bulundu. (p=0,310)

Sisplatin grubu ile Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubu kıyaslandığında primordial follikül sayıları arasındaki fark anlamlı bulundu. Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubunda primordial follikül sayısı Sisplatin grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,041)

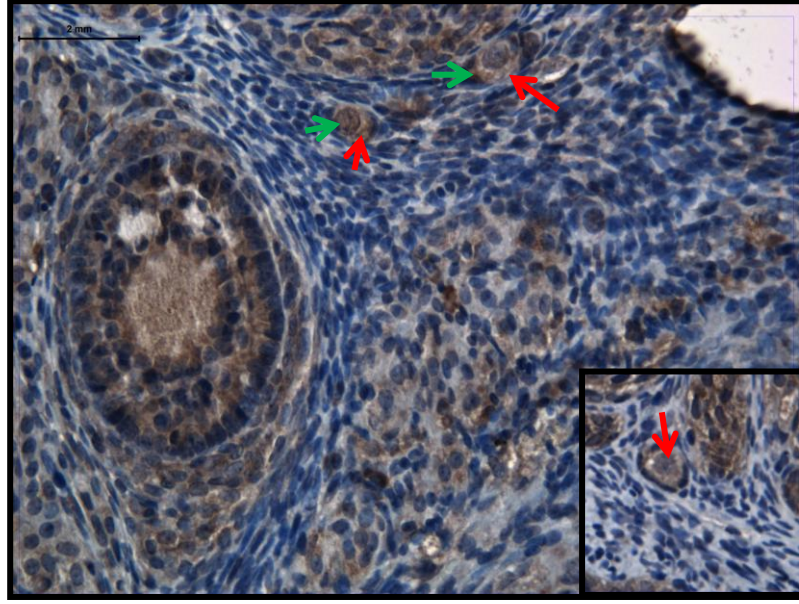
Tablo 5. Gruplar arası primordial follikül sayılarının istatistiksel olarak karşılaştırılması. (P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve koyu karakterler ile vurgulanmıştır.) * Mann Whitney U Testi

	P*
Kontrol Asetil L-Karnitin	p=0,589
Kontrol Sisplatin	p=0,009
Kontrol Asetil L-Karnitin +Sisplatin	p=0,310
Asetil L-Karnitin Sisplatin	p=0,009
Asetil L-Karnitin Asetil L-Karnitin +Sisplatin	p=0,310
Sisplatin Asetil L-Karnitin +Sisplatin	p=0,041

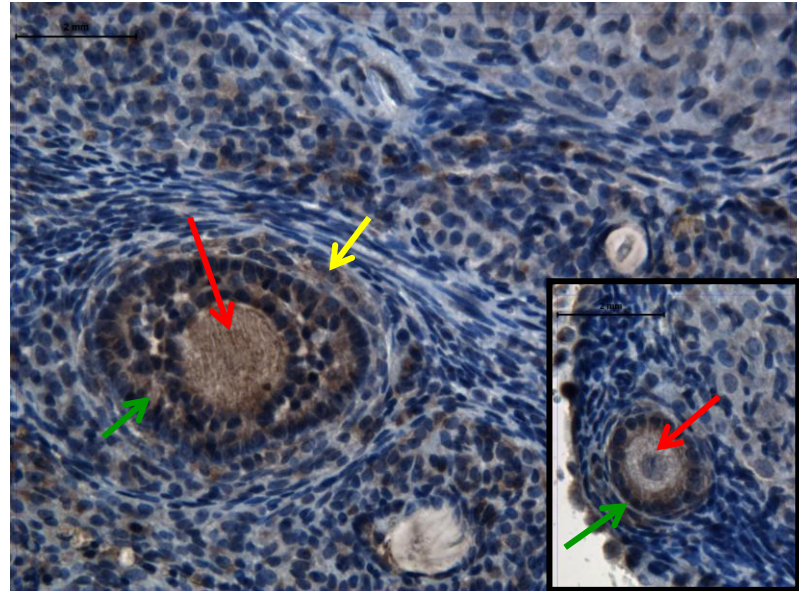
4.3. İmmünohistokimyasal bulgular

BMP-6;

Kontrol grubunda BMP-6, primordial ve primer folliküller yer alan oositlerde kuvvetli tutulum gösterdi. Ayrıca primordial folliküllerin follikül hücrelerinde immünişaretleme gözlenmezken unilaminar ve multilaminar primer follikülde, follikül hücrelerinde ve teka internada (sarı ok) BMP-6 ekspresyonu pozitif olarak belirlendi. (Resim:1-2)

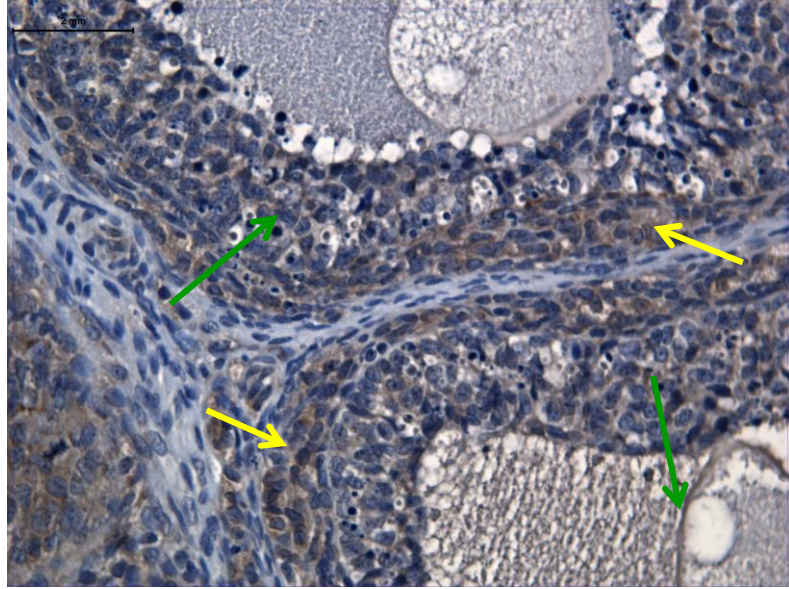


Resim 1. Kontrol grubunda BMP-6 ekspresyonu; Primordial follüküllerde yer alan primer oositlerde (kırmızı oklar) BMP-6 ekspresyonu yoğun olarak belirlenirken follükül hücrelerinde immün tutulum gözlenmedi (yeşil oklar).

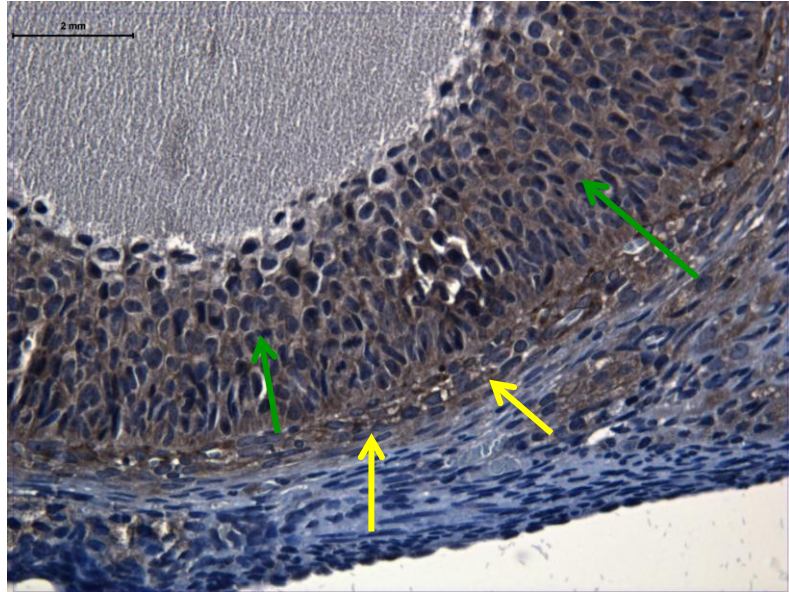


Resim 2. Kontrol grubunda BMP-6 ekspresyonu; Unilaminar ve multilaminar primer follüküldeki primer oosit (kırmızı ok) follükül hücreleri (yeşil ok) ve teka interna hücreleri (sarı ok) pozitif olarak belirlendi.

Sekonder ve tersiyer follikülde granüloza hücrelerinde zayıf tutulum, teka interna hücrelerinde kuvvetli tutulum belirlendi. (Resim 3,4)

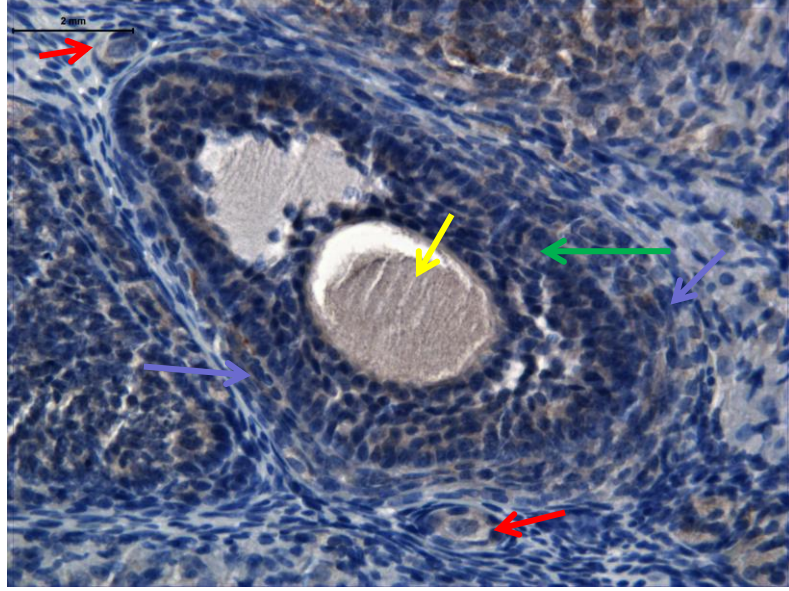


Resim 3. Kontrol grubunda BMP-6 ekspresyonu; Sekonder follikülde granüloza hücrelerinde (yeşil oklar) zayıf tutulum, teka interna hücrelerinde (sarı oklar) kuvvetli tutulum belirlendi.

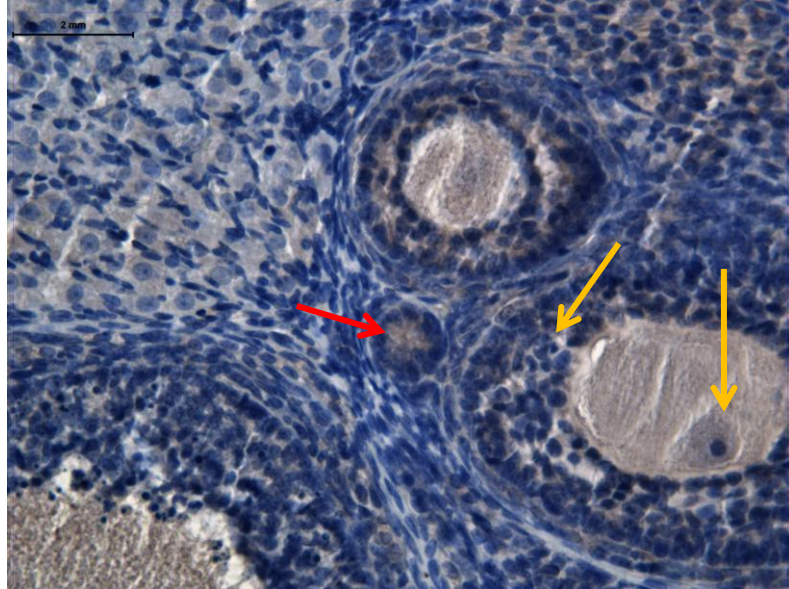


Resim 4. Tersiyer follikülün granüloza hücrelerinde (yeşil oklar) ve teka interna hücrelerinde (sarı oklar) kuvvetli tutulum saptandı.

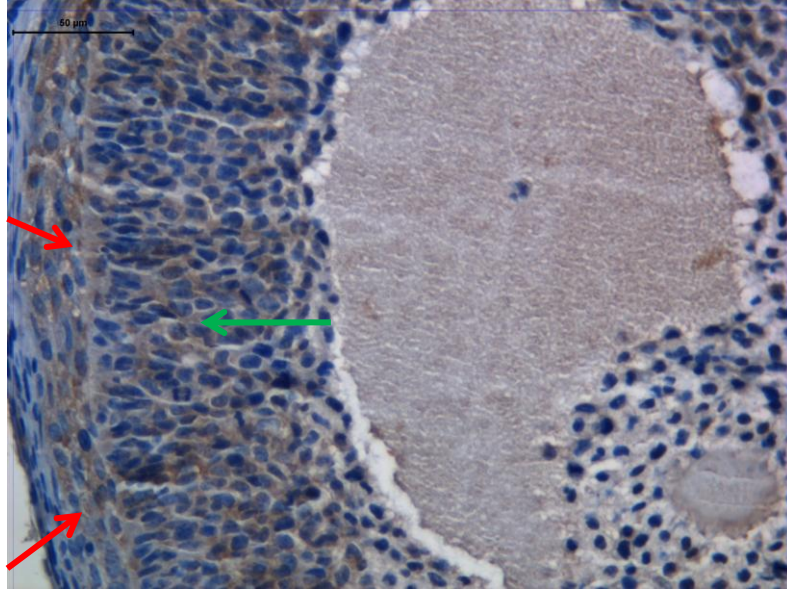
Asetil L-karnitin grubunda bulgular kontrol grubu bulguları ile eş değeri (Resim: 5-7).



Resim 5. Asetil L-karnitin grubunda BMP-6; Primordial follükülde (kırmızı ok) ve sekonder follükülde (sarı ok) oositlerde ve follükül hücrelerinde (yeşil oklar) ve teka interna hücrelerinde (mor oklar) pozitif tutulum gözlemlendi.



Resim 6. Asetil L-karnitin grubunda BMP-6; Unilaminar follüküllerde (kırmızı ok) ve multilaminar follüküllerde (turuncu oklar) hem oosit hem de follükül hücreleri zayıf pozitif tutulum göstermekteydi.



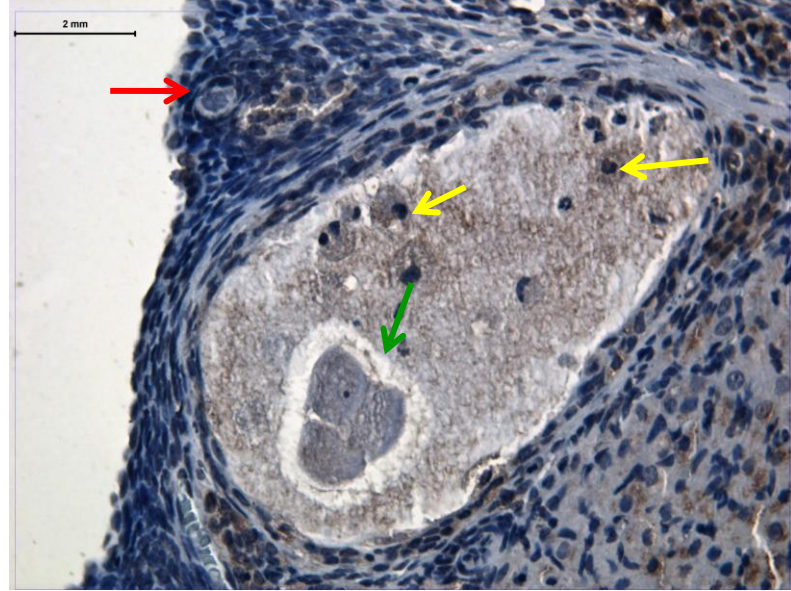
Resim 7. Asetil L-karnitin grubunda BMP-6; L-karnitin grubunda tersiyer follikülün granuloza hücrelerinde (yeşil oklar) ve teka interna hücrelerinde (kırmızı oklar) pozitif tutulum

Sisplatin grubunda, primordial ve primer folliküllerde oosit ve follikül hücrelerinde negatif tutulum gözlemlendi (Resim 8). Bu grupta gelişen folliküllerin çevresindeki teka interna hücreleri negatifti. Ayrıca gelişen folliküllerin bir grubunda follikül hücrelerinin tipik tabakalanması kaybolmuş follikül lümeninde hücresel debrisler (*) oluşmuştu. (Resim 9)

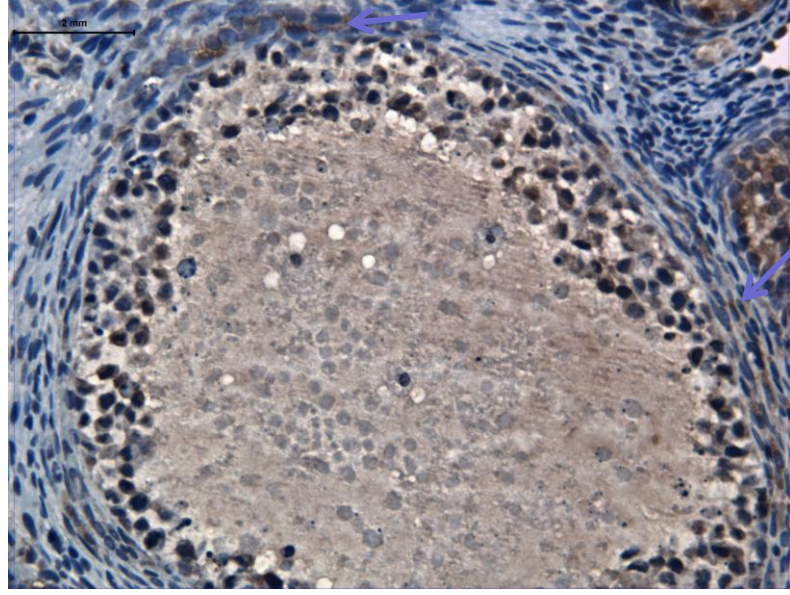
Tersiyer follikülde ise granuloza hücrelerinde desquamasyon belirgin olarak gözlenmekteydi (Resim 10)



Resim 8. Sispaltin grubunda BMP-6; primordial follüküllerde oosit ve follükül hücrelerinde (kırmızı oklar) ve multilaminar primer follüküllerde ise oosit follükül hücreleri (sarı ok) ve teka interna hücrelerinde (mor ok) negatif tutulum göstermekteydi.

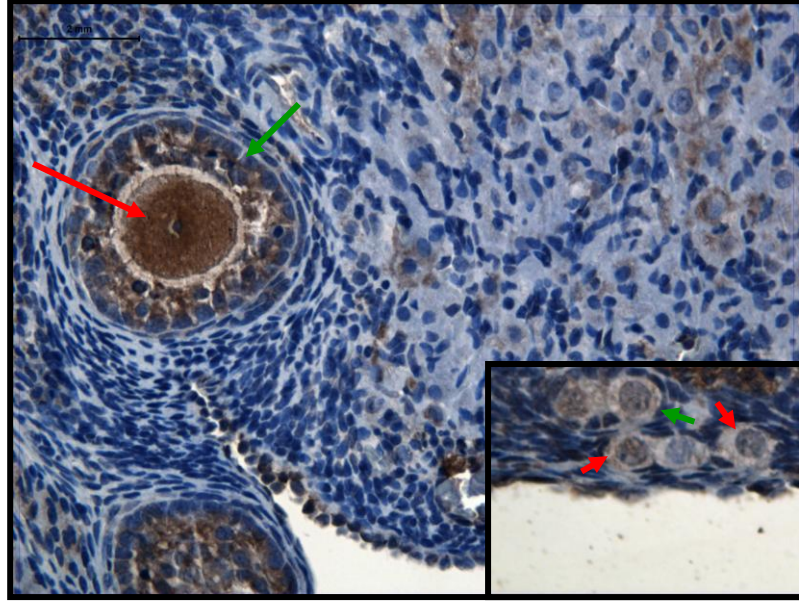


Resim 9. Sispaltin grubunda BMP-6; primordial follüküllerde oosit ve follükül hücrelerinde negatif tutulum belirlenirken (kırmızı oklar), sekonder follüküllerde ise oosit tutulumu yoktu. (yeşil ok) follükül hcreleri ise antruma dökülmüş olarak hücresel debrisler halinde gözlendi (sarı oklar)

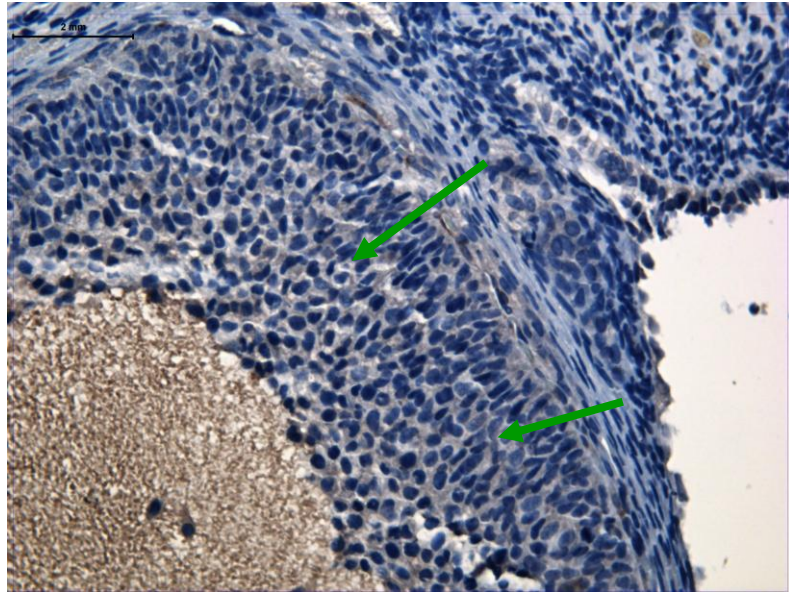


Resim 10. Sisplatin grubunda BMP-6; Tersiyer follükülde granüloza hücrelerinde desquamasyon belirgin olarak gözlenirken follükül çevresindeki az sayıda teka interna hücresi (mor oklar) pozitif reaksiyon göstermekteydi. Hücreler BMP-6 negatifti.

Asetil L-karnitin+ Sisplatin grubunda BMP-6 ekspresyonu primordial follüküllerdeki oositler de pozitif tutulum gösterirken follükül hücreleri negatifti. multilaminar follüküllerde oosit ve granüloza hücreleri pozitif. (Resim 11, 12)



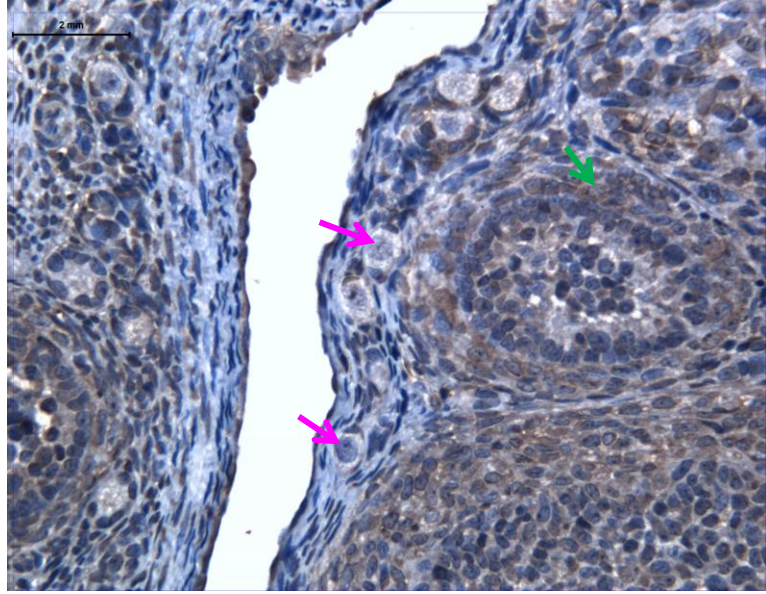
Resim 11. Asetil L-Karnitin+ Sisplatin grubunda BMP-6 ekspresyonu: [küçük resim] primordial follüküllerde oositler (kırmızı ok) pozitif tutulum gösterirken follükül hücreleri (yeşil ok) negatif reaksiyon gösterdi. [büyük resim] multilaminar follüküllerde oosit (kırmızı ok) ve follükül hücreleri (yeşil ok) pozitifliği.



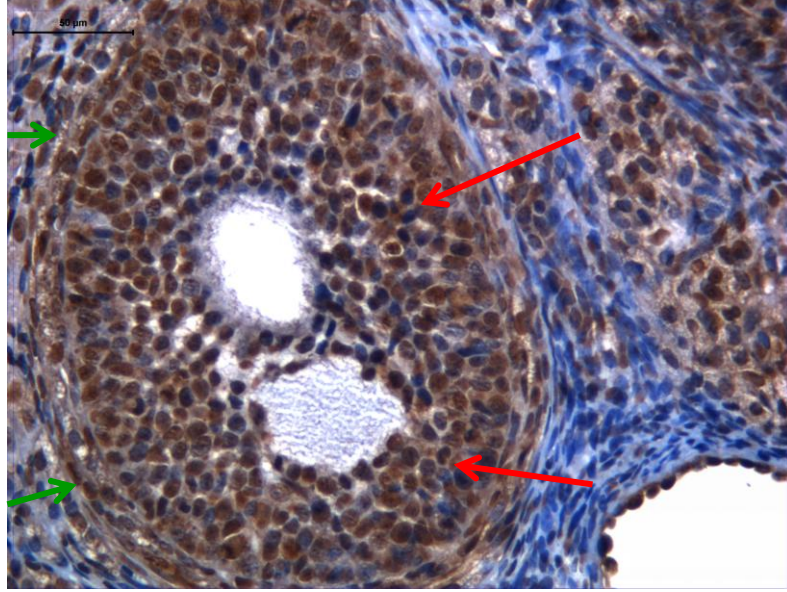
Resim 12. Asetil L-Karnitin+ Sisplatin grubunda BMP-6 ekspresyonu: tersiyer follükülde BMP-6 negatif granüloza hücreleri (yeşil oklar)

Konnexin 43;

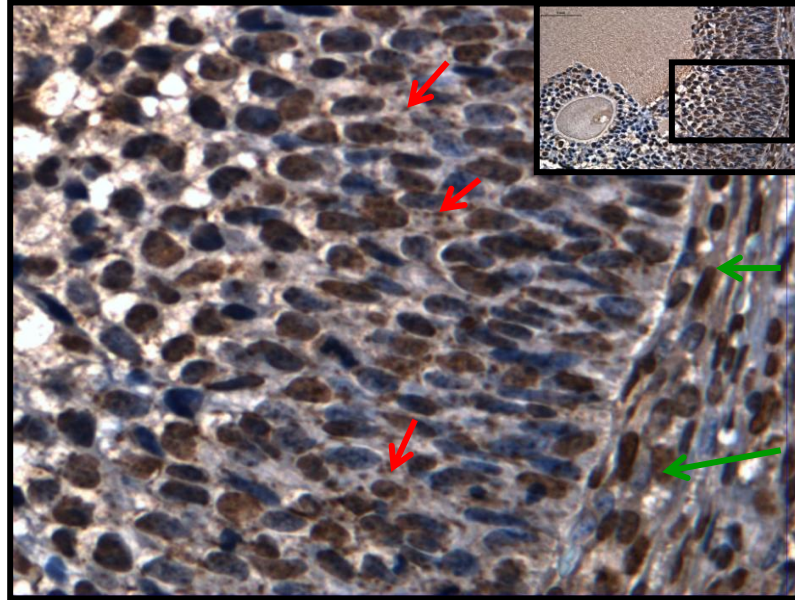
Kontrol grubunda primordial folliküllerde konneksin 43 ifadenmesi yoktu. Primer ve sekonder folliküllerde follikül hücreleri arasında tutulum gözlemlendi. (Resim: 13) Tersiyer follikülde ise granuloza hücrelerinde rozet yada plak tarzında ifadelenirken aynı zamanda çok sayıda granuloza hücre çekirdeğinde konneksin 43 mRNA ifadenmesi olarak ortaya çıktı .Ayrıca bu gruptaki sekonder ve tersiyer follikülleri çevreleyen teka interna hücrelerinin büyük bir grubu pozitif. (Resim: 14, 15)



Resim 13. Kontrol grubunda; Primordial (pembe oklar) folliküllerde konneksin 43 ifadenmesi yoktu. Primer folliküllerde follikül hücreleri arasında (yeşil ok) tutulum gözlemlendi.

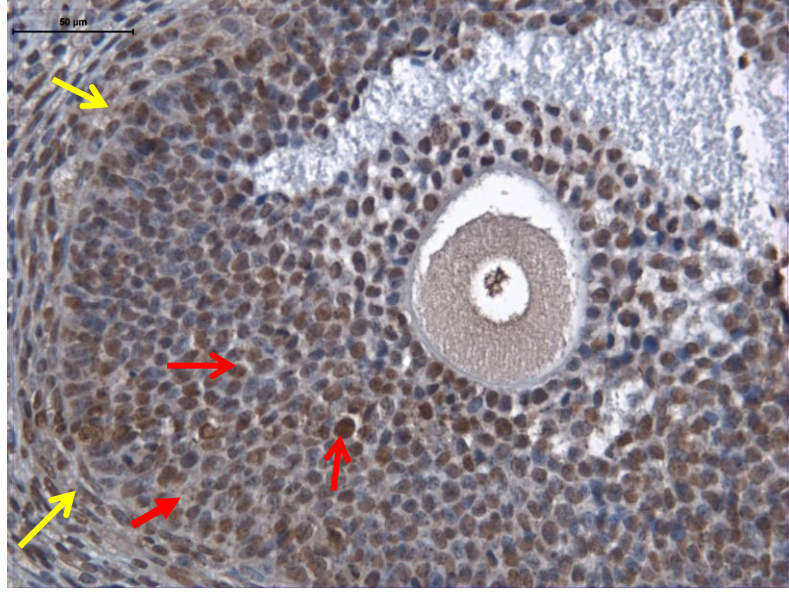


Resim 14. Kontrol grubunda; Sekonder follüküllerde konneksin 43 ifadelenmesi granüloza hücrelerinde (kırmızı oklar) ve teka interna hücrelerinde (yeşil oklar) pozitif

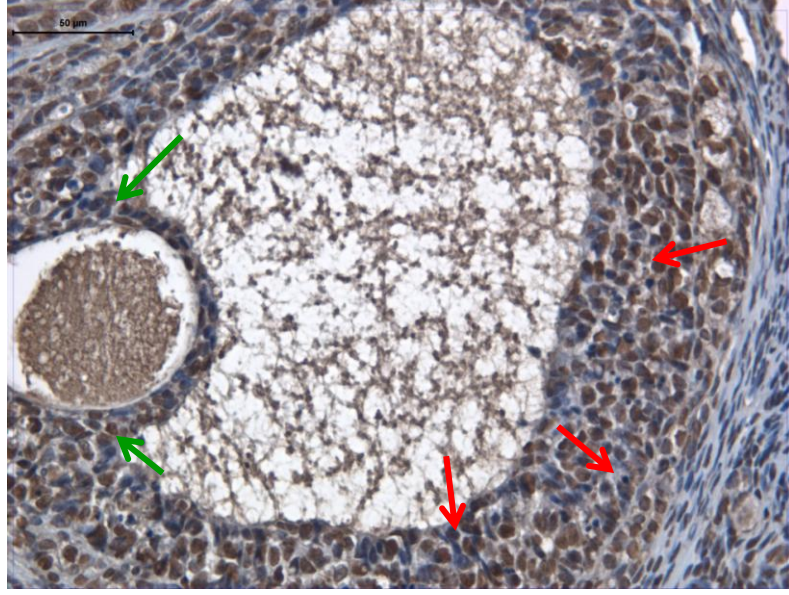


Resim 15. Kontrol grubunda konneksin 43 dağılımı; Tersiyer follükül granüloza hücrelerinin bağlantı yerlerinde rozet ya da plak tarzında tutulum (kırmızı oklar), granüloza hücre çekirdeklerinde ve teka interna hücrelerinde pozitif tutulum (yeşil oklar)

Asetil L-Kartinin grubunda ise konneksin 43 tutulumu geç sekonder folliküllerde ve tersiyer folliküllerde çok sayıda follikül hücrelerinde ve teka interna hücrelerinde pozitif tutulum belirlenirken aynı zamanda kumulus hücrelerinde de pozitif tutulum gözlendi. (Resim: 16, 17)

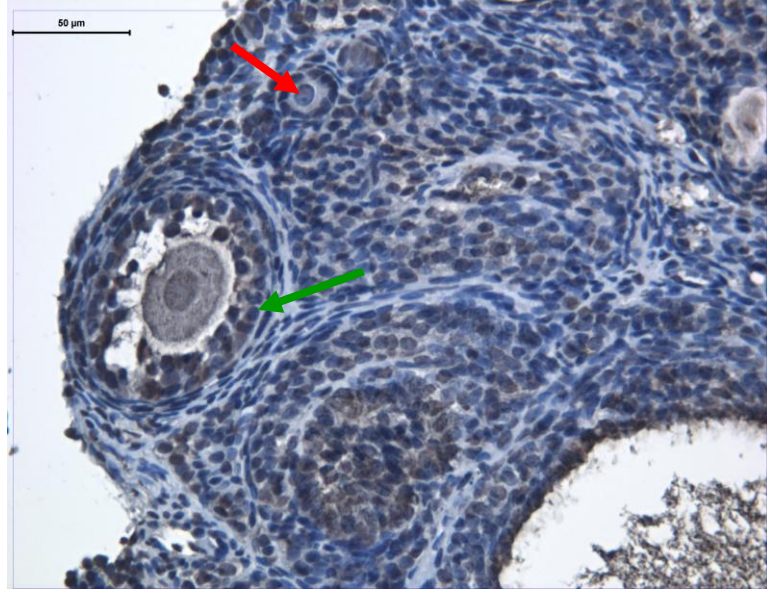


Resim 16. Asetil L-cartinin grubunda konneksin 43 tutulumu; geç sekonder folliküllerde granüloza hücrelerinde (kırmızı oklar) ve teka interna hücrelerinde pozitif tutulum

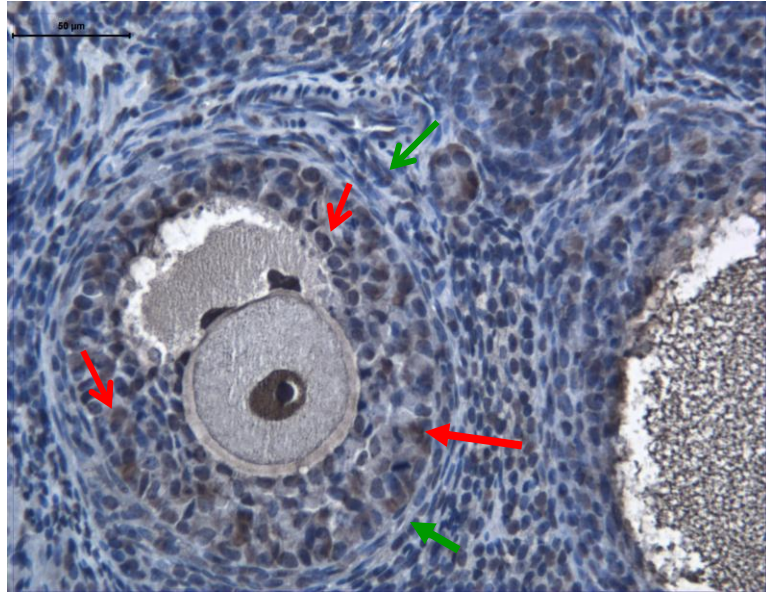


Resim 17. Asetil L-Kartinin grubunda konneksin 43 tutulumu; tersiyer folliküllerde çok sayıda follikül hücrelerinde (kırmızı oklar) ve kumulus hücrelerinde (yeşil oklar)

Sisplatin grubunda konneksin 43 primordial ve primer folliküllerde negatifken, sekonder follikülde bazı granuloza hücrelerinde pozitif, teka interna hücrelerinde ise negatifti tutulum saptanmadı. (Resim 18, 19)

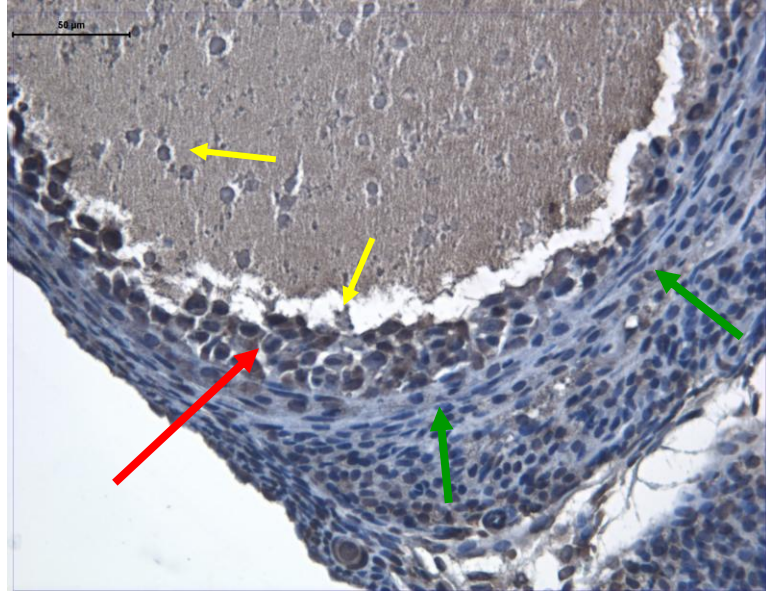


Resim 18. Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; Primordial (kırmızı ok), multilaminar primer folliküllerde (yeşil ok) konneksin 43 işaretlenmesi gözlenmedi.



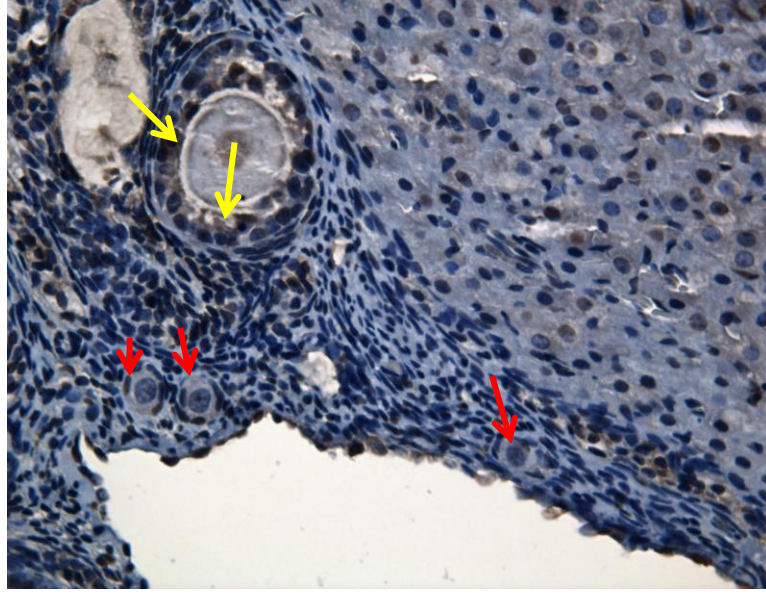
Resim 19. Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; Sekonder follikülde bazı granüloza hücrelerinde (kırmızı oklar) konneksin 43 pozitifken, teka interna hücrelerinde (yeşil oklar) tutulum saptanmadı.

Sisplatin grubunda tersiyer follikülde granüloza hücrelerinde ve teka interna hücrelerinde tutulum saptanmadı. Ayrıca bu grupta tersiyer folliküllerde follikül duvarında yıkım lümende hücrel debrisler gözlemlendi. (Resim 20)

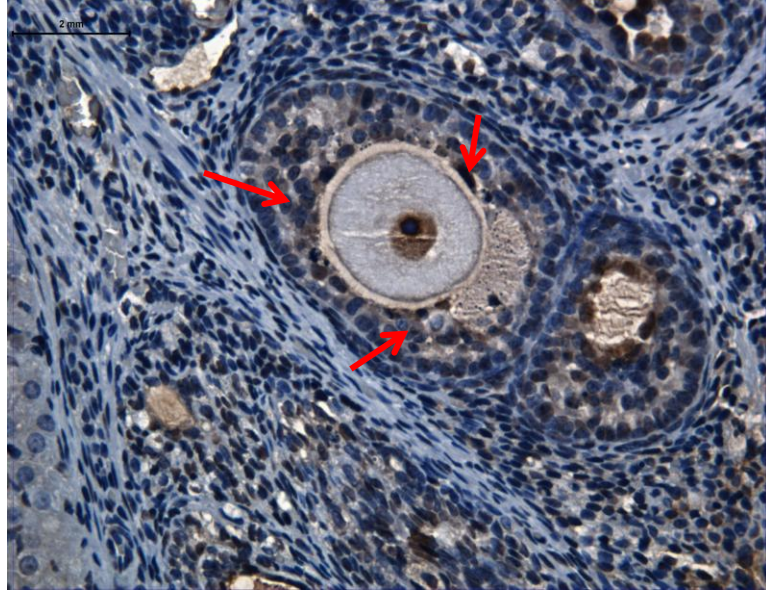


Resim 20. Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; Tersiyer follikülde granüloza hücrelerinde (kırmızı ok) ve teka interna hücrelerinde (yeşil oklar) tutulum saptanmadı. Ayrıca bu grupta tersiyer folliküllerde follikül duvarında yıkım lümende hücrel debrisler (sarı oklar) gözlemlendi.

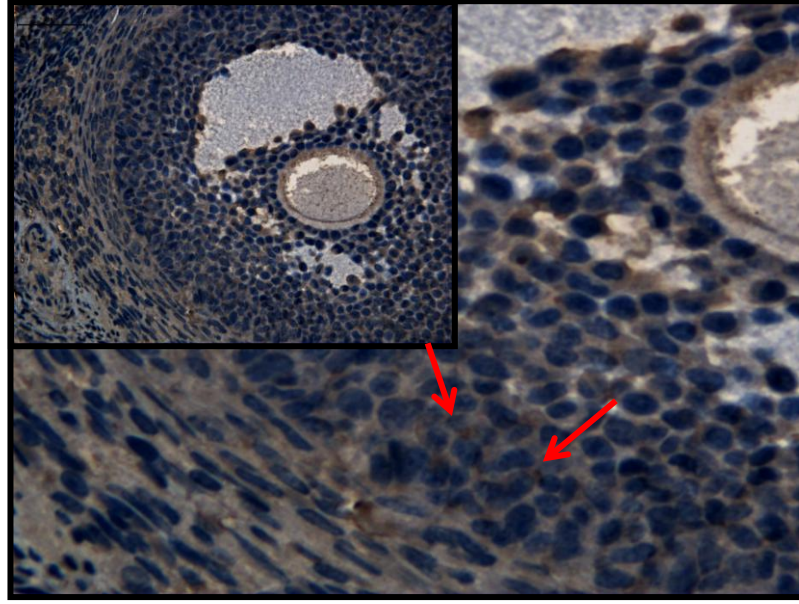
Asetil L-karnitin+ Sisplatin grubunda konneksin 43 primordial folliküllerde negatifken primer folliküllerde granüloza hücrelerinin bazıları konneksin 43 pozitif (Resim 21) Bu grupta, sekonder follikülde granüloza hücrelerinin bazıları konneksin 43 pozitif (Resim 22) Erken tersiyer follikülde granüloza hücreleri arasında çok az sayıda rozet yada plak şeklinde işaretlenme vardı. Bu gruptaki gelişen folliküllerdeki teka interna hücreleri de negatif. (Resim 23)



Resim 21. Asetil L-karnitin+ Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; primordial follükülde (kırmızı ok) tutulum göstermezken, primer follükülde granüloza hücrelerinin (sarı oklar) bazıları konneksin 43 pozitifiti.



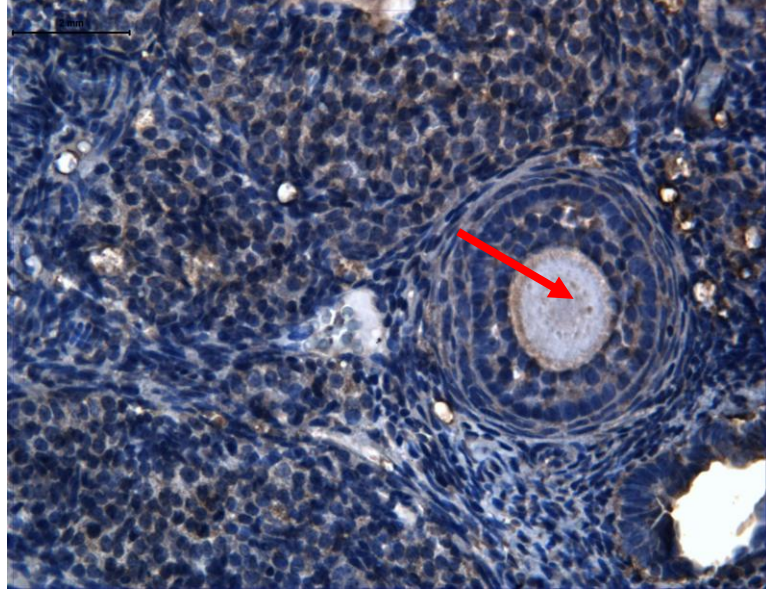
Resim 22. Asetil L-karnitin+ Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; sekonder follükülde granüloza hücrelerinin (kırmızı oklar) bazıları konneksin 43 pozitifiti.



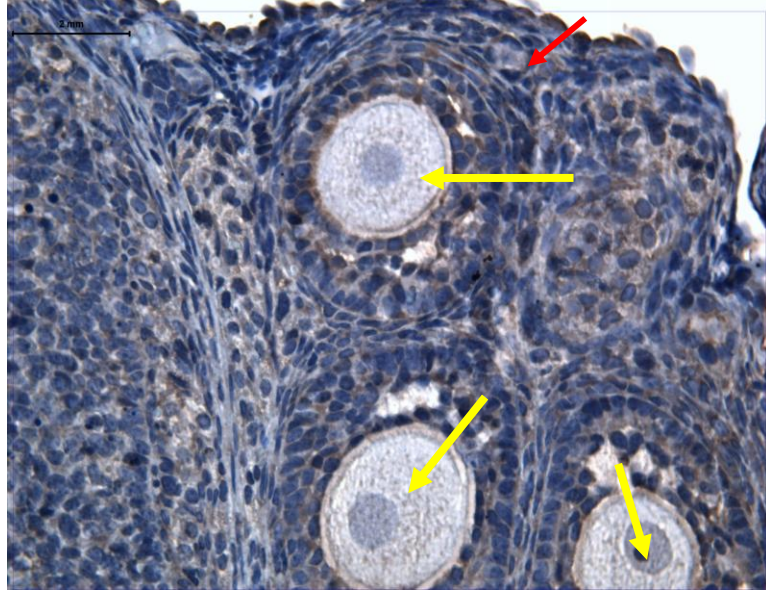
Resim 23. Asetil L-karnitin +Sisplatin grubunda konneksin 43 tutulumu; erken tersiyer follikülde granülosa hücreleri arasında (kırmızı oklar) çok az sayıda rozet ya da plak şeklinde işaretlenme gözlemlendi.

P34cdc2;

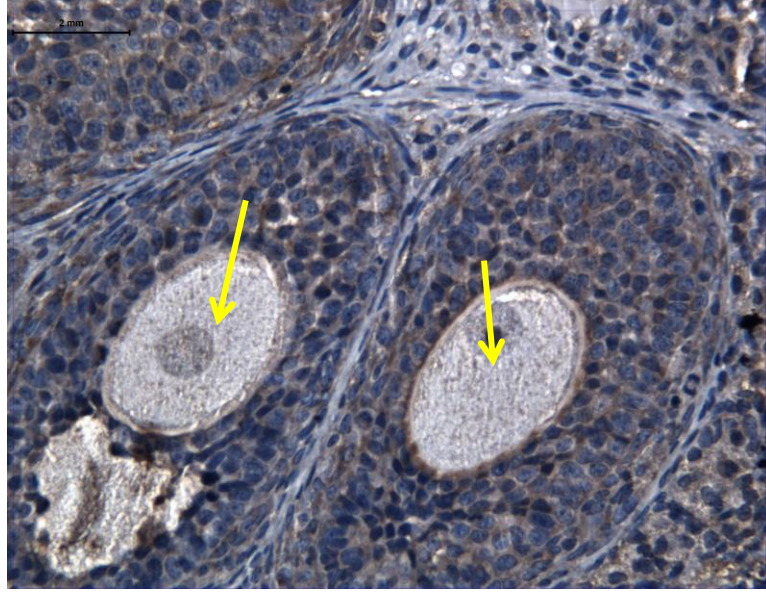
Kontrol grubunda primordial, uni ve multilaminar folliküllerde ve sekonder folliküllerde yer alan oositlerde p34cdc2 tutulumu negatifti. Diğer tüm gruplarda bu bulgular eşdeğerdi (Resim 24, 25, 26, 27)



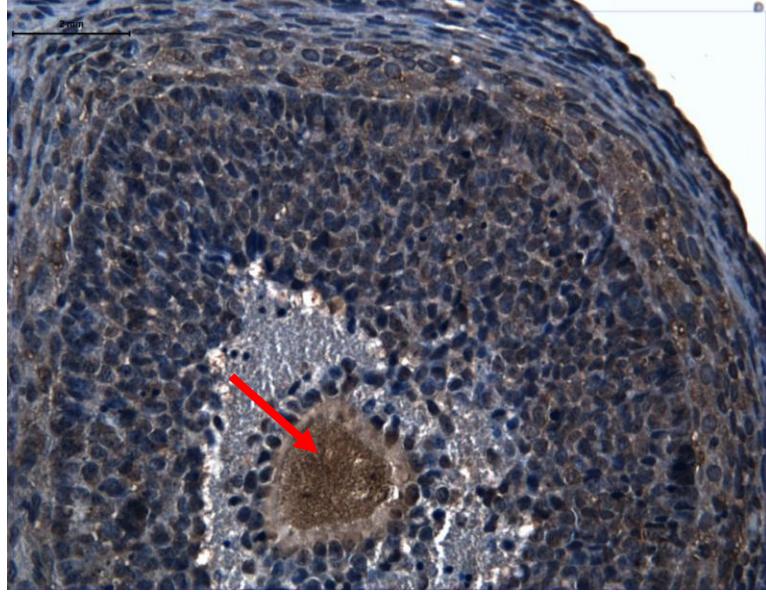
Resim 24. Kontrol grubunda p43 cdc2 tutulumu; Multilaminar primer follikülde yer alan oositte (kırmızı ok) negatif tutulum



Resim 25. Kontrol grubunda p34cdc2 tutulumu; primordial (kırmızı ok) ve erken antral folliküllerde (sarı oklar) yer alan oositlerde negatif tutulum

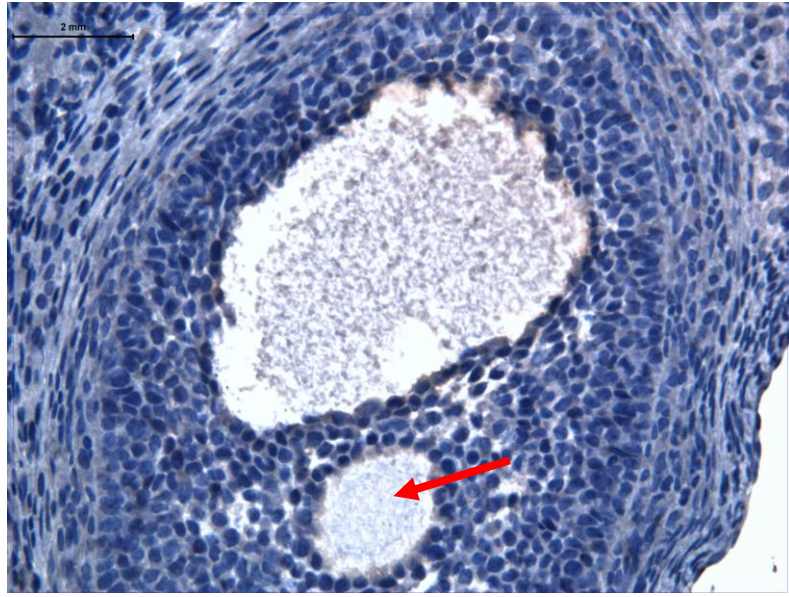


Resim 26. Kontrol grubunda p43 cdc2 tutulumu; antral follüküllerde (sarı oklar) yer alan oositlerde negatif tutulum

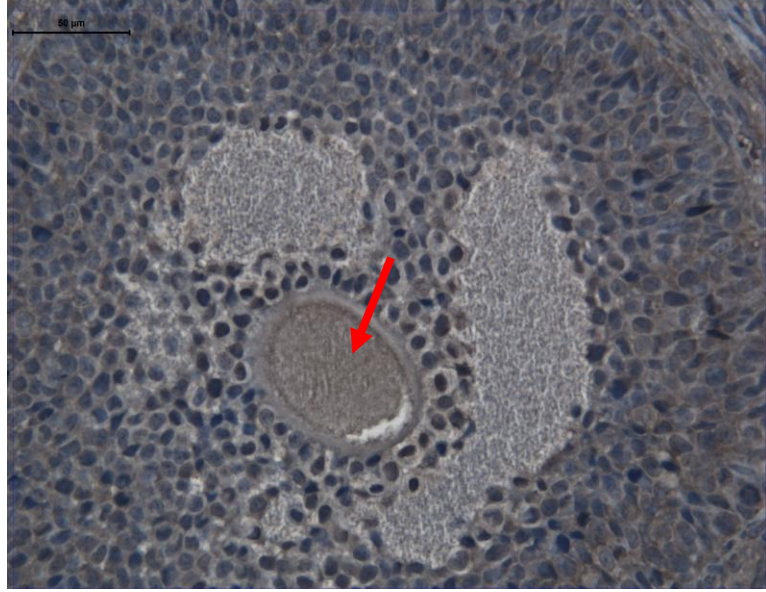


Resim 27. Kontrol grubunda p43 cdc2 tutulumu; I. Mayoz bölünmeye yaklaşan erken tersiyer follükülde yer alan oositte (kırmızı ok) kuvvetli p34cdc2 tutulumu

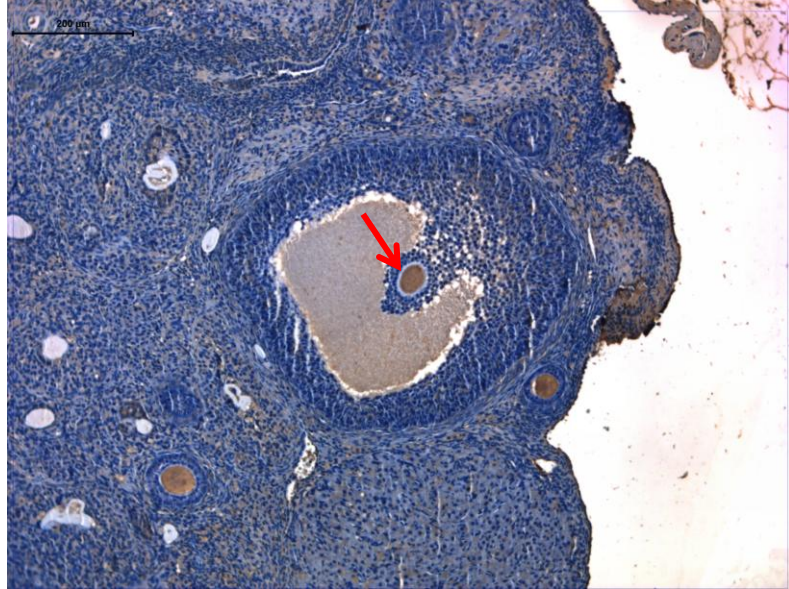
Ancak kontrol grubu, yalın Asetil L-Karnitin grubu ve Asetil L-Karnitin Sisplatin+ grubunda tersiyer folliküllerde yer alan oositlerde p34 cdc2 tutulumu pozitif olarak belirlenirken Sisplatin grubunda tersiyer follikülde yer alan oosit immün tutulum göstermedi.(Resim 28, 29, 30)



Resim 28. Sisplatin grubunda erken tersiyerde follikülde negatif oosit (kırmızı ok) tutulumu



Resim 29. Asetil L-karnitin grubunda erken tersiyer follikülde pozitif oosit (kırmızı ok) tutulumu.



Resim 30. Asetil L-Karnitin +Sisplatin grubunda erken tersiyer follikülde pozitif oosit (kırmızı ok) tutulumu.

5. TARTIŞMA

Her yıl, kansere yakalanan birçok kadın hasta sitotoksik kemoterapilerle ve/ veya radyoterapiyle başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Ancak bu hastaların çoğu tedavi sonrası tedavide kullanılan ajanların toksik etkilerine bağlı olarak infertilite ve gonadal yetmezlik sorunu yaşamaktadır. Şimdilerde bu hastalar üreme yeteneklerini korumak için toksik tedaviler öncesinde yardımcı üreme yöntemlerine başvurmaktadır. Embriyo dondurulması kullanılan yöntemlerden biridir, oosit ve ovaryum dokusu dondurma teknikleri de araştırılmaktadır. Bu yöntemlerin dışında da başka ajanların kemoterapiyle birlikte uygulanması ile toksik etkilerin önlenmesi amaçlanmıştır. (102, 103)

Günümüzde bu amaçla kullanılan alternatif tedavilerden biri antioksidanlardır. Antioksidanlar, serbest oksijen radikal hasarını önleyici/azaltıcı etkiye sahiptirler. Kullanılan başlıca antioksidan ajanlar ise; selenyum, vitamin C, vitamin E, L- karnitin, melatonindir. (16, 17)

Sisplatin toksisitesine karşı koruyucu amaçlı çok sayıda ajan kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında deneklerin deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları değerlendirilmiştir. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tioproninin sisplatin nefrotoksitesine yönelik koruyucu etkileri araştırılırken sisplatine bağlı olarak ratlarda kilo kaybı gözlenmiş ama tiopronin bu etkiyi önleyememiştir. (104)

Yine sisplatin toksisitesine karşı kannabinoidlerin etkisinin araştırıldığı ratlarla yapılan bir çalışmada sisplatine bağlı kilo kaybı gözlenmiş ancak bu kannabinoidlerle önlenememiştir. (105)

Song ve arkadaşları sisplatinin kronik gastrointestinal motilite geciktirici etkisine karşı düşük molekül ağırlıklı fucoidan (LMF) kullanmışlardır. Deneklerin vücut ağırlıklarına bakıldığında sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı kilo kaybı gözlenmiş ve LMF uygulamasıyla bu kilo kaybının da önlendiği tesbit edilmiştir. (106)

Shimeda ve arkadaşları, sıçanlarda sisplatine bağlı nefrotoksisiteyi önlemede bir antioksidan ajan olan kapsaisinin etkinliğini araştırmışlardır. sisplatin uygulanan grubun kilo kaybının sisplatin+kapsaisin ve sadece kapsaisin uygulanan gruplardan daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. (107)

Bu çalışmada, tüm gruplardaki ratların deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları ölçülerek ortalamaları alınmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; Kontrol ve Asetil L-Karnitin grubunda iyi hidratize edilen ratların deney sonrasında kilo aldığı, Sisplatin ve L-Karnitin+Sisplatin gruplarındaki ratların ise deney öncesine göre kilo kaybettiği belirlendi. Ancak sisplatin grubundaki kilo kaybı Asetil L-Karnitin+Sisplatin grubuna göre daha fazlaydı. Bu bulgular literatürü destekler nitelikteydi.

Oktem ve arkadaşları kemoterapi alan ve almayan hastalarda ovaryum rezervini değerlendirmişler. Kemoterapi alan hastaların almayan hastalara göre primordial follikül sayılarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğunu saptamışlardır. Ayrıca kemoterapatiklerden alkilleyici ajanlarla tedavi edilen hastaların da alkilleyici olmayan ajanlarla tedavi edilen hastalara göre primordial follikül sayıları istatistiksel anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır. (108)

Yeh ve arkadaşları ratlarda ovaryumların sisplatinine bağılı hasarlanmasına karşı gonadotropin stimölasyonunun etkisini incelemişler. Bu çalışmada sisplatin uygulanan grupta kontrol grubuna göre primer ve antral follikülerde anlamlı azalma olmadığı, preantral follikülerde ise anlamlı azalma olduğunu gözlenmişlerdir. (109)

Ozelik ve arkadaşları ratlarda GnRH hormon agonistinin paklitaksel ve sisplatine bağılı gelişen ovaryum toksisitesine karşı koruyucu etkisini incelemişler. Kontrol grubuna göre tek başına sisplatin uygulanan grupta ve sisplatinle birlikte GnRH agonisti uygulanan grupta primordial, primer, sekonder ve tersiyer follikül sayılarında anlamlı azalma gözlenmiş. (110)

Li ve arkadaşları ratlarda sisplatine bağılı gelişen ovaryum toksisitesinde GnRH agonist ve antogonist kombinasyonunun primordial folliküller üzerinde koruyucu etkilerini göstermişler. Yapılan çalışmada sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre primordial, gelişen ve olgun folliküllerde anlamlı azalma gözlenmiş. (8)

Türkyılmaz ve arkadaşları ratlarda paklitaksel ve sisplatinin ovaryum rezervi üzerine etkilerini araştırmış. Sisplatin uygulanan grupta primordial, primer ve sekonder folliküllerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma belirlemişlerdir. (111)

Yücebilgin ve arkadaşları genç dişi ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada ratlara paklitaksel ve cisplatin uygulayarak primordial follikül rezervi üzerine olan etkilerine bakmışlar. Paklitaksel ve sisplatin uygulanan gruplarda kontrol grubuna

göre primordial follikül sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlenmiştir. (112)

Bu çalışmada ise Sisplatin grubunda Kontrol, Asetil L-Karnitin ve Asetil L-Karnitin+Sisplatin gruplarına göre primordial follikül sayılarında azalma saptandı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ortaya çıkan bu sonuç yapılan diğer çalışmalardaki sisplatinin ovaryum rezervi üzerine olan etkilerini destekler nitelikteydi. Asetil L-Karnitin+ Sisplatin uygulanan grupta, Sisplatin grubuna göre primordial follikül sayısının anlamlı olarak yüksek olması da bir antioksidan ajan olan Asetil L-karnitinin ovaryum rezervini sisplatin toksisitesine karşı koruduğu şeklinde yorumlandı.

TGF- β sinyal proteinlerinden oluşan büyük bir protein ailesidir. ovaryumu da kapsayan çok sayıda organ sistemlerinde hücre proliferasyonu ve diferensiasyonu sağlar. Bu ailenin üyelerinden biri olan BMP-6 ovaryumda follikülogenez ile ilgilidir. (113)

Zhu ve arkadaşları keçi folliküllerinden topladıkları granüloza hücrelerinde BMP lerin etkilerini araştırmışlar. BMP-6 uygulanan granüloza hücrelerinde apoptotik hücrelerin anlamlı olarak azaldığını görmüşlerdir. (114)

Hussein ve arkadaşlarının sığır oositleri üzerinde yaptıkları çalışmada Oosit- Kumulus hücre kompleksi ve oositleri alınmış kumulus hücrelerini kültüre edip apoptozise bakmışlardır. Oositleri çıkarılan kumulus hücrelerinde apoptozisin anlamlı arttığı gözlenmiştir. Oositlerle ko-kültüre edildiğinde ise apoptozis seviyelerinin aksi oranda olduğu görülmüştür. BMP-6, 7, 15 uygulandığında ise apoptozisin anlamlı azaldığı (yaklaşık %50) tesbit edilmiştir. (115)

Sugiura ve arkadaşları BMP-6'nın dişi fare fertilitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında BMP-6 mutant farelerde ovaryumların morfolojik olarak normal histolojik yapıda olduğunu gözlemişlerdir. Follikül sayılarında anlamlı bir fark gözlenmemiş, doğal ovule oosit sayılarına bakıldığı zaman mutant farelerde anlamlı bir azalma belirlemişlerdir. Bu çalışmada oosit kalitesine bakıldığı zaman ise in vitro fertilizasyon sonrasında 2 hücreli emriyodan blastokiste geçiş oranlarının mutant farelerde anlamlı olarak azaldığı tesbit edilmiştir. (116)

Juengel ve arkadaşları yaptıkları çalışmada koyunlarda ve ratlarda follikül gelişiminde BMP lerin rollerini araştırmışlar. Koyunlarda tüm follikül oositlerinde BMP-6 mRNA ifadenmesi saptanırken hiçbir follikülün granüloza hücresinde ya da teka hücrelerinde BMP-6 mRNA sına rastlanmamıştır. Bu çalışmada BMP-6'nın granüloza hücre proliferasyonuna hiçbir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Ratlarda ise BMP-6 ile granüloza hücre proliferasyonunda artış saptanmış ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu fark anlamlı bulunmamıştır. (117)

Paradis ve arkadaşlarının domuzlar üzerinde yaptığı araştırmada gelişen preovulatar folliküllerde oositte ve teka hücrelerinde BMP-6 mRNA ifadenmesi gözlenirken granüloza hücrelerinde gözlenmemiştir. (118)

Glister ve arkadaşları sığır ovaryan follikül hücrelerinde BMP ligand ve reseptörlerini incelemişlerdir. İmmünohistokimyasal olarak folliküllerde BMP-6 tutulumunun granüloza hücrelerinde ve oositte pozitif olduğunu, teka hücrelerinde oldukça zayıf olduğunu saptamışlardır. (119)

Shi ve arkadaşlarının insan granüloza hücrelerinde BMP-6'nın FSH, AMH, İnhibin/Aktivin β altünitelerinin gen ifadenmesi üzerine etkilerini inceledikleri araştırmada, primordial ve primer folliküllerin oositlerinde belirgin BMP-6 ifadenmesi gözlemlenmiştir, primordial follikül granüloza hücrelerinde nadir, primer ve sekonder follikül granüloza hücrelerinde ise zayıf ekspresyon saptamışlardır. İfadenmenin tersiyer follikül granüloza hücrelerinde yüksek, atretik follikül granüloza hücrelerinde ise oldukça zayıf olduğu gözlenmiştir. (36)

Bu çalışmada da Kontrol grubu, Asetil L-karnitin grubu ve asetil L-karnitin+ Sisplatin gruplarında primer ve primordial folliküllerin oositlerinde ve follikül hücrelerinde BMP 6 ifadenmesi pozitif olarak belirlenirken, sekonder ve tersiyer follikülde zayıf tutulum, teka interna hücrelerinde kuvvetli tutulum belirlendi. Sisplatin grubunda ise primordial ve primer folliküllerde ve diğer gelişen folliküllerde oosit ve follikül hücreleri ve teka interna hücrelerinde BMP 6 ifadenmesi negatifti. Ayrıca gelişen folliküllerin bir grubunda ve tersiyer folliküllerin bazılarında granüloza hücrelerinde deskuamasyon ve antrumda hücrel debrisler gözlemlendi.

Kumulus hücreleri bir transmembran kanal ağı olan oluklu bağlantılar üzerinden iletişim kurarlar. Kumulus hücrelerinin en iç tabakasındaki hücreler sitoplazmik uzantılarını kalın bir ekstrasellüler matriks olan zona pellusidaya şekillendirirler gönderirler, oositle beraber oluklu bağlantıları şekillendirirler. Bu bağlantısal kompleksler, konneksin ailesini oluşturan proteinlerden oluşurlar. Bu proteinlerden biri olan konneksin 43 kumulus oosit kompleksinden eksprese edilen büyük bir oluklu bağlantı proteini (120, 121, 122)

Procházka ve arkadaşları oldukça etkili bir kemoterapötik ajan olan platinum türevi LA-12 nin rat karaciğer epitelyal hücre serilerinde etkilerini incelemişlerdir. Epitelyal hücrelerde apoptozis ve hücreler arası iletişiminin inhibisyonuna neden oldukları gözlenmiştir. Hücrelerarası iletişimin inhibisyonunda etkilerini bir oluklu bağlantı proteini olan konneksin 43 ün hızlı hiperpolarizasyonu ile olduğunu göstermişlerdir. (123)

Fiorini ve arkadaşları üreme üzerine toksik etkileri bilinen değişik ajanların sertoli hücrelerinde bağlantısal proteinlere etkisini incelemişlerdir. Sisplatinin sertoli hücrelerindeki konneksin 43 ifadenmesini belirgin olarak azalttığını göstermişlerdir. (124)

Zhao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sisplatinin insan fibroblastları üzerinde etkilerini incelemişler. Sisplatin uygulamasından sonra konneksin 43 immünfloresan boyanmasının sisplatin uygulanmayan normal fibroblastlara göre belirgin azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca Sisplatin uygulamasının hücre döngüsünü G1 de durdurduğunu ve hücrelerin S fazına girişlerini inhibe ettiklerini tesbit etmişlerdir. (125)

Berisha ve arkadaşları sığırlar üzerinde yaptıkları çalışmada konneksin 43 ün ovaryumdaki regülasyonunu incelemişler. GnRH verilmesinden sonra folliküllerde en yüksek konneksin 43 ifadenmesinin LH piki öncesi ve sırasında olduğunu bunun dışında da anlamlı bir dow-regülasyona uğradığını görmüşler. (126)

Ackert ve arkadaşları yaptıkları çalışmada konneksin 43 ten yoksun farelerde follikülogenezisin gelişimini araştırmışlardır. Bu amaçla normal,

heterezigot konneksin 43 mutant ve homozigot konneksin 43 mutant fareleri incelenmişlerdir. Normal ve heterozigot gruplarda tersiyer follüküle kadar gelişim gözlenirken homozigot mutantlarda follüküler gelişimin unilaminar follükül düzeyinde kaldığı tesbit edilmiştir. Erken follükülogeneziste bir geçikme olmazken primer follüküldeki granüloza hücrelerinin çoğalamamasıyla follükül gelişimi sağlanamamıştır. Ayrıca homozigot mutant deneklerdeki follüküller incelendiğinde; az gelişmiş bir zona pellusida, hem oosit hem granüloza hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, oositlerde ise kortikal granüllerin olmadığı görülmüştür. Mutant oositelerin mayotik olgunlaşmalarını tamamlayamadıkları, fertilizasyonu gerçekleştiremedikleri anlaşılmıştır. (60)

Gittens ve arkadaşları yaptıkları çalışmada normal ve mutant farelerde granüloza hücrelerinde konneksin 43 ün follükülogenezdeki rolünü araştırmışlardır. Konneksin 43 yokluğunda granüloza hücrelerinin büyümelerinin erken preantral evrede durduğu, follükülerdeki granüloza hücrelerinin birbirleriyle birleşmediği belirlenmiştir. Elektron mikroskopik görüntülerde mutant granüloza hücrelerinde nadir oluklu bağlantılar (gap junctionlar) gözlenmiş. Oluklu bağlantıların fonksiyonel olup olmadığını anlamak için yapılan deneyde verilen boyalar normal deneklerin follüküllerinde diğer granüloza hücrelerine geçerken mutant deneklerin follüküllerinde boyanın bir diğer granüloza hücresine geçmediği gözlenmiştir. Bu ise konneksin 43 den yoksun erken follüküllerin fonksiyonel oluklu bağlantılar bulundurmadığını göstermiştir. (127)

Tong ve arkadaşları farelerde follükülogenezde konneksin 43 ün önemini araştırmışlardır. Bu amaçla konneksin 43 homozigot mutant farelerin granüloza

hücrelerinde voltaj iletimi yabancı grupla karşılaştırılmış ve mutantlarda iletimin yabancı gruba göre anlamlı düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca konneksin 43 homozigot ve heterozigot mutant denekler arasında çaprazlama yapılmış, homozigot mutasyonda follikülogenezisin primer ya da erken sekonder evrede durduğu ve oositin mayotik olgunlaşmasının tamamlanmadığı gözlenmiştir, heterozigot mutasyonda ise oositin olgunlaşmasının tamamlandığı belirlenmiştir. Çaprazlama sonrasında incelenen deneklerde tüm gelişim evrelerinde folliküller gözlenmiş ama yabancı tipe göre antral follikül sayısının daha az olduğu saptanmıştır. (128)

Cheng ve arkadaşları domuzlarda granüloza hücrelerinde folliküler atrezi sırasında konneksin 43 lokalizasyonuna ve ifadelenmesine bakmışlardır. Sekonder ve daha yoğun olarak tersiyer folliküllerin granüloza hücrelerinde konneksin 43 mRNA ekspresyon varken primordial ve primer folliküllerin granüloza hücrelerinde ekspresyon belirlenmemiştir. Erken ve geç atretik folliküllerde konneksin 43 mRNA ekspresyonu azalmış olarak tesbit edilmiş. Apoptozis değerlendirildiğinde TUNEL pozitif hücelere primordial, primer, sekonder ve tersiyer folliküllerde rastlanmamış erken atretik folliküllerde ise follikül duvarının iç yüzünde yer alan granüloza hücrelerinde rastlanmıştır. İleri atretik folliküllerde ise granüloza hücrelerinin çoğunda pozitiflik gözlenmiştir. (58)

Teilmann ve arkadaşları fare ovaryumlarında konneksin 43 ün farklı follikül evrelerindeki lokalizasyonunu incelemişler, immünohistokimyasal olarak hiçbir follikül evresinde teka hücrelerinde ve oositlerde konneksin 43 tutulumu gözlemlememişlerdir. Primordial folliküllerin granüloza hücrelerinde birkaç

noktasal konneksin 43 pozitifliği tesbit edilmiş, unilaminar primer folliküllerde ise granüloza hücrelerinin sınırlarında küçük kesikli noktalar halinde konneksin 43 tutulumu gözlenmiştir. Tutulumdaki anlamlı artış multilaminar primer follikül düzeyinde görülmüş, follikül büyüklüğü arttıkça da bu tutulum artmıştır. (129)

Nuttinck ve arkadaşları sığır ovaryumunda follikülogenez sırasında oluklu bağlantı proteinlerinin dağılımını incelemişler, immün işaretleme ile konneksin 43 tutulumunu tüm follikül evrelerinde granüloza hücrelerinin sınırlarında saptamışlardır. Erken evrelerde tutulum düşük saptanırken antrum oluştuğunda tutulumda anlamlı artış gözlenmiştir. Oositte ve oosit-zona pellusida sınırında konneksin 43 tutulumu gözlenmemiştir. Büyük antral folliküllerin teka hücrelerinde de nokta şeklinde tutulum gözlenirken stromadaki tutulum ile benzer oranda olduğundan anlamlı bulunmamış, ayrıca yüzey epitelinde de tutulum saptanmıştır. (130)

Johnson ve arkadaşları inek ovaryumlarında folliküler büyüme ve atrezi sırasında konneksinlerin rollerini araştırmışlar, konneksin 43 ün primordial folliküllerde olmadığı ama primer, sekonder ve antral folliküllerin granüloza hücrelerinde var olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca konneksin 43 oosit- granüloza hücre sınırında da saptanmıştır. Folliküler büyüme sırasında ekspresyon artarken atrezi sırasında ise azalmıştır. (131)

Grazul ve arkadaşları koyun ovaryumlarında oluklu bağlantı proteinlerini incelemişler, konneksin 43 sağlıklı antral folliküllerin granüloza ve teka hücrelerinde saptanmıştır. Atretik folliküllerde ise düşük oranda teka hücrelerinde saptanmıştır. (132)

Borowczyk ve arkadaşları koyun ovaryumlarında oluklu bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu incelemişler teka hücrelerinde ve çok daha fazla olarak granüloza hücrelerinde konneksin 43 varlığını tespit etmişlerdir. (59)

Melton ve arkadaşları prepubertal domuzlarda ovaryumda konneksin 43 ekspresyonunu inceleyerek primordial folliküllerde konneksin 43 mRNA sınıptamamışlar primer folliküllerin granüloza hücrelerinde ise saptamışlardır. Follikül büyüklüğü arttıkça da konneksin 43 yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir. (57)

Granot ve arkadaşları sıçan oositlerinde konneksin 43 ekspresyonunu incelemişler. Tüm evrelerdeki oositlerde konneksin 43 ekspresyonuna rastlamışlar ve evreler arasında fark gözlememişlerdir. İmmünfloresan inceleme ile ve konfokal mikroskopla oosit yüzeyinde konneksin 43 varlığını saptamışlardır. İmmatür oositlerin fosforile konneksin 43 içerdiği matür ya da ovule oositlerin ise non-fosforile konneksin 43 içerdiği tesbit edilmiştir. (56)

Sommersberg ve arkadaşlarının sıçan granüloza hücrelerinde FSH in konneksin 43 gen ifadelenmesine etkisini inceledikleri çalışmada konneksin 43 ifadelenmesinin tipik olarak plak tarzında özellikle antral folliküllerde yoğun olduğunu görmüşlerdir. (133)

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak elde ettiğimiz konneksin 43 bulguları literatürde yer alan çalışmaların bir kısmını desteklemektedir. Kontrol, Asetil L-Karnitin ve Asetil L-karnitin+Sisplatin gruplarındaki tersiyer folliküllerin granüloza hücrelerinde literatürlerde söz edilen tipik plak tarzı tutulum gözlenmiştir. Plak tarzı tutulumun yanı sıra konneksin 43 ün mRNA

ifadelenmesini ortaya koyan nükleer tutulum da gözlenmiştir. Ayrıca bu gruplarda yer alan gelişen folliküllerdeki teka interna hücrelerinde de konneksin 43 tutulumu gözlemlendi. Ancak bu bulgular Sisplatin grubunda saptanmamıştır. Granüloza hücreleri ve teka interna hücreleri negatif reaksiyon vermiştir. Bunun yanında tüm gruplarda primer follikülden itibaren granüloza hücrelerinde tipik olmayan sitoplazmik tutulumlar izlenmiştir. Ama tutulumların yoğunluğu ve yaygınlığına bakıldığında diğer gruplara göre sisplatin grubunda azalma gözlenmiştir.

Mayoz, germ hücreleri için özelleşmiş bir hücre bölünmesidir. İnsan oositinde mayoz bölünme intrauterin dönemin 4. ayında başlar ancak follikül hücrelerince salgılanan OMI nedeniyle puberteye kadar profaz I'in diploten evresinde beklemede kalır. Puberteden sonra gonadotropinlerin (Özellikle de LH) etkisiyle mayoz bölünme de ilerler. Ovulasyondan önce I. mayoz tamamlanır ve II. mayoz bölünme başlar. II. Mayoz' un metafaz evresinde iken ovulasyon gerçekleşir. Mayoz bölünmedeki bu ikinci duraksama fertilizasyon oluncaya kadar devam eder ancak fertilizasyonun gerçekleşmesi ile mayoz bölünme tamamlanabilir. (50, 134) Başarılı bir fertilizasyon için; oosit ve follikül büyümesi, kromozom düzenlenmesi ve ovulasyon olaylarının eşzamanlı ve uyumlu bir biçimde gerçekleşmesi gerekmektedir. Olgunlaşmayı düzenleyici faktör (Maturation Promoting Factor; MPF) bu noktada önemli bir rol oynamaktadır. Kompleks protein yapısında olan MPF, iki alt bileşenden oluşmuştur (p34cdc2 ve cyclinB). p34cdc2 katalizör cyclinB ise regülatör olarak rol oynar. (134, 135, 136, 137)

Tatemoto ve arkadaşları sığır oositlerinde mayozun yeniden başlaması için p34cdc2 aktivasyonunu incelemişler. Toplanan 122 oositin ilk 4 saatlik inkübasyonu sırasında hepsi GV evresine ulaşıyor 6 saat sonra %8 i GVBD'ye giriyor, 9 saat sonra %66 GVBD ve %28 metafaz I görünümüne ulaşıyor. 12 saat sonra hepsi GVBD'yi başarıyor ve %73 ü metafaz I evresine ulaşıyor. p34cdc2 aktivasyonuna bakılınca 0 ve 2. saatlerde düşük 12. saatte ise en yüksek kinaz aktivitesi saptanıyor. (138)

Dedieu ve arkadaşları keçi oositlerinde p34cdc2 ifadenmesini incelemişler. P34cdc2 nin GV'den Metafaz II ye kadar tüm evrelerde bulunduğunu göstermişlerdir. (139)

Anguita ve arkadaşları prepubertal dönemdeki keçi oositlerinde P34cdc2 ekspresyonunu incelemişler. Çalışmada <110, 110-125, 125-135, >135 µm çaplarında 4 farklı oosit grubu oluşturulmuş. P34 ekspresyonuna oositler toplandığında ve in vitro maturasyondan 27 saat sonra bakılmış. Tüm çaptaki oositlerde p34 mRNA sına rastlanmıştır. Ayrıca p34 RNA hem mayozu tamamlamış hem de tamamlayamamış oositlerde gözlenmiştir. Oosit toplanma zamanında bakıldığında 125-135 µm çaptaki oositlerde mRNA ekspresyonu diğer gruplara göre anlamlı yüksek çıkmıştır. Ama IVM sonrası fark gözlenmemiştir. P34 protein ekspresyonuna bakıldığında Oosit toplandığında ve IVM de oosit çapı arttıkça ekspresyonun da arttığı gözlenmiştir. (140)

Quetglas ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sığır oositlerinde CDK inhibisyonunun MPF ve MAPK ifadenmesi, lokalizasyonu ve aktivitesi üzerine etkilerine PCR ve Western Blot yöntemleri ile bakmışlar. Toplanan oositler 4

gruba ayrılmış, olgun olmayan ve olgun oosit kontrol grupları ve CDK inhibisyonu yapılan olgun olmayan ve olgun oosit grupları. P34cdc2 ifadenmesi tüm gruplarda saptanmış olgunlaşmayla ve inhibisyonla da değişmediği görülmüş. Siklin B1 ise olgunlaşmayan ve inhibe oositlerde saptanmamış. Lokalizasyonları değerlendirildiğinde cdc2 olgun olmayan oositlerin sitoplazmasında ve nükleusunda saptanmış. Olgunlaşmadan sonra ise tüm sitoplazma boyunca belirlenmiş. (141)

Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda primordial, uni ve multilaminar primer folliküllerde ve sekonder folliküllerde yer alan oositlerin sitoplazmalarında p34cdc2 dağılımı negatifti.

Ancak Kontrol grubu, Asetil L-karnitin grubu ve Asetil L-karnitin sisplatin+ grubunda tersiyer folliküllerde yer alan oositlerin sitoplazmaları p34cdc2 tutulumu pozitif olarak belirlenirken Sisplatin grubundaki tersiyer folliküllerde yer alan oositlerin sitoplazmaları immün tutulum göstermedi.

6. SONUÇ

Bu çalışmada kemoterapik ajan sisplatin uygulaması ratlarda kilo kaybına neden olmuş, primordial folliküllerin sayısını azaltmış, gelişen folliküllerin sayısı açısından ise farklılık oluşturmamıştır. Bu sonuçlar sisplatinin toksik/gonadotoksik etkisini gösteren bulgulardan biridir. Primordial ve erken primer folliküllerin ovarian maturasyon faktörlerinin etkisi altında farklılaşmaya başladıkları ileri farklılaşmalarının ise FSH'nin da katılımıyla gerçekleştiği bilinmektedir. Sisplatin grubunda primordial ve primer folliküllerin maturasyonunu düzenleyen yerel faktör BMP-6'nın bu folliküllerde ifadenememesi ve maturasyon düzenleyici diğer bir faktör olan oluklu bağlantı proteini konneksin 43'ün de aynı şekilde immünohistokimyasal olarak işaretlenememesi sisplatinin follikül maturasyonunu önleyici etkileridir. Ayrıca bu çalışmada hücre siklusu düzenleyici bir protein olan p34 cdc2'nin Sisplatin grubunda bazı sekonder oositlerde ifadenememesi II. mayoz bölünmeyi engelleyici bir etki olarak yorumlanmıştır.

Sisplatinin gonadotoksik etkilerine karşı koruyucu olarak uygulanan asetil L-karnitin ise sisplatin uygulamasına rağmen erken folliküllerde BMP-6'nın ekspres edilmesini, konneksin 43'ün erken folliküllerde tipik olmayan sitoplazmik tutulumlar halinde, tersiyer folliküllerde ise rozet yada plak tarzında ifadenmesini olanak vermiş, sekonder oositlerin sitoplazmalarında ise p34cdc2 ekspresyonunu sağlamıştır. Sonuç olarak sisplatinin ovaryumlarda follikül maturasyonuna olan etkileri asetil L-karnitinin koruyucu etkisiyle kısmen önlenmiş ancak çeşitli evrelerdeki bazı folliküllerde gözlenen dejenerasyonların

varlığı koruyuculuğun tam olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Kemoterapi alması gereken kanser hastalarında oosit toplanması ve korunmasının mümkün olmadığı koşullarda asetil L- karnitin koruyucu bir antioksidan ajan olarak kullanılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Bysal A, Criss W. Kanseri tanıyalım. Ankara:Hatiboğlu yayınları, 2004;9-13.
2. Kutluk T, Kars A. Kanser Konusunda Genel Bilgiler. Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları;1992.
3. <http://www.turkkanser.org.tr> . 16.08.2013
4. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=15847> . 23.08.2013
5. Cascatio DA, Lowitz BB. Klinik Onkoloji El Kitabı. Çeviri editörü Manavoğlu O. 1. Baskı. Palme Yayıncılık;2007.
6. Kim SS: Fertility preservation in female cancer patients: current developments and future directions. Fertil Steril 2006; 85:1-11.
7. Sönmezer M, Özkavukçu S. Fertility preservation in females with malignant disease-1: causes, clinical needs and indications. Turkish Journal of Hematol 2009;26:106-13.
8. Li X, Kang X, Deng Q, Cai J, Wang Z. Combination of a GnRH agonist with an antagonist prevents flare-up effects and protects primordial ovarian follicles in the rat ovary from cisplatin-induced toxicity: a controlled experimental animal study. Reprod Biol Endocrino. 2013;11:16.
9. Xin Yao, Panichpisal K. Cisplatin Nephrotoxicity: A review. The American Journal of the Medical Sciences 2007; 334: 115-124.
10. Zhang X, Yamamoto N, Soramoto S, Takenaka I. Cisplatin-Induced Germ Cell Apoptosis In Mouse Testes. Arch Androl 2001;46(1): 43-49.

11. Mackie EJ, Radford M, Shalet SM. Gonadal function following chemotherapy for childhood Hodgkin's disease. *Med Pediatr Oncol* 1996;27:74-8.
12. Marhhom E, Cohen I. Fertility preservation options for women with malignancies. *Obstet Gynecol Surv* 2007;62:58-72.
13. Chung K, Donnez J, Ginsburg E, Meirow D. Emergency IVF versus ovarian tissue cryopreservation: decision making in fertility preservation for female cancer patients. *Fertil Steril* 2013;99(6):1534-42.
14. Bouchlariotou S, Tsikouras P, Benjamin R, Neulen J. Fertility sparing in cancer patients. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2012;21(4):282-92.
15. Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hear Res.* 2007 Apr;226(1-2):157-67.
16. Furlong JH. Altern Acetyl L-carnitine: metabolism and applications in clinical practice *Med Rev* 1:22, 85-92, 1996
17. Rebouche CJ. Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1033:30-41.
18. Schoenwolf, GC, Bleyl SB, Brauer PR. Larsen's Medical Embriyology, 4th ed. Cchurcill Livingstone, 2009; 479-536.
19. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi.6. Baskıdan çeviri. Nobel Tıp Kitapevi, 2002; 323–329.
20. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji.11. Baskıdan çeviri, Çeviri: Başaklar C. Palme Yayıncılık, 2011; 24-27, 235-262.

21. Sancak B, Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş., 2. Baskı. 2002; 298-300
22. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 1. Cilt. Güneş Kitap Evi; 2001.
23. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology. 10th ed. McGraw&Hill, 2003;449-465.
24. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. W.B. 3th ed. Saunders company, 2007; 463
25. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş. Palme Yayıncılık, 2006; 531-588
26. Ross HM, Kaye GI, Pawlina W. Histology: A Text and Atlas. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2011;830- 845.
27. Çelik. Ö. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamaları. Nobel Kitabevi, 2011;3-56
28. Chiu PC, Wong BS, Chung MK, Lam KK, Pang RT, Lee KF, et al. Effects of native human zona pellucida glycoproteins 3 and 4 on acrosome reaction and zona pellucida binding of human spermatozoa. Biol Reprod. 2008;79(5):869-77.
29. Widmaier E P, Raff H, Strang KT. Vander İnsan Fizyolojisi. Çeviri editörü Demirgören S. 10. Baskı. Güven Kitabevi, 2010; 668-678
30. Ganong W F. Tıbbi Fizyoloji.20. Basıdan çeviri. Nobel Tıp Kitabevi, 2002;419-433
31. Guyton AC, Hall EJ. Medical Physiology. 10th ed. WB. Saunders company, 2000 ;929-944

32. Knight PG, Glister C. Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatin in the ovary. *Reproduction* 2001;121:503–12.
33. Vitt UA, Hsueh AJW. *Encyclopedia of hormone*. Editors: Helen L. Henry, Anthony W. Norman. *Folliculogenesis, Early*. San Diego:Calif: Academic, 2003; 656
34. Picton HM, Haris SE, Muruvi W and Chambers EL. The in vitro growth and maturation of follicles. *Reproduction* 2008;136:703–715.
35. Knight PG, Glister C. TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*. 2006;132(2):191-206.
36. Shi J, Yoshino O, Osuga Y, Koga K, Hirota Y, Hirata T, et al. Bone morphogenetic protein-6 stimulates gene expression of follicle-stimulating hormone receptor, inhibin/ activin beta subunits, and anti-Müllerian hormone in human granulosa cells. *Fertil Steril* 2009;92(5):1794-8.
37. Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocrinol Rev* 2004;25:72–101.
38. Erickson GF, Fuqua L, Shimasaki S. Analysis of spatial and temporal expression patterns of BMP family members in the rat uterus over the estrous cycle. *J Endocrinol* 2004;182:203–17.
39. Shi J, Yoshino O, Osuga Y, Nishii O, Yano T, Taketani Y. Bone morphogenetic protein 7 increases the expression of FSH receptor in human granulosa cells. *Fertil Steril*. 2010;93(4):1273-9

40. Gershon E, Plaks V, Dekel N. Gap junctions in the ovary; expression, localization and function. *Mol Cell Endocrinol.* 2008;282(1-2):18-25.
41. Kidder GM, Mhawi AA. Gap junctions and ovarian folliculogenesis. *Reproduction* 2002;123:613-20.0.
42. Stains JP, Civitelli R . Gap junctions in skeletal development and function. *Biochim Biophys Acta* 2005;1719(1-2):69-81.
43. Sutor B, Hagerty T. Involvement of gap junctions in the development of the neocortex. *Biochim Biophys Acta* 2005;1719(1-2):59-68.
44. Morley GE, Vaidya D, Samie FH, Lo C, Delmar M, Jalife J. Characterization of conduction in the ventricles of normal and heterozygous Cx43 knockout mice using optical mapping. *J Cardiovasc Electrophysio.* 1999;10(10):1361-75.
45. Xie LJ, Huang GY, Zhao XQ, Shen Y, Zhou GM. Histopathological analysis of neonatal mouse hearts with connexin43 gene defects. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005;85(18):1249-51.
46. Liu S, Liu F, Schneider AE, St Amand T, Epstein JA, Gutstein DE. Distinct cardiac malformations caused by absence of connexin 43 in the neural crest and in the non-crest neural tube. *Development.* 2006;133(10):2063-73
47. Reaume AG, de Sousa PA, Kulkarni S, Langille BL, Zhu D, Davies TC, et al. Cardiac malformation in neonatal mice lacking connexin43. *Scienc.* 1995;267(5205):1831-4.

48. Francis RJ, Lo CW. Primordial germ cell deficiency in the connexin 43 knockout mouse arises from apoptosis associated with abnormal p53 activation. *Development*. 2006 Sep;133(17):3451-60.
49. Pointis G, Fiorini C, Defamie N, Segretain D. Gap junctional communication in the male reproductive system. *Biochim Biophys Acta* 2005;1719(1-2):102-16.
50. Abramovich SS, Edry I, Galiani D, Nevo N, Dekel N. Disruption of gap junctional communication within the ovarian follicle induces oocyte maturation. *Endocrinolog* 2006;147(5):2280-6
51. Grümmer R, Hewitt SW, Traub O, Korach KS, Winterhager E. Different regulatory pathways of endometrial connexin expression: preimplantation hormonal-mediated pathway versus embryo implantation-initiated pathway. *Biol Reprod*. 2004;71(1):273-81
52. Kibschull M, Magin TM, Traub O, Winterhager E. Cx31 and Cx43 double-deficient mice reveal independent functions in murine placental and skin development. *Dev Dyn* 2005;233(3):853-63.
53. Gittens JE, Kidder GM. Differential contributions of connexin37 and connexin43 to oogenesis revealed in chimeric reaggregated mouse ovaries. *J Cell Sci* 2005 1;118(Pt 21):5071-8.
54. Gittens JE, Barr KJ, Vanderhyden BC, Kidder GM . Interplay between paracrine signaling and gap junctional communication in ovarian follicles. *J Cell Sci* 2005;118(Pt 1):113-22.

55. Johnson ML, Redmer DA, Reynolds LP, Bilski JJ, Grazul-Bilska AT. Gap junctional intercellular communication of bovine granulosa and thecal cells from antral follicles: effects of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone. *Endocrine* 2002;18(3):261-70.
56. Granot I, Bechor E, Barash A, Dekel N. Connexin43 in rat oocytes: developmental modulation of its phosphorylation. *Biol Reprod* 2002;66(3):568-73.
57. Melton CM, Zaunbrecher GM, Yoshizaki G, Patiño R, Whisnant S, et al. Expression of connexin 43 mRNA and protein in developing follicles of prepubertal porcine ovaries. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2001;130(1):43-55.
58. Cheng Y, Inoue N, Matsuda-Minehata F, Goto Y, Maeda A, Manabe N. Changes in expression and localization of connexin 43 mRNA and protein in porcine ovary granulosa cells during follicular atresia. *J Reprod Dev* 2005;51(5):627-37.
59. Borowczyk E, Johnson ML, Bilski JJ, Borowicz PP, Redmer DA, Reynolds LP, et al. Expression of gap junctional connexins 26, 32, and 43 mRNA in ovarian preovulatory follicles and corpora lutea in sheep. *Can J Physiol Pharmacol* 2006;84(10):1011-20
60. Ackert CL, Gittens JE, O'Brien MJ, Eppig JJ, Kidder GM. Intercellular communication via connexin43 gap junctions is required for ovarian folliculogenesis in the Mouse. *Dev Bio.* 2001;233(2):258-70

61. Cabadak H, Hücre Siklusu ve Kanser, 2008, Cilt 9, Sayı 3, Sayfa(lar) 051-061
62. Cooper G M. Hausman R. E. Hücre Moleküler Yaklaşım. 3. baskıdan Çeviri. Çeviri Editörü: Sakızlı M, Atabey N. İzmir Tıp Kitabevi 2006. sayfa: 600-608
63. Nebreda AR, Ferby I. Regulation of the meiotic cell cycle in oocytes. *Curr Opin Cell Biol.* 2000;12(6):666-75.
64. Kuyucu Y, Tap Ö. Oosit Olgunlaşma Süreci ve Düzenleyici Faktörler. *Arşiv* 2009; 18: 227
65. Akyol N. Sığırlarda İn vivo Oosit Maturasyonu (derleme). *Lalahan Hay. Arast. Enst. Derg.* 2006, 46 (2) 47 – 51
66. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer Principles and practice of oncology.* 7. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins;2005;295-306
67. Dawson MA, Kouzarides T. *Cancer epigenetics: from mechanism to therapy.* *Cell* 2012;150(1):12-27.
68. Urruticoechea A, Alemany R, Balart J, Villanueva A, Viñals F, Capellá G. Recent advances in cancer therapy: an overview. *Curr Pharm Des* 2010;16(1):3-10.
69. Vanneman M, Dranoff G. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):237-51.
70. Kayaalp O. *Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar. Rasyonel Teddavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji.* Ankara: Feryal Matbaacılık; 2002.

71. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Carbonero RG, Calabresi P. Antineoplastic Agents. Hardman JG, Limbird LE, editors. The pharmacological basis of therapeutics. 10 th edition. New York: Mc Graw Hill Co, 2001;1432-4.
72. Rosenberg B, VanCamp L, Krigas T. Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* 205, 698–699 (1965).
73. Patrick J, Loehrer MD, Lawrence H, Einhorn MD. Cisplatin. *Annals of Internal Medicine* 1984;100:704-713.
74. Wang D, Lippart SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320.
75. Gonzalez VM, Fuertes MA, Alonso C, Perez JM. Is Cisplatin-Induced Cell Death Always Produced by Apoptosis? *Mol Pharmacol* 2001;59: 657-663.
76. Jordan P, Carmo-Fonseca M. Molecular mechanism involved in cisplatin cytotoxicity. *Cell Mol Life Sci.* 2000; 57: 1229-1235.
77. Sastry J, Kellie SJ, MB BS. Severe Neurotoxicity, Ototoxicity And Nephrotoxicity Following High-Dose Cisplatin And Amifostine. *Pediatric Hematology and Oncology* 2005; 22: 441–445.
78. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci* 2007;334(2):115-24.
79. Cavaletti G. Peripheral neurotoxicity of platinum-based chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2008;8(1):1

80. Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V. Cisplatin ototoxicity and protection: clinical and experimental studies. *Tohoku J Exp Med* 2009;219(3):177-86.
81. Rezvanfar MA, Rezvanfar MA, Shahverdi AR, Ahmadi A, Baeri M, Mohammadirad A, et al. Protection of cisplatin-induced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nano-particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013;266(3):356-65
82. Lamson DW, Brignall MS. Antioxidants in cancer therapy; their actions and interactions with oncologic therapies. *Altern Med Rev* 1999; 4 (5): 304-329.
83. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. *Ann Bot.* Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. 2003;91:179-94.
84. Akkuş T. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya. Mimoza Yayınları. 1995: 1-80.
- 85- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
- 86- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002 Jan;82(1):47-95.
87. Bieber LL. Carnitine. *Annu Rev Biochem* 1988; 57: 261-83.
88. Matera M, Bellinghieri G, Constantino G, Santoro D, Calvani M, Savica V. History of L-carnitine: Implications for renal disease. *Journal of Renal Nutrition* 2003;13(1):2-14.

89. Arslan A. diyabetik sıçanlarda karnitinin yara iyileşmesi ve flep yaşayabilirliğine etkisi: Deneysel çalışma. Uzmanlık tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi; 2010.
90. Vaz FM, Wanders RAJ. Karnitine biosynthesis in mammals. *Journal of Biochemistry* 2002;361:417-429.
91. Rebouche CJ. Karnitine. *Nutrition in Health and Disease*. 9. Ed. 1999;505-512.
92. Akın H. Farelerde asetil-L-karnitin uygulamasının deneysel ağrı modelleri üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi; 2005.
93. Monograph.(Editorial) L-carnitine. *Altern Med Rev* 2005;10:42-50.
94. Tüfekçi Ö. Asetil L-Karnitin'in Deneysel Sisplatin Nefrotoksitesisi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi; 2009.
95. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B et al. Effects of L-carnitine on oxidant/antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2006;51:488-94.
96. Mayes, PA. Lipids of physiologic significance. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. *Harper's Biochemistry*. 25th ed. Stamford: Appleton and Lange, 2000; 160-171.
97. Pacifici EH, McLeod LL, Sevanian A. Lipid hydroperoxide-induced peroxidation and turnover of endothelial cell phospholipids. *Free Radic Biol Med* 1994;17:297-309.

98. Madesh M, Balasubramanian KA. Activation of liver mitochondrial phospholipase A2 by superoxide. *Arch Biochem Biophys* 1997;15:187-192.
99. Arockia Rani PJ, Panneerselvam C. Carnitine as a free radical scavenger in aging. *Exp Gerontol* 2001;36:1713-26.
100. Bremer J. Karnitine-metabolism and functions. *Physiol Rev* 1983;63:1420-80.
101. Kopuz M. Tekrarlayan Düşük (Recurrent Abortion) Olgularında Oksidan-Antioksidan Dengenin L- Karnitin ile ilişkisi. Yüksek lisans tezi. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2008.
102. Oktay K, Sönmezer M, Oktem O, Fox K, Emons G, Bang H. Absence of conclusive evidence for the safety and efficacy of gonadotropin-releasing hormone analogue treatment in protecting against chemotherapy-induced gonadal injury. *Oncologist*. 2007;12(9):1055-66.
103. Oktem O, Urman B. Options of fertility preservation in female cancer patients. *Obstet Gynecol Surv*. 2010;65(8):531-42.
104. Zhang JG, Viale M, Esposito M, Lindup WE. Tiopronin protects against the nephrotoxicity of cisplatin in the rat. *Hum Exp Toxicol*. 1999;18(12):713-7.
105. Abalo R, Cabezas PA, Vera G, López-Pérez AE, Martín MI. Cannabinoids may worsen gastric dysmotility induced by chronic cisplatin in the rat. *Neurogastroenterol Motil*. 2013;25(5):373-82
106. Song MY, Ku SK, Kim HJ, Han JS. Low molecular weight fucoidan ameliorating the chronic cisplatin-induced delayed gastrointestinal motility in rats. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(12):4468-78.

107. Shimeda Yuka, Hirotani Y, Akimoto Y, Shindou K, Ijiri Y, Nishihori T et al. Protective effects of capsaicin against cisplatin nephrotoxicity in rats. *Biol Pharm Bull* 2005;28(9):1635-8.
108. Oktem O, Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer*. 2007;110(10):2222-9.
109. Yeh J, Kim BS, Liang YJ, Peresie J. Gonadotropin stimulation as a challenge to calibrate cisplatin induced ovarian damage in the female rat. *Reprod Toxicol*. 2009;28(4):556-62.
110. Ozcelik B, Turkyilmaz C, Ozgun MT, Serin IS, Batukan C, Ozdamar S, et al. Prevention of paclitaxel and cisplatin induced ovarian damage in rats by a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 2010;93(5):1609-14.
111. Turkyilmaz Ç, Özçelik B, Özgün MT, Atakul T, Batukan C, Serin İS, et al. Effects of Paclitaxel and Cisplatin on Ovarian Reserves in Rats. *Erciyes tıp dergisi* 2008, Cilt 30, Sayı 1, Sayfa(lar) 024-029
112. Yucebilgin MS, Terek MC, Ozsaran A, Akercan F, Zekioglu O, Isik E, et al. Effect of chemotherapy on primordial follicular reserve of rat: An animal model of premature ovarian failure and infertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2004;44(1):6-9.
113. Zhu G, Guo B, Pan D, Mu Y, Feng S. Expression of bone morphogenetic proteins and receptors in porcine cumulus-oocyte complexes during in vitro maturation. *Anim Reprod Sci*. 2008;104(2-4):275-83.

114. Zhu G, Cui Y, Wang Q, Kang Y, Lv Y, Wang J, et al. Bone morphogenetic proteins (BMP) 2, 4, 6 and 7 affect ovarian follicular development through regulation of follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) and luteinizing hormone receptor (LHR) expression in goat granulosa cells. *Journal of Cell Biology and Genetics*. 2013;3(1):14-21
115. Hussein TS, Froiland DA, Amato F, Thompson JG, Gilchrist RB. Oocytes prevent cumulus cell apoptosis by maintaining a morphogenic paracrine gradient of bone morphogenetic proteins. *J Cell Sci*. 2005;118(Pt 22):5257-68.
116. Sugiura K, Su YQ, Eppig JJ. Does bone morphogenetic protein 6 (BMP6) affect female fertility in the mouse? *Biol Reprod*. 2010;83(6):997-1004.
117. Juengel JL, Reader KL, Bibby AH, Lun S, Ross I, Haydon LJ, et al. The role of bone morphogenetic proteins 2, 4, 6 and 7 during ovarian follicular development in sheep: contrast to rat. *Reproduction*. 2006;131(3):501-13.
118. Paradis F, Novak S, Murdoch GK, Dyck MK, Dixon WT, Foxcroft GR. *Reproduction*. Temporal regulation of BMP2, BMP6, BMP15, GDF9, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2 and TGFBR1 mRNA expression in the oocyte, granulosa and theca cells of developing preovulatory follicles in the pig. 2009;138(1):115-29
119. Glister C, Kemp CF, Knight PG. Bone morphogenetic protein (BMP) ligands and receptors in bovine ovarian follicle cells: actions of BMP-4, -6 and 7 on granulosa cells and differential modulation of Smad1 phosphorylation by follistatin. *Reproduction*. 2004;127(2):239-54

120. Grazul-Bilksa AT, Reynolds LP, Redmer DA. Gap junctions in the ovaries. *Biology of reproduction*, 57, 947-957, 1997
121. White TW, Paul DL. Genetic disease and gen knockouts reveal diverse connexin functions. *Annual review of Physiology*, 61, 283-310, 1999
122. Vozzi C, Formenton A, Chanson A, Senn A, Sahli R, Shaw P, et al. Involvement of connexin 43 in meiotic maturation of bovine oocytes. *Reproduction*. 2001 Oct;122(4):619-28.
123. Procházka L, Turánek J, Tesářík R, Knotigová P, Polásková P, Andrysík Z, et al. *Arch Biochem Biophys*. Apoptosis and inhibition of gap-junctional intercellular communication induced by LA-12, a novel hydrophobic platinum(IV) complex. 2007;462(1):54-61.
124. Fiorini C, Tilloy-Ellul A, Chevalier S, Charuel C, Pointis G .Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants. *Reprod Toxicol*. 2004;18(3):413-21.
125. Zhao W, Lin ZX, Zhang ZQ. Cisplatin-induced premature senescence with concomitant reduction of gap junctions in human fibroblasts. *Cell Res*. 2004;14(1):60-6.
126. Berisha B, Bridger P, Toth A, Kliem H, Meyer HH, Schams D, Pfarrer C. Expression and localization of gap junctional connexins 26 and 43 in bovine periovulatory follicles and in corpus luteum during different functional stages of oestrous cycle and pregnancy. *Reprod Domest Anim*. 2009;44(2):295-302.

127. Gittens JE, Mhawi AA, Lidington D, Ouellette Y, Kidder GM. Functional analysis of gap junctions in ovarian granulosa cells: distinct role for connexin43 in early stages of folliculogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003;284(4):C880-7.
128. Tong D, Gittens JE, Kidder GM, Bai D. Patch-clamp study reveals that the importance of connexin43-mediated gap junctional communication for ovarian folliculogenesis is strain specific in the mouse. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290(1):C290-7.
129. Teilmann SC. Differential expression and localisation of connexin-37 and connexin-43 in follicles of different stages in the 4-week-old mouse ovary. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;234(1-2):27-35.
130. Nuttinck F, Peynot N, Humblot P, Massip A, Dessy F, Fléchon JE. Comparative immunohistochemical distribution of connexin 37 and connexin 43 throughout folliculogenesis in the bovine ovary. *Mol Reprod Dev.* 2000;57(1):60-6.
131. Johnson ML, Redmer DA, Reynolds LP, Grazul-Bilska AT. Expression of gap junctional proteins connexin 43, 32, and 26 throughout follicular development and atresia in cows. *Endocrine.* 1999;10(1):43-51.
132. Grazul-Bilska AT, Redmer DA, Bilski JJ, Jablonka-Shariff A, Doraiswamy V, Reynolds LP. Gap junctional proteins, connexin 26, 32, and 43 in sheep ovaries throughout the estrous cycle. *Endocrine.* 1998;8(3):269-79.
133. Sommersberg B, Bulling A, Salzer U, Fröhlich U, Garfield RE, Amsterdam A, et al. Gap junction communication and connexin 43 gene expression in a

- rat granulosa cell line: regulation by follicle-stimulating hormone. *Biol Reprod.* 2000;63(6):1661-8.
134. Ross HM, Kaye GI, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas.* 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2011;Chapter 3.
135. Akyol N. *İn vitro* sığır embriyosu üretimi. *Embriyo Transferi (Bülten).* 17 Aralık 2008.
136. Richard FJ. Regulation of meiotic maturation. *J Anim Sci.* 2007. 85:E4-E6
137. Heikinheimo O, Gibbons WE. The molecular mechanisms of oocyte maturation and early embryonic development are unveiling new insights into reproductive medicine. *Molecular Human Reproduction* vol.4 no.8 pp. 745–756, 1998.
138. Tatemoto H, Terada T. Activation of p34(cdc2) kinase around the meiotic resumption in bovine oocytes cultured *in vitro*. *Theriogenology.* 1996 Jan 15;45(2):427-37.
139. T. Dedieu, L. Gall, I. Hue, E. Ledan, N. Crozet, S. Ruffini, et al. p34cdc2 Expression And Meiotic Competence İn Growing Goat Oocytes. *Molecular Reproduction And Development* 50:251–262 (1998)
140. Anguita B, Jimenez-Macedo AR, Izquierdo D, Mogas T, Paramio MT. Effect of oocyte diameter on meiotic competence, embryo development, p34 (cdc2) expression and MPF activity in prepubertal goat oocytes. *Theriogenology.* 2007;67(3):526-36.
141. Quetglas MD, Adona PR, de Bem TH, Pires PR, Leal CL. Effect of cyclin-dependent kinase (CDK) inhibition on expression, localization and activity

of maturation promoting factor (MPF) and mitogen activated protein kinase (MAPK) in bovine oocytes. *Reprod Domest Anim.* 2010;45(6):1074-81.

8. ÖZET

Deneyel Sisplatin Gonadotoksitesinde Asetil L-Karnitinin Ovaryum Follikül Gelişimindeki Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi

Kemoterapi kanser tedavisinde kullanılan başlıca yöntemlerden birisidir. Ancak kemoterapötik ajanlar uzun dönemde çeşitli toksik etkilere neden olmaktadır. Bu toksik etkilerden birisi de gonadotoksik etkilerdir. Ovaryumlar kemoterapötik ilaçlara son derece duyarlıdır. Kemoterapiye bağlı prematür ovaryan yetmezlik gibi reproduktif sorunlar oluşmaktadır. Sisplatin kanser tedavisinde sık kullanılan bir kemoterapötiktir ve ototoksikite, nefrotoksikite gibi ciddi yan etkilere sahiptir. Bunların yanında ovaryumlarda primordial follikül ve granüloza hücre hasarı oluşturması bilinen gonadotoksik etkilerindedir.

Kemoterapinin toksik etkilerini önlemek için kemoterapi öncesi oosit ve embriyo dondurma yöntemleri gibi alternatif tedaviler geliştirilmiştir. Bu alternatif tedavilerden birisi antioksidan ajanlardır. Antioksidanların serbest oksijen radikal hasarını önleyici etkileri bulunmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açan sisplatinin ovaryumlardaki toksik etkilerini ve bu etkilere karşı bir antioksidan ajan olan asetil L-karnitinin olası koruyucu etkilerini göstermek amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Deneyde kullanılan ratlar kontrol, asetil L-karnitin, sisplatin, asetil L-karnitin+sisplatin grupları olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Deney sonrası alınan dokular immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi.

Deney sonrasında Sisplatin ve Sisplatin+ Asetil L-karnitin gruplarındaki deneklerde Sisplatin grubunda daha fazla olmak üzere kilo kaybı gözlemlendi.

Ovaryum rezervini gösteren primordial follikül sayısına bakıldığında Sisplatin grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı azalma belirlendi. İmmünohistokimyasal incelemelerde BMP-6'nın Sisplatin grubunda primordial ve primer folliküllerde ifadenmesi gözlenmedi. Konneksin 43 proteininin ifadenmesi de Sisplatin grubunda özellikle granuloza hücrelerinde azalmış bulundu. Oositte tutulum gösteren p34cdc2'nin Sisplatin grubunda ifadenmesinin azalması da sisplatinin toksik etkilerini destekledi. Sisplatin+Asetil L-karnitin grubunda her üç protein için de ifadenmenin daha iyi olması ve primordial follikül sayılarının Sisplatin grubuna göre daha yüksek olması koruyucu etkileri olduğunu düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler; sisplatin, ovaryum, asetil L-karnitin

9. SUMMARY

Evaluation of The Protective Effects in Ovarian Developing Follicles of Acetyl L-Carnitine on Experimental Cisplatin Gonadotoxicity

Chemotherapy is one of the main therapy procedures in cancer treatment. However, chemotherapeutic agents cause certain toxic effects in the long term. One of these toxic effects is gonadotoxicity. The ovaries are particularly sensitive to chemotherapy. Reproductive problems such as premature ovarian failure occur as a result of chemotherapy. Cisplatin is one of the most commonly used chemotherapeutic agents in cancer therapy, but it has certain serious side effects as nephrotoxicity and ototoxicity. Besides, other known gonadotoxic effects are granulosa cell and primordial follicle damage.

Alternative therapy methods such as oocyte and embryo cryopreservation have been developed to prevent toxic effects of chemotherapy. Among these alternative methods is the use of antioxidant agents and they can prevent the damage by free radicals. This study aims to investigate the toxic effect of cisplatin, which causes the formation of free oxygen radicals, on ovaries and possible preservative function of acetyl L-carnitine, an antioxidant agent. Rats used in these experiments were divided into four groups as the control group, acetyl L-carnitine group, cisplatin group, and acetyl L-carnitine+cisplatin group. The tissues removed after the treatments were evaluated by immunohistochemical methods.

Although the evaluation revealed weight loss in cisplatin and cisplatin+acetyl L-carnitine groups, it was greater in the cisplatin group. A

significant reduction in primordial follicles was observed in the cisplatin group when compared with other groups. It was seen in immunohistochemical studies that primordial and primer follicles in the cisplatin group did not show BMP-6 expression. It was also seen that connexin 43 protein expression was reduced in granulose cells and p34cdcc2 expression was reduced in oocytes in the cisplatin group. In addition, the reduction in the cisplatin group was evidence for the toxic effects of cisplatin. The expression of these three proteins and primordial follicle numbers in cisplatin+ acetyl L-carnitine group were higher than those in the cisplatin group, which suggests that acetyl L-carnitine has protective effects.

Key Words: cisplatin, ovarium, acetyl L-carnitin

10. EKLER

10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

22/03/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 86 - 4816
KONU:

Sayın
Prof.Dr.Candan ÖZOĞUL
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi


Araştırmacı grubu Prof.Dr.Candan ÖZOĞUL, Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN, Arş.Gör.Fatma HELVACIOĞLU, Arş.Gör.Seren Gülşen GÜRGEN ve Arş.Gör.Gülce Naz SARAÇ'dan oluşan, G.Ü.ET-10.041 kod numaralı ve "*Deneyel Sisplatin Gonadotoksitesinde Asetil L-Karnitinin Ovaryum Follikül Gelişimindeki Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.041 and entitled "*Evaluation of the protective effects in ovarian follicle developing of Acetyl L-Carnitine on Experimental Cisplatin Gonadotoxicity*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI
KARARLARI KATILIM LİSTESİ**

TOPLANTI TARİHİ : 17.03.2010		TOPLANTI SAYISI : 05
ADI-SOYADI		
Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN		KATILDI
Prof.Dr.Sevim ERCAN		KATILAMADI
Prof.Dr.Nurten TÜRKÖZKAN		KATILDI
Prof.Dr.Tahir HATİPOĞLU		KATILDI
Doç.Dr.Şule COŞKUN CEVHER		KATILDI
Doç.Dr.Mustafa ARK		KATILDI
Uzman Dr.Şeyda DİKER		KATILDI
Arş.Gör. Esra PER		KATILDI
Dr.Kadir BAŞAR		KATILDI
İlknur ALKAN		KATILAMADI

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı



10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI



Sayı : B.30.2.GÜN.0.20 - 9607
Konu :

01/12/2011

Sayın Prof.Dr. Candan Özgül

Proje Yürütücüsü

Üniversitemiz Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 28.11.2011 tarih ve 415-21926 sayılı yazısı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr.Sevcan A. BAKKALOĞLU EZGÜ
Dekan Yardımcısı

10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOMİSYON KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ : 23.11.2011

TOPLANTI NO : 2011/13

KOMİSYON ÜYELERİ: Prof.Dr.Metin AKTAŞ
Prof.Dr.Derviş YILMAZ
Prof.Dr.Bilal TOKLU
Prof.Dr.Fevzi Rifat ORTAÇ
Prof.Dr. Nezahat GÜÇLÜ
Prof.Dr.H.Bolkan ŞİMŞEK
Prof.Dr.Belma ASLİM
Prof.Dr.Ziya KILIÇ
Prof.Dr.Sare SAHİL
Prof.Dr.İnci Rana KARACA
Prof.Dr.Yusuf Kemal KEMALOĞLU
Prof.Dr.Hacı Hasan EFE

10.) Tıp Fakültesi Dekanlığı'nın 12.10.2011 tarih, 8426 sayılı yazısı ve 29.09.2011 tarihli Uzmanlar Grubu kararları incelenerek görüşüldü;

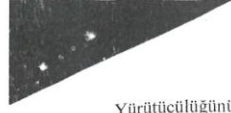
10.1) Aşağıda yürütücüsünün adı ve kod numarası belirtilen projelerin Kesin Rapor'larının uygun olduğuna,

PROF.DR. MEHMET CİNDORUK	01/2010-111	Kesin Rapor
PROF.DR. AYNUR OĞUZ	01/2010-99	Kesin Rapor
PROF.DR. CEMAL ÇEVİK	01/2009-16	Kesin Rapor
PROF.DR. NEVZAT YÜKSEL	01/2009-58	Kesin Rapor
PROF.DR. HAYRUNNİSA BOLAY BELEN	01/2009-41	Kesin Rapor
PROF.DR. SUNA ÖMEROĞLU	01/2010-87	Kesin Rapor
DOÇ.DR. ÇİĞDEM ELMAS	01/2010-05	Kesin Rapor
ÖGR.GÖR.DR. ELVAN ANADOL	01/2008-33	Kesin Rapor

10.2) Aşağıda yürütücüsünün adı ve kod numarası belirtilen projelerin Ara Rapor'larının uygun olduğuna, ⇒

PROF.DR. İBRAHİM BOZKIRLI	01/2010-130	Ara Rapor
DOÇ.DR. İŞİL İREM BUDAKOĞLU	01/2010-48	Ara Rapor
PROF.DR. HATİCE NESRİN SEYHAN	01/2010-62	Ara Rapor
PROF.DR. HAKAN ZENGİL	01/2010-120	Ara Rapor
DOÇ.DR. ÇİĞDEM ELMAS	01/2010-47	Ara Rapor
PROF.DR. SUNA ÖMEROĞLU	01/2010-19	Ara Rapor
PROF.DR. AYSEL ARICIOĞLU	01/2010-52	Ara Rapor
PROF.DR. MAHMUT NEDİM SULTAN	01/2010-90	Ara Rapor
PROF.DR. ADNAN MENEVŞE	01/2010-78	Ara Rapor
PROF.DR. HAKKI ZAFER GÜNEY	01/2010-41	Ara Rapor
PROF.DR. MAHMUT NEDİM SULTAN	01/2010-75	Ara Rapor
PROF.DR. CANAN ULUOĞLU	01/2010-28	Ara Rapor

10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı



- 10.6) Yürütücülüğünü Doç.Dr.İ.Cüneyt KURUL'un yapmakta olduğu 01/2010-04 kodlu projede yardımcı araştırmacı olarak doktora öğrencisi Öğr.Gör.Özge Tuğçe PAŞAOĞLU'nun görev yapmasının uygun olduğuna,
- 10.7) Yürütücülüğünü Doç.Dr.Funda DOĞRUMAN AL'in yapmakta olduğu 01/2011-12 kodlu projeye %20 ek bütçe (2400.-TL) verilerek satın alınamayan 100 test/kutu "Anti-Microsporidal monoklonal antikor " satın alınmasının uygun olduğuna,
- 10.8) Yürütücülüğünü Prof.Dr.Candan ÖZOĞUL'un yapmakta olduğu 01/2010-30 kodlu projede Arş.Gör.Dr.Seda Nur AKYOL'un yardımcı araştırmacı olarak görev yapmasının uygun olduğuna,
- 10.9) Yürütücülüğünü Prof.Dr.Buket DALGIÇ'ın yapmakta olduğu 01/2011-53 kodlu projeye %20 ek bütçe (910.-TL) verilmesinin uygun olduğuna
- 10.10) Yürütücülüğünü Doç.Dr.Gülendam BOZDAYI'nın yapmakta olduğu 01/2011-28 kodlu projeye %20 ek bütçe (2851.-TL) verilmesinin ve "Primer dizileri (0.02 umol standart) 109 baz, Taq DNA polimeraz (500 U) 8 adet, dNTP Mix,10Mm 5 adet, 100 bp DNA Ladder , Ekstraksiyon kiti" satın alınmasının uygun olduğuna,
- 10.11) Yürütücülüğünü Prof.Dr.Banu ÇAYCI SİVRİ'nin yapmakta olduğu 01/2011-59 kodlu,"Migren ve gerilim tipi baş ağrısında tek karbon metabolizması " başlıklı proje başlığının etik kurul Etik Kurul onayı doğrultusunda "Migren ve gerilim tipi baş ağrısında Vitamin B6,Vitamin B12 ve Folik Asit Eksikliğinin Önemi" olarak değiştirilmesinin uygun olduğuna,
- 11.) Tıp Fakültesi Dekanlığı'nın 17.10.2011 tarih, 8618 sayılı yazısı ve 06.10.2011 tarihli Uzmanlar Grubu kararları incelenerek görüldü;
- 11.1) Aşağıda yürütücüsünün adı ve kod numarası belirtilen projelerin Kesin Rapor'larının uygun olduğuna,
- | | | |
|----------------------------------|------------|-------------|
| DOÇ.DR. AYDAN BİRİ | 1/2004-101 | Kesin Rapor |
| DOÇ.DR. AYDAN BİRİ | 01/2002-26 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. HASAN BİRİ | 1/2004-107 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. ABDULKADİR BEDİRLİ | 01/2009-34 | Kesin Rapor |
| DOÇ.DR. MURAT AKIN | 01/2007-64 | Kesin Rapor |
| DOÇ.DR. OSMAN KURUKAHVECİOĞLU | 01/2007-67 | Kesin Rapor |
| DOÇ.DR. AHMET ZİYA ANADOL | 01/2009-53 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. MEHMET OĞUZ | 01/2007-70 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. MUSTAFA CEMRİ | 01/2006-42 | Kesin Rapor |
| DOÇ.DR. METİN YILMAZ | 01/2009-31 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. EKMEL TEZEL | 01/2007-72 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. CELAL ILGAZ | 01/2007-42 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. CEYDA KARADENİZ | 01/2009-27 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. İPEK KIVILCIM OĞUZÜLGEN | 01/2009-57 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. AYŞE SERDAROĞLU | 01/2008-22 | Kesin Rapor |
| PROF.DR. PEYAMİ CİNAZ | 01/2009-48 | Kesin Rapor |

10.2.Deney Hayvanları Kursu Katılım Sertifikası


T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
KATILIM SERTİFİKASI

Sayın *Arç. Gör. Seada Nur AKYOL*

Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından, 21-29 Aralık 2009 tarihleri arasında düzenlenen "Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu 111" ye katılarak Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlanmış ve bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.


Prof. Dr. Nurihan TÜTKÜOĞLU
Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme
ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
Müdürü


Prof. Dr. Gökhan ALPAŞLAN
Deney Hayvanları Etik Kurulu
Başkanı


Prof. Dr. Rıza DOĞRUHAN
Rektör

11. ÖZGEÇMİŞ:

Adı: Seda Nur

Soyadı: Akyol

Doğum yeri ve tarihi: 16.03.1982, Amasya

Eğitimi:

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. 2008 Halen
- Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi 2007
- Amasya Anadolu Lisesi 2000
- Amasya Bahçeleriçi İlköğretim Okulu 1993

Yabancı Dil: İngilizce

Üye olduğu bilimsel kuruluşlar: Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği

Bilimsel Etkinlik

- 1- XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi 16-19 Mayıs 2012 Denizli-Türkiye
- 2- 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Uluslararası Katılımlı, 25-28 Ekim 1011, Kemer-Antalya
- 3- XV. Temel Kök Hücre ve Moleküler Biyoloji Uygulamaları Kursu 09-13.05.2011, Kocaeli
- 4- I. Uluslararası Kök Hücre Sempozyumu 29 Eylül- 01 Ekim 2010, Samsun
- 5- TÜBA 1. Kök Hücre Kursu ve V. Kök Hücre Sempozyumu, 22-24.06.2010, Ankara

- 6- Yayın 1: Kirisci M, Oktar GL, Ozogul C, Oyar EO, Akyol SN, Demirtas CY, Arslan M. Effects of adrenomedullin and vascular endothelial growth factor on ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle in rats. J Surg Res. 2013 Jun 19.
- 7- Yayın 2: Coskun N, Hatipoglu, MT, Ozogul C, Korkmaz C, Akyol SN, Micili SC, Arik GS, Erdogan D. The Protective Effects of Acetyl L-Carnitine on Testis Gonadotoxicity Induced by Cisplatin in Rats Balkan Med J. 2013; 30 :235-241