



**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL HİPERTİROİDİ OLUŞTURULMUŞ  
SIÇAN OVARYUMLARINDA VASA (DDX4) VE  
IFITM3 İMMÜNOLOKALİZASYONLARININ  
BELİRLENMESİ**

**KÜBRA BAŞOL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**SİVAS-2017**

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL HİPERTİROİDİ OLUŞTURULMUŞ  
SIÇAN OVARYUMLARINDA VASA (DDX4) VE  
IFITM3 İMMÜNOLOKALİZASYONLARININ  
BELİRLENMESİ**

**KÜBRA BAŞOL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. SERPİL ÜNVER SARAYDIN**

**SİVAS-2017**

**“Deneyel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçan Ovaryumlarında VASA (DDX4) ve IFITM3 İmmünolokalizasyonlarının Belirlenmesi”** adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji Embriyoloji** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Emel KOPTAGEL

Üye

Prof. Dr. Hüseyin Eray BULUT

Üye (Danışman)

Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

#### ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
SAğLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.



## KATKI BELİRTME/TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana yardımcı olan, tezimin hazırlanmasında büyük desteğini gördüğüm ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN'a, bölümümüzden ayrılmış olsa bile sevgisiyle varlığını hissettiren hocam Prof. Dr. Emel KOPTAGEL'e, yardımlarını esirgemeyen hocalarım; Prof. Dr. Hüseyin Eray BULUT, Prof. Dr. Celal KALOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Z. Deniz ŞAHİN İNAN'a, canım arkadaşım Özlem DELİBAŞ'a ve diğer bölüm arkadaşlarıma, her derdimi paylaşabildiğim, beni hiç yalnız bırakmayan candostum Gamze TAM'a, benim için her türlü fedakarlığı gösteren ve ayaklarımın üzerinde durmamı öğreten canım ablam Esra BAŞOL'a, eğitimim boyunca uzakta olduğum için her dakika özlemlerini duyduğum, maddi ve manevi her konuda yanımda olup sonsuz sabır gösteren ve hayatımı anlamlı kılan biricik aileme çok teşekkür ederim.

# ÖZET

## DENEYSEL HİPERTİROİDİ OLUŞTURULMUŞ SIÇAN OVARYUMLARINDA VASA (DDX4) VE IFITM3 İMMÜNOLOKALİZASYONLARININ BELİRLENMESİ

Kübra BAŞOL

Yüksek Lisans Tezi

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

2017, 63 sayfa

Hipertiroidi, tiroid bezinin aşırı miktarda tiroid hormonu üretimine bağlı olarak ortaya çıkan bir durumdur. VASA; DEAD-box protein ailesinin temel bir üyesi olan ATP'ye bağımlı bir RNA helikazıdır. 1-8U olarak da bilinen interferona bağlı transmembran protein 3 (IFITM3), IFN-indüklenebilir transmembran protein ailesinin önemli üyelerinden biridir. Bu çalışmada VASA (DDX4) ve IFITM3'ün hipertiroidili sıçan ovaryumlarında immüno lokalizasyonları gösterilerek hipertiroidiyle olan ilişkisi incelenmiştir.

Erişkin dişi sıçanlarda hipertiroidi oluşturmak için 21 gün süre ile 250 mcg/kg/gün olmak üzere subkutan enjeksiyon yolu ile L-tiroksin, kontrol grubuna ise serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Sonrasında kardiyak kan alınıp, ötenazi sağlanmış ve ovaryum dokuları toplanmıştır.

VASA'nın hipertiroidili sıçanlarda yoğun olarak oositlerde ve büyüyen foliküllerin teka tabakalarında, IFITM3'ün ise; germinal epitelde ve oositlerde kuvvetli eksprese edildiği görülmüştür. VASA antikorunun bu bölgelerde yoğun olarak eksprese edilmesi, oosit sitoplazmasında bol bulunan mitokondrinin sentezlediği ATP'den dolayı olabilir. Teka tabakasında LH reseptörleri vardır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında büyüyen foliküllerin teka tabakalarında VASA ekspresyonunun artması, hipertiroidinin LH seviyesini artmasından kaynaklanabilir ve hipertiroidinin VASA ekspresyonunu artırdığı söylenebilir. IFITM3; hem tip I hem de tip II IFN ile indüklenebilir. Tip I IFN'ler çoğunlukla dendritik hücreler tarafından üretilir ancak epitel hücreleri gibi hücre tiplerinde indüklenebilir. IFITM3'ün germinal

epitelde eksprese edilmesi, IFN'nin epitel hücrelerinde uyarılmasından kaynaklanabilir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipertiroidili ovaryumda folikül gelişimiyle oosit sitoplazmasındaki ekspresyonun azalması, hipertiroidinin IFITM3 ekspresyonunu azalttığını düşündürebilir.

Sonuç olarak, VASA ve IFITM3 foliküler gelişimde etkili olabilir ve hipertiroidi, VASA ve IFITM3'ün ekspresyonlarını etkiler.

**Anahtar Kelimeler:** VASA (DDX4), IFITM3, ovaryum, hipertiroidi, sıçan



## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF VASA (DDX4) AND IFITM3 IMMUNOLocalIZATION IN EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM IN RAT OVARIES**

Kübra BAŞOL

Master of Sciences Thesis

Department of Histology-Embryology

Supervisor: Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

2017, 63 pages

Hyperthyroidism is the condition that occurs due to excessive production of thyroid hormone by the thyroid gland. VASA is an ATP-dependent RNA helicase that is a key member of the DEAD-box protein family. Interferon-induced transmembrane protein3 (IFITM3), known as 1-8U, is one of the important members of the IFN-inducible transmembrane protein family. In this study, we investigated the relationship between VASA and IFITM3 with hyperthyroidism by showing immunolocalization in hyperthyroid rat ovaries.

L-thyroxine was injected through subcutaneous injection at 250 mcg/kg/day for 21 days to induce hyperthyroidism in adult female rats. The control group was saline injected only. Afterwards, cardiac blood was removed, euthanasia was ensured and ovarian tissues were collected.

It has been shown that VASA is intensively expressed in the oocytes and the theca layers of growing follicles in hyperthyroid rats, IFITM3 is also strongly expressed in the germinal epithelium and oocytes. An intensive expression of VASA in those regions may be due to ATP, which is abundant in mitochondries of oocyte cytoplasm. There are LH receptors in theca layers. The increase of VASA expression in theca layers of growing follicles might be caused by hyperthyroidism that also increase LH level when compared to the control group and it could be said that hyperthyroidism increased the VASA expression. IFITM3 could be induced by both type I and type II IFN. Type I IFNs are mostly produced by dendritic cells but also can be induced in cell

types such as epithelial cells. Expression of IFITM3 in the germinal epithelium may be resulted from the induction of IFN in epithelial cells. Compared to the control group, a decreased expression of IFITM3 of oocyte cytoplasm by developing follicles in the hyperthyroidic ovary suggest that hyperthyroidism might decrease IFITM3 expression.

As a result, hyperthyroidism affects the expressions of VASA and IFITM3 which may be effective in follicular development.

**Key words:** VASA (DDX4), IFITM3, ovary, hyperthyroidism, rat



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

İÇ KAPAK .....	i
ONAY .....	ii
YÖNERGE .....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiv
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Tiroid Bezi .....	3
2.1.1. Tiroid Bezinin Anatomisi .....	3
2.1.2. Tiroid Bezinin Histolojisi .....	4
2.1.3. Tiroid Bezinin Fizyolojisi .....	6
2.1.3.1. Tiroid Hormon Sentezi .....	6
2.1.4. Hipertiroidizm .....	8
2.1.4.1. Hipertiroidi ve İnfertilite .....	9
2.2. Ovaryum .....	10
2.2.1. Ovaryum Anatomisi .....	10
2.2.2. Ovaryum Histolojisi .....	11
2.2.2.1. Ovaryum Foliküllerinin Gelişimi .....	12
2.2.3. Ovariyal Döngü .....	17
2.3. VASA (DDX4) .....	19
2.4. IFITM3 .....	19

<b>3.GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	21
3.1 Biyokimyasal İnceleme .....	21
3.2 Kullanılan Cihazlar .....	22
3.3. Kimyasal Maddeler.....	22
3.4. Doku Preparasyonu.....	22
3.5. Işık Mikroskopi.....	22
3.6. İmmünohistokimya .....	23
3.7. Semikantitatif Skorlama Yöntemi .....	24
3.8. İstatistiksel Yöntem .....	24
<b>4. BULGULAR</b> .....	25
4.1. Biyokimyasal Bulgular .....	25
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	26
4.2.1. Kontrol Grubu VASA Bulguları.....	26
4.2.2. Deney Grubu VASA Bulguları.....	31
4.2.3. Kontrol Grubu IFITM3 Bulguları.....	36
4.2.4. Deney Grubu IFITM3 Bulguları.....	41
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	47
<b>6. SONUÇLAR</b> .....	55
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	56
<b>İZİNLER</b> .....	62
EK 1. Yerel Etik Kurul Kararı.....	62
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	63

## TABLULAR

### Sayfa No

Tablo 1: Deney ve Kontrol Grubuna Ait Serbest T4 Değerlerinin Karşılaştırılması.....	25
Tablo 2: Kontrol ve Deney Gruplarının, VASA ve IFITM3 İmmünohistokimyasal Lokalizasyonlarının Semikantitatif Değerlendirme Tablosu.....	46



## ŞEKİLLER

### Sayfa No

Şekil 1: Tiroidin Anatomik Yapısı .....	4
Şekil 2: Tiroidin Histolojik Yapısı .....	6
Şekil 3: Tiroksin (T4) Kimyasal Yapısı .....	7
Şekil 4: Triiyodotironin (T3) Kimyasal Yapısı .....	7
Şekil 5: Ovaryumun Anatomik Yapısı .....	11
Şekil 6: Ovaryumun Histolojik Yapısı .....	12
Şekil 7: Folikül Yapıları .....	16
Şekil 8: Deney ve Kontrol Grubunun Serbest T4 Değerleri .....	25
Şekil 9: Kontrol Grubu Ovaryumda VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	27
Şekil 10: Kontrol Grubu Germinal Epitel Tabakasında VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	27
Şekil 11: Kontrol Grubu Primordiyal Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	28
Şekil 12: Kontrol Grubu Primer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	28
Şekil 13: Kontrol Grubu Sekonder Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	29
Şekil 14: Kontrol Grubu Tersiyer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	29
Şekil 15: Kontrol Grubu Corpus Luteumda VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	30
Şekil 16: Kontrol Grubu Medulla Bölgesinde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	30
Şekil 17: Deney Grubu Ovaryumda VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	32
Şekil 18: Deney Grubu Germinal Epitel Tabakasında ve Primordiyal Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	32
Şekil 19: Deney Grubu Primer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	33
Şekil 20: Deney Grubu Sekonder Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	33
Şekil 21: Deney Grubu Tersiyer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	34
Şekil 22: Deney Grubu Corpus Luteumda VASA İmmüno­lokalizasyonu .....	34

Şekil 23: Deney Grubu Medulla Bölgesinde VASA İmmüno­lokalizasyonu ...	35
Şekil 24: Kontrol Grubu Ovaryumda IFITM3 İmmüno­loklizasyonu.....	37
Şekil 25: Kontrol Grubu Germinal Epitel Tabakasında IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu .....	37
Şekil 26: Kontrol Grubu Primordiyal Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu .....	38
Şekil 27: Kontrol Grubu Primer Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu ....	38
Şekil 28: Kontrol Grubu Sekonder Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu	39
Şekil 29: Kontrol Grubu Tersiyer Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu..	39
Şekil 30: Kontrol Grubu Corpus Luteumda IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu...	40
Şekil 31: Kontrol Grubu Medulla Bölgesinde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu	40
Şekil 32: Deney Grubu Ovaryumda IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu .....	42
Şekil 33: Deney Grubu Epitel Tabakasında IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu...	42
Şekil 34: Deney Grubu Primordiyal Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu .....	43
Şekil 35: Deney Grubu Primer Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu .....	43
Şekil 36: Deney Grubu Sekonder Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu..	44
Şekil 37: Deney Grubu Tersiyer Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu....	44
Şekil 38: Deney Grubu Corpus Luteumda IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu.....	45
Şekil 39: Deney Grubu Medulla Bölgesinde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu .	45

## KISALTMALAR/SİMGELER

<b>A</b>	Antrum
<b>ATİ</b>	Anti-Tiroid İlaçlar
<b>ATP</b>	Adenozin Trifosfat
<b>CO</b>	Cumulus Oophorus
<b>CR</b>	Corona Radiata
<b>DIT</b>	Diiyodotirozin
<b>E</b>	Epitel
<b>E2</b>	Östradiol
<b>FSH</b>	Folikül Uyarıcı Hormon
<b>GH</b>	Granüloza Hücreleri
<b>GL</b>	Granüloza Lutein Hücreleri
<b>IFITM</b>	İnterferonla Uyarılmış Transmembran Proteini
<b>K</b>	Korteks
<b>KD</b>	Kan Damarı
<b>LH</b>	Lüteinizan Hormon
<b>M</b>	Medulla
<b>MIT</b>	Monoiyodotirozin
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentaz

<b>nNOS</b>	Nöronal NOS
<b>OSC</b>	Oogonial Kök Hücreler
<b>PAS</b>	Periodic Acid Schiff
<b>PFH</b>	Primer Folikül Hücreleri
<b>PGC</b>	Primordial Germ Hücreleri
<b>PO</b>	Primer Oosit
<b>PTU</b>	Propiltiyoürasil
<b>SHBG</b>	Seks Hormonu Bağlayıcı Globulin
<b>SO</b>	Sekonder Oosit
<b>TA</b>	Tunika Albuginea
<b>TDF</b>	Teka Differensiyasyon Faktörleri
<b>TE</b>	Teka Eksterna
<b>Tİ</b>	Teka İterna
<b>TL</b>	Teka Lutein Hücreleri
<b>TRAb</b>	TSH Reseptörüne Karşı Oluşan Antikorlar
<b>TR<math>\alpha</math>1</b>	Tiroid Hormon Reseptör Alfa 1
<b>TR<math>\alpha</math>2</b>	Tiroid Hormon Reseptör Alfa 2
<b>TR<math>\beta</math>1</b>	Tiroid Hormon Reseptör Beta 1
<b>TSH</b>	Tiroid Stimülan Hormon
<b>T3</b>	Triiyodotironin
<b>T4</b>	Tirotksin
<b>ZP</b>	Zona Pellucida

**ZP1** Zona Pellucida 1

**ZP2** Zona Pellucida 2

**ZP3** Zona Pellucida 3



## 1.GİRİŞ

Ovaryumlar, boyu yaklaşık 3 cm, eni 1,5 cm ve kalınlığı 1 cm olan badem biçiminde yapılardır. Yüzeyleri tek katlı yassı ya da kübik epitel ile kaplıdır; bu epitel germinal epitel olarak adlandırılır. Germinal epitelin altında, ovaryumun beyazımsı rengini veren ve tunika albuginea olarak adlandırılan bir bağ dokusu bulunur. Tunika albugineanın altında oositleri içeren ovaryum foliküllerinin bol miktarda bulunduğu dış kısımda (kortikal bölge) yer alır. Foliküller, kortikal bölgenin bağ dokusu (stroma) içinde gömülüdür. Ovaryumun en iç kısmı gevşek bağ dokusu içinde zengin bir damar yatağı içeren medüller bölgedir (1).

Tiroid hormonları vücutta başta cinsiyet hormonları olmak üzere, tüm hormonlarla etkileşim halindedir (2). Üreme çağındaki kadınlarda, ikinci sıklıkta gözlenen endokrinolojik bozukluk tiroid hastalıklarıdır (3). Hipertiroidizm tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte kadınlarda daha sık görülen endokrin bir rahatsızlıktır. Hiperaktif tiroid bezinden salgılanan hormonların artmasıyla oluşan klinik durumdur. Kilo kaybı, artmış kalp hızı, ritim bozuklukları, uyku bozuklukları, iştah artışı, gerginlik, çabuk sinirlenme, titreme, terleme, sıcak intoleransı, menstrüel döngüde ve barsak peristaltizminde değişiklikler, deride incelme, saçlarda incelme ve parlaklık artışı gibi birçok sistemi ilgilendiren klinik bulgular hastalığı işaret edebilir. Laboratuvar tanısı genellikle tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) artması ile tiroid stimulan hormonun (TSH) azalması ile konulur. Hipertiroidizmin en sık nedeni Graves Hastalığı'dır (4). Hipertiroidizm kadınlarda erkeklere oranla yaklaşık on kat daha fazla görülmektedir. Bu durum bazı kadınlarda hem gebe kalamama sorununa, hem de gebe kalınsa bile düşüklere neden olabilir (2).

VASA geni (DDX4 olarak da adlandırılır), türler arasında oldukça korunmuştur. Sinek, solucan, kurbağa, fare ve insan gibi çeşitli model organizmalarda özellikle eşey hücre öncüllerinde eksprese edilir. VASA, ATP'ye bağımlı RNA helikazlı DEAD-box ailesinden bir üyeyi kodlar; protein sitoplazmikdir. VASA proteininin hücresel fonksiyonu belirsizliğini korumasına rağmen, DEAD (asp-glu-ala-asp)-box protein ailesinin bir üyesi olarak VASA; farklı hedef RNA'ların düzgün şekilde katlanması ve

translasyonel düzenlemeyi sağlamak için bir koruyucu olarak görev yapabilir (5). Germ hücresi spesifikasyonunda DDX4'ün rolü konusunda çok az şey bilinmesine rağmen, primordial germ hücrelerinin (PGC) belirlenmesinde en eski belirteçlerinden biri olarak kabul edilir ve taksonlar arasında, özellikle memelilerde oldukça korunmuştur (6).

İnterferonla uyarılan transmembran proteinleri (IFITM); immünolojik ve gelişimsel rolleri olan küçük membran proteinlerinin bir ailesidir. İnsanlarda IFITM1, IFITM2, IFITM3, IFITM5 ve IFITM10 olmak üzere beş IFITM çeşidi tanımlanmıştır (7). İnterferon kaynaklı transmembran proteini ailesi (IFITM /MIL/Fragilis) genleri, hücre adezyonunu düzenleyebilen ve hücre farklılaşmasını etkileyebilen hücre yüzeyi proteinlerini kodlar. PGC'de ifade edilen IFITM1 ve IFITM3, germ hücre gelişiminde rol oynarlar, ancak spesifik fonksiyonları belirsizdir (8). İlk çalışmalar IFITM1, IFITM2 ve IFITM3'ün gelişme, apoptoz, hücre çoğalması ve hücre sinyallemesinde olası rollerini tanımlamıştır (9).

Bu çalışmada VASA (DDX4) ve IFITM3'ün hipertiroidili sıçan ovaryumlarında immunolokalizasyonları gösterilerek hipertiroidi ile olan ilişkisi incelenecektir. Çalışmamızda kullandığımız antikorlarımız (VASA ve IFITM3) folikül gelişiminde rol oynadığı için ve diöstrus evresi de foliküler gelişimin tekrar başladığı evre olduğu için bu evrede çalışmayı tercih ettik. Ayrıca tiroid hormonlarının folikül yapısında etkili olabileceği ihtimali de bu evrede çalışmamızın bir nedenidir. VASA ve IFITM3 moleküllerinin hipertiroidili sıçan ovaryumlarındaki rollerinin belirlenmesi, büyüme, embriyogenez, hücre çoğalması süreçlerini açıklayabilir. Ayrıca, hipertiroidinin üreme üzerine olumsuz etkileri izlenebilir ve hastalıkların daha iyi anlaşılması ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde de yardımcı olabilir. Bu çalışmanın amacı hipertiroidinin sıçan ovaryumunda VASA ve IFITM3 ekspresyonuna etkisinin olup olmadığını belirlemektir. Literatürde bu zamana kadar VASA ve IFITM3'ün hipertiroidili sıçan ovaryumunda ekspresyonunu inceleyen başka bir çalışma bulunmamaktadır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Tiroid Bezi

#### 2.1.1 Tiroid Bezinin Anatomisi

Tiroid bezi; C5-T1 vertebralar seviyesinde, m.sternohyoideus ve m.sternothyroideus'un derininde yer alan kırmızımsı kahve renkli, ağırlığı yaklaşık olarak 25-30 g arasında olan bir endokrin organdır. Yenidoğanda ortalama 1,5 g ağırlığındadır (10). İnsanda ve diğer memelilerde, tiroid bezi soluk borusunun her iki yanında yer alan iki parçadan oluşur (11). İki lob aralarındaki isthmus adı verilen bir bağlantı ile ilişkidirler. İstmusun orta kısmından yükselen küçük bir piramidal lob bulunur (12).

**Isthmus glandula thyroidea:** Her iki lobu alt kısımlarla birleştirir. Ortalama olarak 1.25 cm uzunluğundadır. Yetişkinlerdeki seviyesi 2-4. tracheal halkalar düzeyindedir. Çocuklarda ise bu seviye 1-3. tracheal halkalardır. Önde m. sternohyoideus, v. jugularis anterior, deri ve fascia ile komşudur. Lamina pretrachealis ile m. sternothyroideus'tan ayrılmıştır. Isthmusun üstünde yer alan küçük thyroid dokusu kümelerine gld. thyroidea accessoria denir.

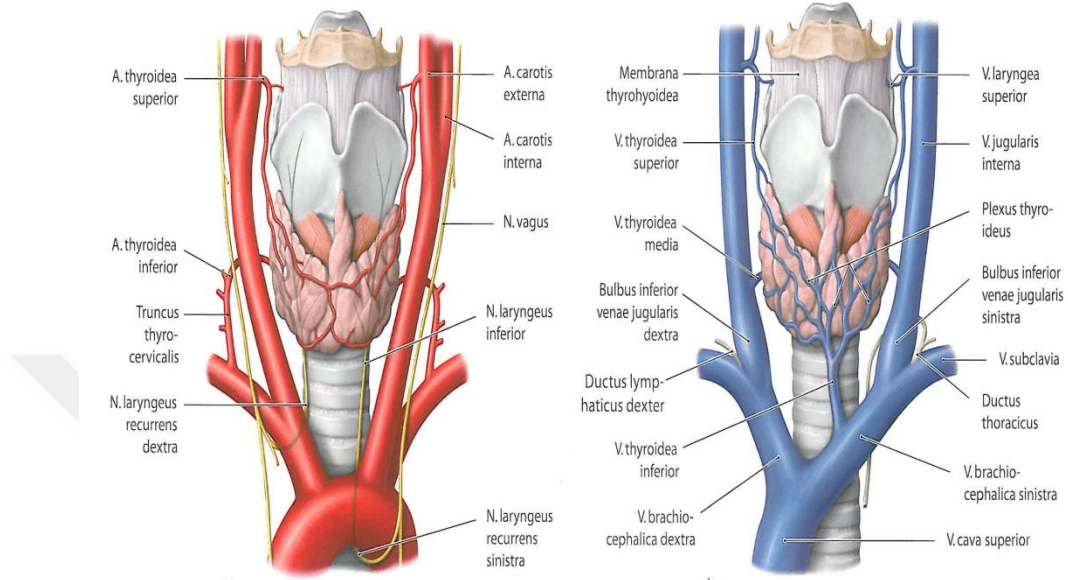
**Lobus pyramidalis:** %25-30 vakada isthmus'tan hyoid kemiğe doğru 3. bir lob uzanır ki buna lobus pyramidalis denir. Bu lobu hyoid kemiğine bağlayan fibromusküler yapıya ise m. levator gld. tyhroidea denir. Bu yapı bazen fibröz bir demet şeklinde olabilir (13).

Tiroid; kendi salgılarını depolama özelliğine sahip olup bol damarlı bir organdır (10). Arteriyel kanı, a. thyroidea superior ve a. thyroidea inferior yolu ile alır. Bazen (%10 olguda), a. thyroidea ima olarak adlandırılan küçük bir arter daha beze ulaşır. Tiroid venleri, gerçek kapsülün derininde, bezin yüzeyinde venöz bir ağ oluştururlar. Tiroid venlerinin seyri arterleri takip etmez. V. thyroidea superior ve media, v. jugularis interna'ya; v. thyroidea inferior'lar, trachea'nın önünden aşağı doğru uzanarak v. brachiocephalica sinistra'ya dökülürler. Sıklıkla, çift olan inferior tiroid venler, trachea'nın önünde birleşerek, tek bir ven olarak v. brachiocephalica sinistra'ya dökülür.

Tiroid; boyun servikal sempatik ganglionlardan gelen postganglioner sempatik lifler tarafından innerve edilir (14).



Kadınlarda daha ağır olup menstruasyon ve gebelik döneminde büyüme gösterir. Bezin ağırlığı ayrıca beslenme şekline, kişiye, coğrafi duruma, mevsime göre de değişkenlik gösterir (10).



Şekil 1. Tiroidin Anatomik Yapısı (15)

### 2.1.2 Tiroid Bezinin Histolojisi

Tiroid; birbirine istmus adı verilen bölümlerle bağlı iki lobdan oluşur. İstmus da tiroid dokusundan ibarettir. Lobları, servikal fasiyanın devamı olan fibröz bağ dokusundan bir kapsül kuşatır (16). Organı çevreleyen kapsülden ayrılan trabeküla, bezin içine girerek organa fiziksel destek sağlar, damarların ve sinirlerin geçiş yerlerini oluşturur (17).

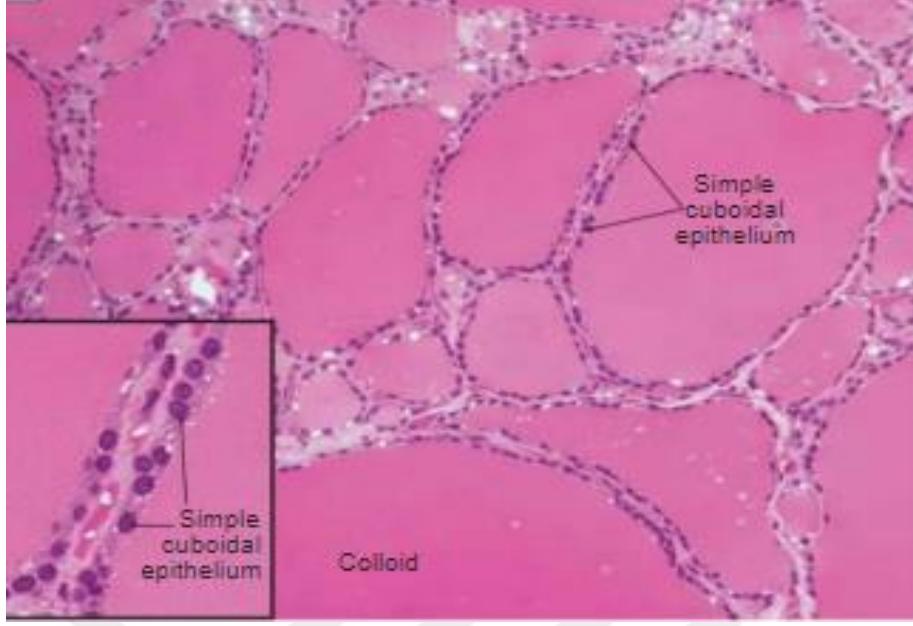
Parankima tek katlı bir epitelle döşeli kistik yapılar olan tiroid foliküllerinden, interstisyel bağ dokusundan, pencere kan kapillerleri ve lenf kapillerlerinden oluşur. Tiroid folikülleri yuvarlak, oval veya poligonal şekilli kistik yapılardır. Follikül epiteli adı verilen tek katlı epitel ile döşelidirler. Follikülü döşeyen hücrelerin apikal yüzleri lümeninde yer alan kolloid ile, bazal yüzleri bazal membran ile temas halindedir (16). Kolloid; foliküllerin lümeninde toplanan salgı maddesidir. Jöle kıvamında, homojen görünüştedir. Asidik ya da bazik boyanabilir. Bu olgu işlevsel durumuna göre protein

yoğunluğunun değişmesinden kaynaklanır. PAS ile pozitif reaksiyon verir. Bu, glikoprotein yapısı nedeniyledir (18).

Folikül epitel sentez aktivitesine bağlı olarak değişiklik gösterir. Aktif olmayan folliküllerin epitel, tek katlı yassı epitel özelliğindedir, aktif sentez yapan folliküllerde tek katlı prizmatiktir. Klasik olarak follikül epitel tek katlı kübiktir. Hücrenin ortasında yer alan oval şekilli ökromatik nükleus ve bir-iki nükleolus içerir. Sitoplazma hafif bazofilik boyanır. Elektron mikroskopik düzeyde follikül epitel hücrelerinin lümene bakan apikal yüzlerinde mikrovilluslar gözlenir, bazal yüzleri bazal membranla sınırlıdır. Hücreler bağlantı kompleksleri ile birbirine bağlıdır, aktif sentez, sekresyon ve absorpsiyon yapan hücre özelliği gösterirler. Organelden zengin hücrelerdir (16).

Folikül hücrelerine ilaveten tiroid bezinde daha büyük parafoliküler hücreler de vardır. Bu hücreler folikül hücreleri arasında folikül duvarının dış kısmında, ya tek tek bulunurlar ya da folikül dışında gruplar yaparlar. Folikül hücrelerine göre daha büyük, açık renk boyanan hücrelerdir. Sitoplazmalarında salgı granülleri vardır. Kalsitonin salgırlar. Bu hücrelere C hücreleri de denir (18). Rutin H&E preparatlarında C hücreleri soluk boyanırlar ve tek tek ya da küçük gruplar halinde görülürler. İnsan parafoliküler hücrelerini ışık mikroskobu ile tanımlamak zordur. Elektron mikroskobu düzeyinde parafoliküler hücreler çok sayıda küçük, 60-550 nm aralığındaki çaplarda sekretuar veziküller ve belirgin Golgi aygıtı sergiler (19).

Tiroid follikülünün epitel hücreleri embriyolojik olarak endodermden köken alır. Parafoliküler hücreler ise nöral krista kökenli hücrelerdir (16).



Şekil 2. Tiroidin Histolojik Yapısı (20)

### 2.1.3 Tiroid Bezinin Fizyolojisi

#### 2.1.3.1 Tiroid Hormon Sentezi

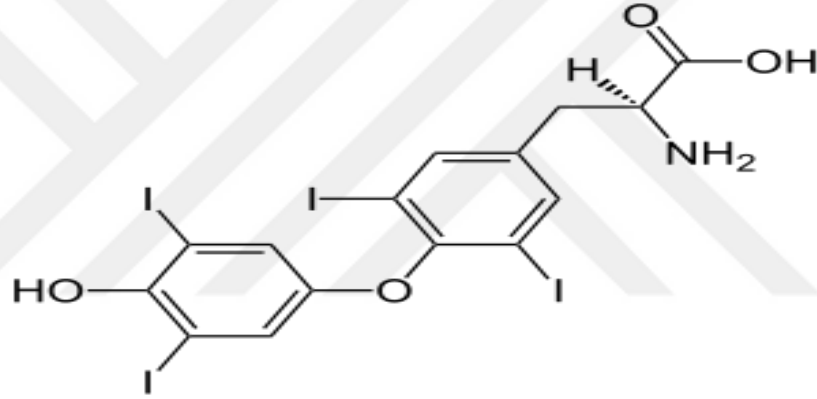
Tiroid bezi, fizyolojik olarak önemli iyot içeren 2 molekül (4 iyot içerdiği için T4 diye adlandırılan Tiroksin, 3 iyotlu T3 Triiyodotironin) üretir. Follikül hücreleri, tiroid hormon sentez ve salgısının hemen her fazına katkıda bulunur (21). İyot foliküler hücrelerce sodyumla beraber aktif olarak alınır. Pompa aktivitesi ekstrasellüler sıvı iyot konsantrasyonundan etkilenir. Düşük iyot konsantrasyonunda pompa aktive olurken, yüksek iyot konsantrasyonunda pompa inhibe olmaktadır. Bu inhibisyona Wolf Chaikoff etkisi denmektedir (22).

Tiroid bezinde iyot tutulduktan sonra olasılıkla peroksidaz enzimiyle katalizlenen bir reaksiyonla iyodine okside edilir. Daha sonra tirozin amino asidine bir yada iki iyot bağlanarak monoiyodotirozin (MIT) ya da diiyodotirozin (DIT) oluşturulur. İki DIT molekülü T4'ü, bir DIT ve bir MIT ise T3'ü oluşturur (23).

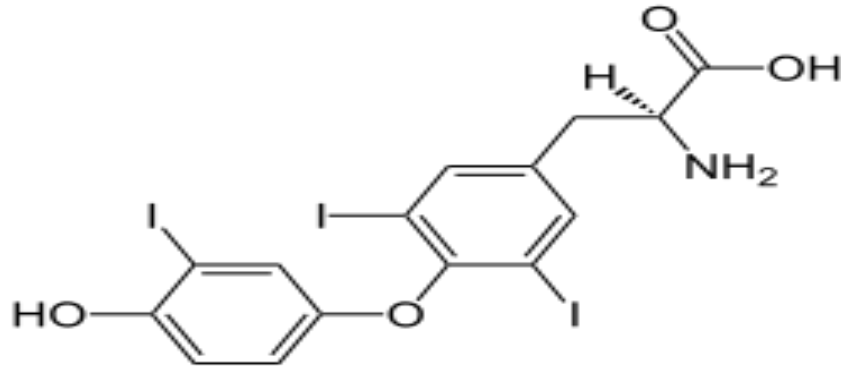
Kanda tiroid hormonuna gereksinim olduğunda folliküler hücrenin kolloide bakan yüzündeki membranların uzaması ile bir miktar kolloid endositozla hücre içine alınır. Birleşmiş MIT ve DIT'leri ile tiroglobulin hücre

içinde lizozomla birleşir. Tiroglobulinin proteolizi ile T3 ve T4 serbestlenir, folliküler hücreden hücreler arası sıvıya difüze olur ve oradan da kana geçer (21).

Tiroid hormonlarının sentezi, lümene salgılanması ve lümeden kana taşınması hipofizden salınan tiroid stimulan hormonunun (TSH) kontrolü altındadır. Tiroid hormonları kanda büyük ölçüde tiroksin bağlayan proteinle taşınır. Hücre metabolizmasını düzenleyen en önemli hormonlardır. Tiroid hormonlarının normal seviyenin altına düşmesi **hipotiroidizm**, normal seviyenin üzerine çıkması **hipertiroidizm**, olarak isimlendirilen klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olur. Her durumda pek çok sistemin fonksiyonunu bozarak yaşamsal faaliyetlerini etkiler (16).



Şekil 3. Tiroksin (T4) Kimyasal Yapısı (24)



Şekil 4. Triiyodotironin (T3) Kimyasal Yapısı (25)

#### 2.1.4 Hipertiroidizm

Hipertiroidizm, tiroid bezi fonksiyonundaki artışa bağlı olarak tiroid hormonu salgılanmasında artışla ortaya çıkar. Dolaşımdaki tiroid hormon düzeylerinin artması sonucu oluşan hipermetabolik durum tirotoksikoz olarak değerlendirilir. Tiroid salgısındaki artışın nedenleri Graves Hastalığı, toksik nodüler guatr, toksik tiroid adenomu, santral sinir sistemi hastalıkları ve tiroid stimulan hormon (TSH) artışı olabilir. Teşhis T3 ve T4 artışıyla birlikte TSH azalması veya ölçülememesi ile konur. Tiroid antikorları yükselmiştir (26). Hipertiroidizmlili hastaların çoğunda tiroid bezi normalin iki üç katına kadar büyür; çok fazla hiperplazi oluşur ve folliküllerin hücrelerin içine doğru katlantılar oluşturması nedeniyle hücre sayısındaki artış bezin büyüklüğündeki artıştan birkaç kat daha fazla olur. Ayrıca her hücre kendi salgılama hızını da birkaç kat artırır (27).

Hipertiroidizmlili hastalarda tesbit edilen bulgular; bazal metabolizma ve birçok sistem fonksiyonlarında hızlanma, taşikardi, atriyel fibrilasyon, nabız basıncı artışı, tremor, terleme, sinirlilik, diyare, kilo kaybı, uykusuzluk, bitkinlik, hiperrefleksi, saç dökülmesi ve sıcak intoleransdır. Tiroid bezi genellikle büyümüştür. Laboratuvar bulgularında; primer neden tiroide olduğu zaman: artmış total ve serbest T4, artmış total ve serbest T3, artmış T3 uptake, normal tiroksin bağlayıcı globülin (TBG) ve azalmış TSH görülür (28). Genç hastalar belirgin tirotoksikozu nispeten iyi tolere ederken yaşlılarda sıklıkla kalp damar belirtileri, depresyon ve 'duyarsız hipertiroidizm' olarak adlandırılan uyuşukluk ve halsizlik şikayetleri görülür (29).

Hipertiroidi, zamanında teşhis ve tedavi edilmezse kalpte ciddi ritim bozukluğuna, kalp yetmezliğine yol açabilir. Kanda T3 ve T4 hormonlarının aşırı yükselmesi tiroid krizine ve buna bağlı ölüme neden olabilir. Tedavide üç seçenek vardır: İlaç, radyoaktif iyot tedavisi veya cerrahi tedavi. Graves hastalığının tedavisinde ilk olarak, tiroid hormonlarının seviyesini düşüren ilaçlara başlanır. Bundan fayda görmeyen hastalarda radyoaktif iyot kullanılır. Radyoaktif iyot ağız yoluyla alındıktan sonra mide ve bağırsak sisteminden emilerek, tiroid hücreleri tarafından tutulur. Tiroid bezinde yoğunlaşan radyoaktivite, hücrelerin işlevini engelleyerek T3 ve T4 hormonlarının

üretimini düşürür. İyodu tutma yeteneği olmadığı için vücuttaki diğer organlar radyoaktiviteden etkilenip zarar görmezler. İlaç veya radyoaktif iyot tedavisine cevap vermeyen hastalarda cerrahi yöntemle tiroid bezinin bir kısmı çıkartılır (30).

#### **2.1.4.1 Hipertiroidi ve İnfertilite**

Tiroid hastalıkları üreme çağındaki kadınlarda görülen endokrin bozukluklar arasında ikinci sırada yer almaktadır. Tiroid fonksiyon bozuklukları infertilite, önemli gebelik komplikasyonları ve fetüs ve yenidoğanda ciddi problemlere yol açabilir (31).

Hipertiroidi sıklığı toplumda %1-5 arası değişmektedir. Adet düzensizlikleri hipertiroidisi olan kadınlarda %60-65 arasındadır. Bu tablo sıklıkla gebe kalmaya engel teşkil edecek güçte değildir. Zira ovulasyon daha az etkilenmektedir. Ancak gebelik başladığında aktif olan bir hipertiroidi hem fetus hem de gebe için çok ciddi riskler yaratabilecek bir hastalık haline dönüşebilmektedir. Bunda hipertiroidinin en sık rastlanan sebebi olan Graves hastalığı isimli otoimmün tiroidit tablosunun gebelik hormonları etkisiyle güç kazanmasının rolü büyüktür (32).

Tedavi edilmeyen veya yetersiz tedavi alan hipertiroidi olgularında düşük, pre-eklampsi, erken doğum, fetal gelişme geriliği ve ölü doğum gibi komplikasyonların sıklığının arttığı bildirilmiştir. Ayrıca uygun tedavi edilmeyen ağır olgularda, konjestif kalp yetmezliği ve pulmoner ödem gibi yaşamı tehdit eden durumlara yol açabilen tiroid fırtınası atakları gelişebilir. Hipertiroidi tedavisinde propiltiyourasil (PTU) veya karbimazole grubu anti-tiroid ilaçlar (ATİ) kullanılmaktadır. ATİ'ler fetus için teratojenik etkiye sahip değildir. Basedow-Graves hastalığında hipertiroidinin nedeni TSH reseptörüne karşı oluşan antikorların (TRAb) tiroidi uyarmasıdır. Basedow-Graves hastalığı, maternal TSH uyarıcı antikorların veya annenin kullandığı anti-tiroid ilaçların plasentadan geçişi nedeniyle fetus ve yenidoğanda da tiroid fonksiyon bozukluklarına yol açabilir (31).

Hipertiroidizmde, seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) ve östradiol serum düzeyleri, ötiroidik kadınlara oranla artmış olabilir. Çoğu durumda yan etkilerinin azlığından dolayı tercih edilen ilaç metimazol olacaktır. İlaç iyot

organifikasyonunu inhibe eder ve T4 ve T3 üretimi azalır. Oral doz günde 10-20 mg'dır. Etki başlangıcı ise yaklaşık 2 ile 4 hafta sürer (33).

## **2.2 Ovaryum**

### **2.2.1 Ovaryum Anatomisi**

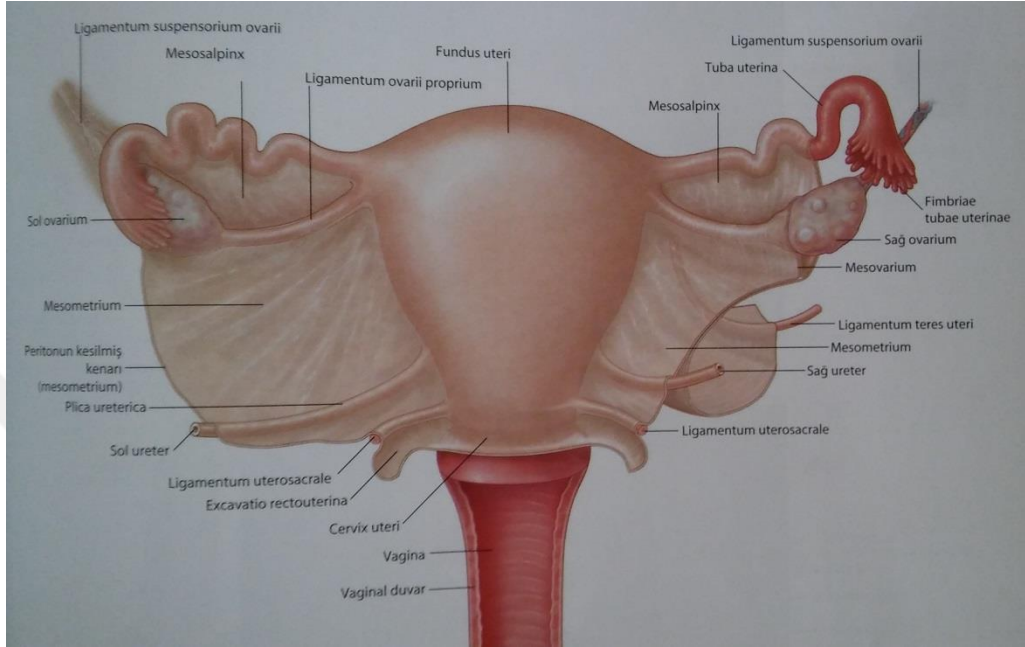
Ovaryumlar, pelviste ligamentum latum'un arkasında yerleşmiş çift ve simetrik organlardır. İki badem şeklindedirler (11).

Ovaryumlar doğurmamış kadınlarda, küçük pelvisin dış yan duvarlarındaki fossa ovarica'larda yer alır. Fossa ovarica'nın sınırları şöyledir: Lig. latum uteri'nin arkasında olarak yukarıda vasa iliaca externa; arkada vasa iliaca interna ve üreter; önde oblitere umbilikal arter ile sınırlanır. Tabanında a. ve v. oblutoria ve n. obturatorius bulunur. Doğurmuş kadınlarda konumları sabit değildir. Hamilelikte, uterusun büyümesine paralel olarak karın boşluğuna geçen ovaryumlar, doğumdan sonra uterusun küçülmesi ile pelvis boşluğuna tekrar dönerler fakat buradaki konumları değişmiştir. Sıklıkla rektouterin çıkmazda, rektumun iki yanında 'Claudius çukuru' olarak adlandırılan yerlere otururlar (14).

Erkeklerde testislerin homoloğu olup, ovum'un yapılmasını sağlar. Ovaryumlar 3 cm uzunluğunda, 1,5 cm genişliğinde, 1 cm kalınlığında ve 4-6 g ağırlığındadır (13).

Her ovaryumun iki yüzü (facies medialis/lateralis), iki kenarı (margo mesovaricus - ön; margo liber - arka), iki ucu (extremitas tubaria – lateral; extremitas uterina – medial) vardır. Yönü oblitere a. umbilicalis'e dönük olan margo mesovaricus (ön kenar) düz olup, kısa bir peritoneal plika olan mesovarium ile lig. latum uteri' ye bağlanır (14). Üst ucuna fimbria ovarica ve lig. suspensorium ovarii tutunur. Bu bağ içinde a. v. ovarica ile plexus ovaricustan gelen sinirler bulunur. Alt uçtan başlayan lig. ovarii proprium (uteroovaricum) uterusun dış köşesine yapışır. Ön kenarda damar ve sinirlerin girip çıktığı hilum ovarii yer alır. Buraya lig. mesovarium ile lig. latum uteri tutunur. Peritonla örtülü değildir. Ovaryumları yerinde tutan oluşumlar; lig. ovarii proprium (uteroovaricum), lig. suspensorium ovarii ve lig. mesovariumdur.

Ovaryumun iç yapısı; dışta korteks ovarii, içte medulla ovarii olmak üzere iki tabakaya ayrılır. Kortekste foliküller bulunur. Medulla çok sayıda damar ve elastik lif içerir (13).



Şekil 5. Ovaryumun Anatomik Yapısı (34)

### 2.2.2. Ovaryum Histolojisi

Ovaryumun yüzeyini tek katlı kübik, yer yer tek katlı yassı bir epitel olan germinal epitel döşer. Germinal epitelin altında tunika albuginea olarak isimlendirilen sıkı bağ dokusu tabakası yer alır (16). Bu bağ doku çeşitli yönlerde farklılaşma yeteneğinde olan hücreler içerir. Bu hücreler hem fibroblast, hem düz kas hücresi özelliği gösterir ve hormon sentezleyen hücrelere farklılaşabilirler (35).

Ovaryum dışta korteks, içte medulla olmak üzere iki bölümden oluşur. Histolojik özellikleri birbirinden farklı olan bu iki bölüm arasında keskin bir sınır bulunmaz (16).

Medulla, kollajen demetlerden ve elastik lif ağlarından yapılmış oldukça sıkı bir bağ dokusu içinde, kan ve lenf damarları, kalın sinir demetleri ve hilum yakınında birkaç düz kas hücresi içerir (18). Ayrıca medullada interstisyel



hücreler ve kromaffin hücre gruplarına rastlanır. Korteks veya kortikal bölge ovaryumun perifer bölgesidir. Ovaryumun folikülleri ve zengin bağ dokusu hücrelerini içerir. Ayrıca yaygın düz kas fibrilleri foliküller etrafında ve stromada yer alır (36). Kortekste pubertadan önce sadece primordiyal folliküller izlenirken, pubertadan sonra primer, sekonder ve tersiyer foliküllere rastlanır. Seksüel olgunluk döneminde folliküllerden başka, folliküllerden gelişen korpus luteum ve atretik folliküller de görülür (16).



Şekil 6. Ovaryumun Histolojik Yapısı (37)

#### 2.2.2.1 Ovaryum Foliküllerinin Gelişimi (Folikülogenezis)

Gelişim evrelerine göre histolojik olarak 3 temel tip ovaryum folikülü tanımlanabilir:

- Primordiyal foliküller,
- Büyümekte olan foliküller, primer ve sekonder (ya da antral) folikül olarak alt gruplara ayrılmaktadırlar,
- Olgun ya da Graaf folikülleri (19).

#### **Primordiyal Foliküller**

Primordiyal foliküller ilk olarak fetal gelişimin üçüncü ayında ortaya çıkarlar. Primordiyal erken gelişimi gonadotropin stimülasyonundan bağımsızdır. Olgun

ovaryumda primordiyal foliküller korteks stromasında tunika albugineanın hemen altında yer almaktadırlar (19). Folikül hücreleri yassı ve tek bir sıra halinde oositi çevreler. Oositin çapı 30 µm kadardır. Nukleus, yaygın bir kromatine, bir veya daha fazla geniş nukleolusa sahiptir (36).

Oositin ooplazma adı verilen sitoplazması bir Balbiani cisimciği içermektedir. Ultrastrüktürel düzeyde Balbiani cisimciği Golgi membranlarının ve veziküllerinin, endoplazmik retikulumun, birçok mitokondriyonun ve lizozomların birlikte oluşturduğu bir kümedir. Ek olarak insan oositleri anüler lameller içerirler ve küçük, küre şekilli mitokondriyonlarla birlikte çok sayıda küçük vezikül sitoplazmada dağılmış halde bulunur. Anüler lameller, bir nükleer zarf kesitleri dizisidir. Dizideki her tabaka por yapıları içerir ve bunlar morfolojik olarak nükleer porların yapısıyla özdeşirler (19).

### **Primer Foliküller**

Primer oosit, nukleusu belirgin olarak görülen eksantrik bir çekirdeğe sahiptir (17). Oosit büyüdükçe nukleusu hücrenin geniş bir alanını kaplar, iri bir nukleus oluşur. Oosit çapı 50-80 µm kadardır. Oosit, glikozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden zengin amorf bir madde olan zona pellucidayı oluşturma özelliğindedir. Bu sekresyona folikül hücreleri de katılır. Oosit sitoplazması; mitokondriler, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, granüler endoplazmik retikulum, ribozomlar, küçük veziküller, mikroveziküler cisimler, lipid damlaları ve lipokrom pigmenti içerir (36).

Primer oositi bir sıra yassı epitel hücrelerinin oluşturduğu foliküler hücreler çevreler (17). Folikül hücreleri yassıdan izoprizmatik şekile kadar dönüşmüştür (36). Bu hücrelerin dış yüzeyi üzerinde uzanan ince bir bazal lamina, bu hücreleri çevredeki bağ dokusunu stromadan ayırır. Folikülün dışındaki stromal hücrelerin oluşturduğu teka foliküli de iki kata ayrılır: içte, salgı yapan hücrelerden oluşan teka interna; dışta, fibroblast benzeri hücreler içeren bağ dokusundan oluşan teka eksterna (18). Puberteden sonra menstrual sikluslar sırasında her ay yaklaşık 20 primordiyal folikül aktive olur. Bunlardan genellikle bir tanesi dominant duruma gelir ve primer folikül olmak üzere bir sonraki gelişimsel evreye geçer (17).

İnsandaki zona pellucida, sülfatlı üç asidik zona pellucida (ZP) glikoproteinleri sınıfından meydana gelmektedir ve bu glikoproteinler ZP-1 (80-120 kilodalton), ZP-2 (73 kilodalton) ve ZP-3 (5-65 kilodalton) olarak adlandırılmaktadırlar. Bu üçü arasında en önemli olan ZP-3'tür. ZP-3, spermatozoa-bağlanma reseptörü ve akrozom reaksiyonu indükleyicisi olarak fonksiyon görmektedir. ZP-2'nin sekonder spermatozoa-bağlanma proteini olarak davrandığına inanılmaktadır. ZP-1'in fonksiyonu henüz belirlenmemiştir (19).

### **Sekonder Folliküller**

Folikül epitel ve çevresindeki stroma, foliküllerin maturasyonu ile ilişkili olarak hem hiperplaziye hem de hipertrofiye uğrar. Bu komponentler solid, multilaminar özellikteki sekonder folikülü oluştururlar. Folikülde mitotik olarak aktif olan granuloza hücreleri, çok katlı duruma gelirler ve hücrelerin sıkıca paklendiği çok tabakalı konsantrik bir düzenlenim kazanırlar. Primer oositin çapı artar ve homojen, eozinofilik ekstrasellüler bir tabaka halindeki zona pellucida, hücrenin plazma membranını çevreler. Proteoglikanlardan zengin olan zona pellucida, hem oosit hem de granuloza hücreleri tarafından sentezlenir (17).

Sekonder folikül, sıvı içeren antrum ile karakterizedir (19). Follikül gelişimi devam ettiğinde granuloza hücreleri arasında yer yer erimeler ve boşluklar şekillenmeye başlar, bu boşluklara antrum adı verilir. Bu boşlukları follikül sıvısı - likör follikülü- doldurur. Başlangıçta küçük düzensiz birçok boşluk zaman içerisinde birleşerek daha büyük antrum halini alır. Follikül sıvısı hyaluronik asitten zengindir. İleri primer follikül evresinde şekillenmeye başlayan teka follikülü sekonder follikülde iki tabakalı olarak gelişimini sürdürür (35).

### **Graaf Follikülü (Tersiyer Follikül)**

Foliküler gelişim devam ettiği sürece antrum yarımaya ya da C şeklinde tek bir boşluk halini alır, oosit antrum içinde küçük bir adacık görünümüne sahiptir ve kumulus ooforus olarak adlandırılır. Kumulus ooforusun oosite yakın olan hücreleri prizmatiktir ve korona radyata hücreleri olarak tanımlanır. Oositele korona radyata arasında zona pellucida vardır. Korona radyata

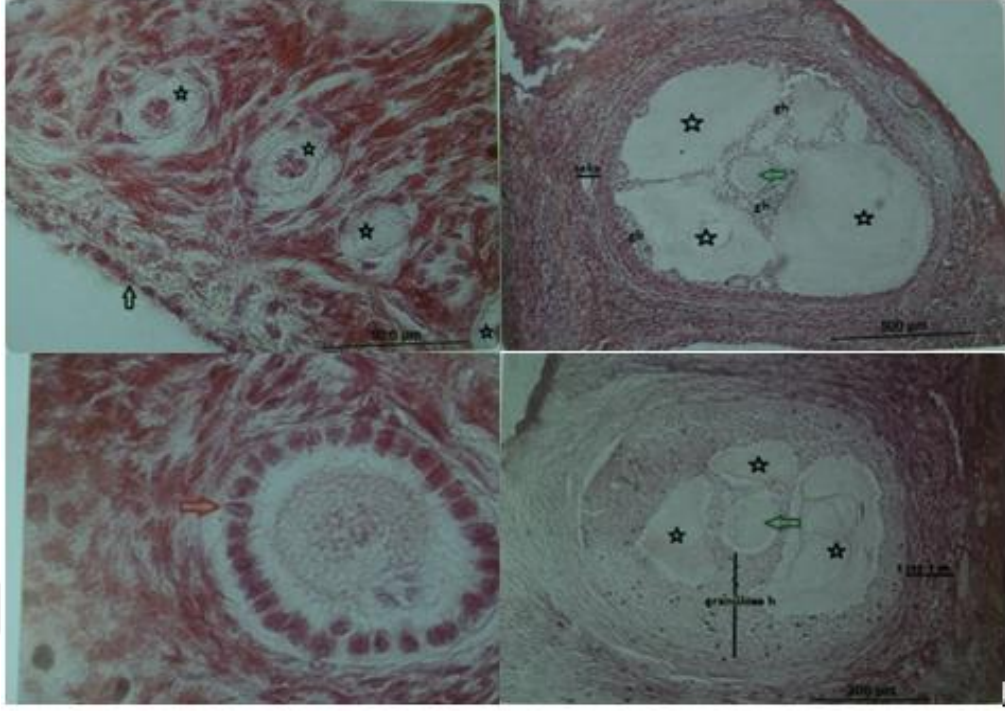
spermatozoonun ovumu döllediği zamanda mevcut olup ovidukt kanalında da bir süre daha görülebilir (35).

Folikülün en büyük bölümünü oluşturan antrum, çok katlı granüloza hücreleri ile sarılıdır. Bunların da dışında folikülü kuşatır durumda teka interna ve eksterna bulunur. Dominant folikül, korteksi kalınlığınca kaplar ve genellikle ovaryum yüzeyinden dışarı doğru çıkıntı yapar. Tunika albuginea ile tekanın temas noktası olan stigmada yüzey son derece incelmıştır. Oosit ve korona radyata foliküler duvardan ayrılır ve sıvıyla dolu antrum içinde serbestçe yüzer hale gelir (17). Siklusun 8 ila 10. günü içinde foliküller büyüme ve farklılaşma gösterir. Granüloza ve teka interna hücreleri steroid hormonu ve özellikle östrojen sentezleyerek folikül lümenine verir. Foliküler fazda ovulasyon öncesi progesteron seviyesi LH etkisi ile yükselmeye başlar. Sirkülasyondaki FSH miktarı adenohipofiz tarafından düzenlenir. LH artışı ovulasyona sebep olur (36).

#### **Atretik Folliküller**

Ovaryum foliküllerinin büyük bölümü, folikül hücreleri ve oositin ölümüyle geriler ve fagositoz yapan hücreler tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu işlev sırasında granüloza hücrelerinde mitoz durur, granüloza hücreleri bazal membrandan ayrılır ve folikül hücreleri dejenere olur (18). Oositte otolize benzer değişiklikler oluşur. Zona pellucidada katlanma, büzülme ve kırılma atrezi belirtileridir. Bütün bu dejeneratif değişiklikler sonucu ortaya çıkan kalıntılar makrofajlar tarafından fagosite edilir (36).

Atretik foliküller doğum öncesinden başlayıp menapozun birkaç yıl sonrasına dek ovaryumda oluşurlar. Foliküler atrezi sırasında granüloza hücreleri ile oositler dejenerasyona uğrarken, teka interna hücreleri aktif steroid salgı yapmayı sürdürürler. Bu hücrelere interstisyel hücreler denir. Bu hücreler işlevlerini puberteden başlayıp menapoza kadar sürdürürler ve androjenlerin kaynağını oluştururlar (18).



Şekil 7. Folikül Yapıları (38)

### **Korpus Luteum (Sarı Cisim)**

Graaf folikülü rüptüre olduktan sonra sekonder oosit serbestleşir, foliküler yapının geri kalanı ise korpus luteum (sarı cisim) olarak bilinen geçici glandüler bir yapıyı oluşturur (17).

İlk olarak teka internadaki kapillerlerden folikülün lümenine doğru olan kanama, merkezi bir pıhtısı bulunan korpus hemorajikum'un oluşumuna yol açar. Granüloza ve teka interna tabakalarının hücreleri luteinizasyon denen bir süreç ile granüloza lutein ve teka lutein hücrelerine farklılaşır. Bu luteal hücreler ani morfolojik değişimlere uğrarlar, boyutları artar ve yağ damlacıkları ile dolarlar. Hücrelerin sitoplazmalarında bulunan ve lipide çözünebilen bir pigment olan lipokrom, taze preparatlarda sarı görünüm verir. Ultrastrüktürel seviyede, hücreler, steroid salgılayan hücrelerle ilişkili özellikleri sergilerler. Bu özellikler bol aER ve tübüler kristalli mitokondriyonlardır (19). Granüloza lutein hücreleri; progesteron hormonunu, teka lutein hücreleri; östrojen hormonunu sentezler ve salgırlar (17).

Döllenme olmazsa korpus luteum işlevini en fazla iki hafta sürdürür. Bir sonraki menstruasyonun başlamasıyla birlikte lutein hormonu salgısı

durduğundan dejenere olur. Buna mentruasyon korpus luteumu denir. Döllenme olduğunda gebelik başlar. Korpus luteum, gelişmesinin 4. ayının sonuna kadar kalır. Daha sonra etkisini yitirir. Korpus luteumun işlevini plasenta üstlenir. Gebelik dönemindeki korpus luteuma, gebelik korpus luteumu denir. Menstruasyon ve gebelik korpus luteumları işlevleri sona erince dejenerasyona uğrarlar ve yerlerinde, kollajen lifleri bol, bağ dokusundan oluşan, beyaz renkli bir yapı; beyaz cisim (corpus albicans) kalır. Bu yapı ovaryum içerisinde zamanla absorbe edilerek ortadan kalkar (18).

### **2.2.3 Ovariyal Döngü**

Dişi memelilerde iki farklı döngü yer alır. İnsanlar ve birçok diğer primat, menstrual döngüye (adet döngüsü) sahipken, diğer memelilerin östrus (kızana gelme) döngüleri vardır (11).

Ergenlik çağındaki kadında endometriyum 28 günlük ovariyal döngüye koşut olarak periyodik değişimler gösterir. Buna menstrual ya da uterinal döngü denir. Menstrual döngü 12-15 yaşlarında başlar, 45-50 yaşa kadar sürer (18).

Menstrual döngüye paralel giden bir diğer döngü de, ovaryum (ovarian) döngüsüdür. Ovaryumda birkaç folikülün büyümeye başladığı foliküler faz ile başlar. Her folikülde gelişmekte olan yumurta hücresi büyür ve folikülünün kılıfı kalınlaşır. Ancak büyümeye başlayan foliküllerden genelde sadece biri gelişmesini sürdürerek olgunlaşır, diğerleri parçalanır. Olgunlaşan folikül, içinde sıvıyla dolu bir boşluk oluşturur ve yumurtalığın yüzeyine yakın yerde bir kabartı oluşturacak kadar büyür. Foliküler faz, folikül ve bitişik yumurtalık duvarının yırtılarak ikincil oositi serbest bırakması olan ovulasyon (yumurtlama) ile sonlanır. Ovulasyondan sonra, ovaryum içinde kalan foliküler doku, korpus luteuma (sarı cisim) dönüşür. Korpus luteumun endokrin hücreleri, ovaryum döngüsünün luteal fazında dişilik hormonlarını salgılar.

Dişi üreme döngüsü, hipotalamustan GnRH, ön hipofizden de FSH ve LH salgıları tarafından yinelenen şekilde yönetilir. Gelişmekte olan folikül östrojenleri üretir, korpus luteum da progesteron ve östrojenleri salgılar. Pozitif ve negatif geri bildirimler, menstrual ve ovariyal döngülerini düzenleyen bu beş hormonu değişen düzeylerde üretirler (11).

Rat östrus siklusu ortalama 4-5 gün sürmektedir. Östrus siklusu laboratuvar kolonilerinde mevsimden bağımsız olarak yıl boyu sürmektedir. Siklus 4 dönemi kapsar (39).

- I. Proöstrus evresi; 12 saat,
- II. Östrus evresi; 12-14 saat,
- III. Metöstrus evresi; 21 saat,
- IV. Diöstrus evresi de; 57 saat sürer.

- Proöstrus evresinde; LH ve östradiol en üst seviyeye ulaşır. Östradiol seviyesi, evrenin başlangıcında en düşük düzeydeyken, evrenin sonlarına doğru yükselir. Endometriumun tek katlı prizmatik epitel hücrelerinin boyutları artarak yüksek prizmatik hücrelere dönüşür. Proöstrus ve östrus arasında gerçekleşen ovulasyonu LH kendiliğinden stimüle eder. Yüksek oranda damarlanmış ovaryum follikülünden yükselerek dışa doğru bir çıkıntı oluşur ve oositin salınımı gerçekleşir. Östrus evresine geçerken östradiol düzeylerinde hafif bir azalma olur. FSH'da da yavaş bir artış görülür (40). Proöstrus esnasında salınan LH dalgaları preovulatuvar folliküllerde (preovulatör follikül 0,9-1,0 mm çapında) ovulasyonun meydana gelmesine ve corpus luteumun şekillenmesine neden olur (39).

- Östrus evresinde; proöstrus ile östrus evresi arasında LH'nin en yüksek düzeyine ulaşmasıyla ovulasyon gerçekleşir. Uterus yüzey epitelinde kalınlaşma görülür. Epitelin bazı yerlerinde yalancı çok katlı epitel de izlenir. Bu evrede apoptotik indeks artar, epitelde apoptotik hücreler görülür. Uterus boşluğu iyice genişler ve sıvı birikimi de artar (40).

- Metöstrus evresi; yaklaşık 21 saat sürer ve artık dişi erkeği kabul etmez. Uterustaki kan damarları küçülmüş ve azalır. Bu evrede korpus luteum oluşumu gerçekleşir (39). Metöstrus boyunca, corpus luteumdan progesteron salınır.

- Diöstrus evresinde; tekrar endometriyal rejenerasyon başlar. Erken diöstrusta estradiol salınımı düşüktür, fakat geç diöstrus süresince kademeli olarak artar (40). Korpus luteum en yüksek büyüklüğüne erken diöstrus döneminde ulaşır. Progesteron seviyesi diöstrusta azalır ve artan östradiol-17 $\beta$ 'ya bağlı olarak folliküler gelişim tekrar başlar (39).

### 2.3 VASA (DDX4)

VASA, ilk kez *Drosophila*'da tanımlanan DEAD-box ailesinin bir üyesidir ve germ hücresi gelişimi için gereklidir (41). DEAD-box RNA helikazını kodlar ve ekspresyonu sadece germ hücresi soylarıyla sınırlandırılmıştır. Vasa proteini; germ hücrelerinin belirlenmesi için gerekli, iyi anlaşılmamış kompleks RNA ve proteinden oluşan germ plazmasının önemli bir bileşenidir. *Drosophila melanogaster*, *Xenopus laevis*, *Danio rerio*, fare ve insan dahil olmak üzere omurgasız ve omurgalı türlerde yaygın olarak korunmaktadır (42).

DDX4, germ granüllerinin bir bileşeni olmasına ve özellikle germ hücrelerinin sitoplazmasında lokalize olmasına rağmen son çalışmalar bir anti-DDX4 antikorumun postnatal fare ve insan ovaryum hücrelerinin küçük bir grubunun hücre yüzeyine bağlandığını öne sürmektedir (43,44).

Ayrıca, bu çalışmalar hücre yüzeyinde DDX4-immünoreaktif ovaryum hücrelerinin *in vitro* olarak çoğaldığını ve ovaryum içi transplantasyon sonrasında olgun oosit ürettiğini göstermiştir ve bu da hücre yüzey DDX4-immünoreaktif ovaryum hücrelerinin oogonial kök hücreler (OSC'ler) olduğunu düşündürmektedir (43,44).

VASA proteininin fonksiyon kaybı, spermatositlerin çoğalması ve farklılaşmasında bir eksikliğe neden olur ve erkek kısırlığına yol açar (42).

Son yıllardaki bazı yayımlar, spesifik-DDX4 antikoru kullanılarak yetişkin insan ve fare ovaryumlarından saflaştırılmış DDX4-pozitif OSC (oogonial kök hücre)'lerin ne spesifik DDX4-ifade eden hücreler olduğunu ne de fonksiyonel germline kök hücreleri olduğunu göstermektedir (45). DDX4'e özel poliklonal antikorlar tümüyle nonspesifiktir ve diğer hücre tiplerine yüksek derecede bağlanma eğilimine sahiptir (46).

### 2.4 IFITM3

İnterferon kaynaklı transmembran (IFITM) proteinleri, tip I ve tip II interferonların bazı antiviral aktivitelerine aracılık eden küçük transmembran proteinlerin bir ailesidir (47). Son zamanlarda, fare genomunun biyoinformatik analizi, beş IFITM geninin varlığını ortaya çıkarmıştır: IFITM 1, 2, 3, 5 ve 6. IFITM1, 2 ve 3; amfibiler, balıklar, kümes hayvanları ve memeliler dahil



olmak üzere geniş bir yelpazede bulunur. IFITM proteinlerinin, bağımsıklık hücre sinyalizasyonu ve adezyonu, kanser, germ hücresi fizyolojisi ve kemik mineralizasyonunda rolleri olduğu açıklanmıştır (48,49).

İnterferona bağı transmembran protein 3 (IFITM3); erken gelişim, hücre adezyonu ve hücre proliferasyonunda yer alan, bakteriyel ve viral enfeksiyonlara ve belirgin malignitelere yanıt olarak önemli bir rol oynayan interferonla uyarılmış transmembran genlerin ve proteinlerin daha büyük ailesinin bir parçasıdır (50).

IFITM3, bugüne kadar test edilmiş olan tüm influenza virüsü suşlarına karşı etkindir ve HIV, SARS Korona Virüsü ve Ebola Virüsü gibi birçok tıbbi açıdan önemli virüsleri benzer şekilde inhibe eder (51). IFITM2 ve 3, tipik olarak endozomal membran, lizozomal membran veya diğer hücre içi bölmelerde yoğunlaşmıştır. Bunların hücre içi dağılımı hücre veya doku türüne ve ekspresyon düzeyine bağlıdır, ancak IFITM1 esas olarak plazma membranı üzerinde eksprese edilir (52,53). Genellikle IFITM proteinlerinin erken bir aşamada viral membran füzyonunu inhibe ederek viral enfeksiyonu kısıtladığı düşünülmektedir (54-56).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yetiştirilen yaklaşık 200-220 gram ağırlığında ve 16 haftalık *Wistar* albino cinsi 10 adet yetişkin dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar deney süresince standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslendiler. Çalışma için Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 07.01.2016 tarih ve 65202830-050.04.04 sayılı onay belgesi alınmıştır (EK 1).

Çalışmada kullanılan hayvanlar oda ısısında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyotlar oluşturularak yetiştirildi. Sıçanlar kontrol (n=4) ve hipertiroidili (n=6) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Hayvanlarda hipertiroidi oluşturmak için 21 gün süre ile 250 mcg/kg/gün olmak üzere subkutan enjeksiyon yolu ile tiroksin (L-tiroksin) hormonu, kontrol grubu sıçanlara ise 21 gün süre ile serum fizyolojik enjekte edildi. Deney ve kontrol gruplarından vajinal smear örnekleri alındı ve hayvanların diöstrus evresinde oldukları belirlendi. Sıçanların tartımları yapıp, 3mg/kg Xylazine HCL+ 90mg/kg Ketamine HCL intraperitoneal yolla verilerek anestezi altına alındı. Biyokimyasal değerlendirme için kardiyak kan alındıktan sonra, her iki gruptaki hayvanlara 200 mg/kg Tiopental Sodyum intraperitoneal yolla verilerek ötenazi sağlandı. Ölüm sonrası ovaryum dokularına ışık mikroskopi ve immünohistokimyasal incelemeler için rutin takip protokolleri uygulandı. Işık mikroskopik incelemeler için parafine gömülen ovaryum örnekleri genel morfolojiyi göstermek amacıyla hematoksilin-eozin, spesifik molekülleri belirlemek için VASA (DDX4) ve IFITM3 lokalizasyonları immünohistokimyasal tekniklerle gösterildi.

Işık mikroskopik değerlendirme için alınan kesitler ışık mikroskopta (Olympus BX51, Japan) değerlendirilip, uygun alanlardan fotoğraflar çekildi.

#### 3.1 Biyokimyasal İnceleme

Plazma T4 düzeyleri hipertiroid ve kontrol grubuna ait her bir sıçandan alınan kardiyak kandan ölçüldü. Kan örnekleri alımı takiben 2000-2500 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Daha sonra plazma örnekleri ölçüm yapılacak güne kadar -20°C'de saklandı. Tiroid fonksiyon testi Elisa yöntemi ile çalışıldı.

### 3.2 Kullanılan Cihazlar

- Doku Takip Cihazı (Leica, Germany)
- Etüv (Elektro-mag)
- Ben Mari (Leica, Germany)
- Mikrotom (Leica, Germany)
- Floresan mikroskop (Olympus BX51, Japan)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik MD 554 İntellowave, Türkiye)
- Kurutucu (LKB BROMMA 2208 MULTIPLATE)
- PH Metre (HANNA HI 2211)
- Karıştırıcı (WiseStir MSH-20D)

### 3.3. Kimyasal Maddeler

- L-Thyroxine (Sigma, USA, T2376)
- Antikorlar  
Vasa (DDX4) (Abcam ab13840)  
IFITM3 (Abcam ab15592)
- AEC (Life Technologies USA)
- UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP/DAB (Thermo Sci, USA)
- Phosphate Buffer Saline (PBS) (OXOID, England)
- Sitrat Buffer (DIAPATH, Italy, pH:6)
- Pappen (Liquid Blocker Super Pap Pen, Japan)
- Mounting medium (Bio Optica, Italy)

### 3.4. Doku Preparasyonu

Ötenazi sonrasında alınan ovaryum dokuları %4'lük paraformaldehitte +4 °C de 24 saat süre ile fikse edildikten sonra dehidrasyon ve şeffaflandırma basamaklarını takiben parafinde bloklandı.

### 3.5. Işık Mikroskopisi

Işık mikroskopik incelemeler için parafine gömülen örneklerden Leica mikrotom ile alınan 4 µm kalınlığında seri kesitlere genel morfolojiyi göstermek amacıyla hematoksilin-eozin boyama uygulaması yapıldı. Olympus BX51 (Tokyo, Japan) mikroskobu ile uygun görüntüler alındı.

### 3.6. İmmünohistokimya

Ovaryum dokusunda VASA (DDX4) ve IFITM3 immüno lokalizasyonları belirlendi.

- Parafin bloklardan alınan kesitler poly-L-lysine kaplı adhezivli lamalar (Isotherm marka) üzerine alındı. Bir gece 56 °C'lik etüvde tutularak parafini giderildi. Kesitler aşağıdaki serilerden geçirilerek saf suya indirildi.
  - %100 Alkol... 5 dk
  - %96 Alkol... 5 dk
  - %96 Alkol... 5 dk
  - %70 Alkol... 5 dk
  - %70 Alkol... 5 dk
  - Distile su... 5 dk
- Doku örneklerinin etrafı Pap Pen (Liquid Blocker Super Pap Pen) ile çizildi.
- Endojen peroksidazı maskelemek için kesitler oda ısısında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de (hidrojen peroksit) 10 dakika bekletildi.
- 2 defa PBS ile yıkandı.
- Antijenin geri dönüşümünü sağlamak için kesitler, içinde sitrat tamponu (pH=6) olan şaleye konarak mikrodalga fırında, orta ayarda 10 dakika kaynatıldı.
- Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 20 dakika soğumaya bırakıldı.
- 2 defa PBS ile yıkandı.
- İmmünohistokimya kabına konulan kesitlere 20 dakika Ultra V Block (Thermo marka UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP) uygulandı.
- +4 °C'de nemli ortamda bir gece, kullanıma hazır olmayan primer antikolar VASA (DDX4) ve IFITM3 1:100 1:100 oranlarında sulandırılarak uygulandı.
- 2 kere PBS ile yıkandı.

- Dokulara Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (Thermo marka UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP) 20 dakika nemli ortamda uygulandı.
- 2 kere PBS ile yıkandı.
- 20 dakika Streptavidin Peroxidase (Thermo marka UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP) uygulandı.
- 2 kere PBS ile yıkandı.
- 1-2 dakika AEC Kromojen (Life technologies marka) dokulara uygulandı.
- 2 kere PBS ile yıkandı.
- 1 dakika Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı.
- Çeşme suyunda yıkandı.
- Preperatlar kurulanıp kapatıcı (Bio Optica marka) ile kapatıldı.
- VASA (DDX4) ve IFITM3 immüno lokalizasyonları skorlama yöntemi ile her grup için ayrı ayrı saptandı.

### **3.7. Semikantitatif Skorlama Yöntemi**

Deney ve kontrol gruplarında ovaryum dokularında görüntülenen VASA (DDX4) ve IFITM3 ekspresyonlarının şiddeti semikantitatif skorlama yöntemiyle belirlendi ve sonuçlar tablolar halinde bulgular bölümünde gösterildi. Bütün kesitler birbirinden bağımsız iki gözlemci tarafından incelenerek, ovaryum dokusunda VASA (DDX4) ve IFITM3 antikörlerinin boyanma derecelerine göre; boyanma olmamış ise negatif (-), hafif derecede boyanma olmuş ise (+), orta derecede boyanma olmuş ise (++), yoğun derecede boyanma olmuş ise (+++) boyanma olarak ovaryum dokuları değerlendirildi.

### **3.8. İstatistiksel Yöntem**

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (veri 22.0) programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımlar yerine getirildiğinden (Kolmogorof-Simirnov) bağımsız gruplarda iki ortalama arasındaki farklarda önemlilik testi kullanılmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

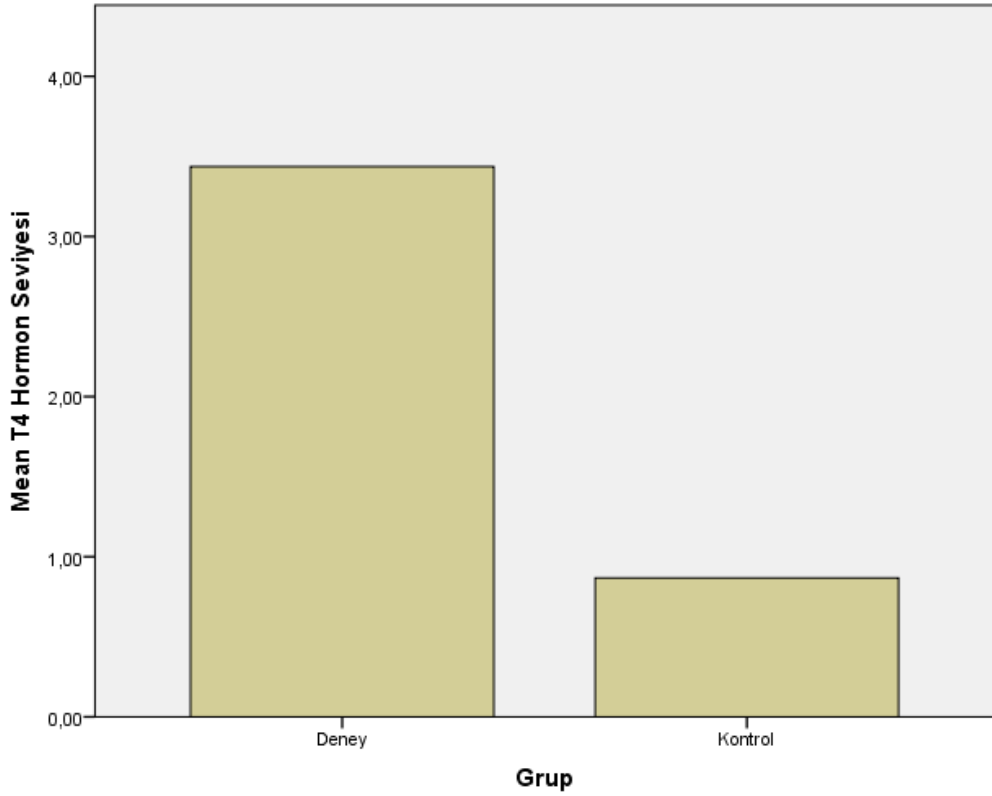
## 4. BULGULAR

### 4.1 Biyokimyasal Bulgular

Deney sonunda, kontrol grubuna göre deney grubunun serbest T4 değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $P<0.05$ ; Şekil 8).

**Tablo 1:** Deney ve Kontrol Grubuna Ait Serbest T4 Değerlerinin Karşılaştırması

Gruplar	$\pm S$
Deney	$3,43 \pm 0,86$
Kontrol	$0,86 \pm 0,04$
Sonuç	$t= 7,22$ $p=0,001$ $p<0,05$ önemli



Şekil 8. Deney ve Kontrol Grubunun Serbest T4 Değerleri

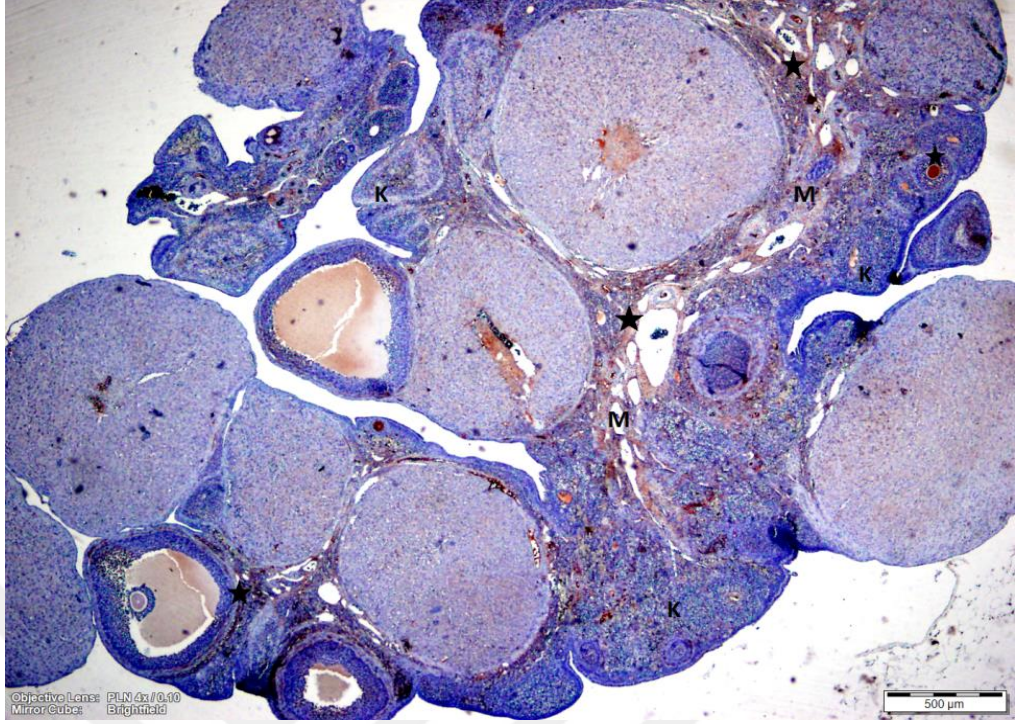
## 4.2 İmmünohistokimyasal Bulgular

VASA (DDX4) ve IFITM3'ün sıçan ovaryumlarındaki immüno lokalizasyonları semikantitatif skorlama yöntemiyle belirlenerek sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

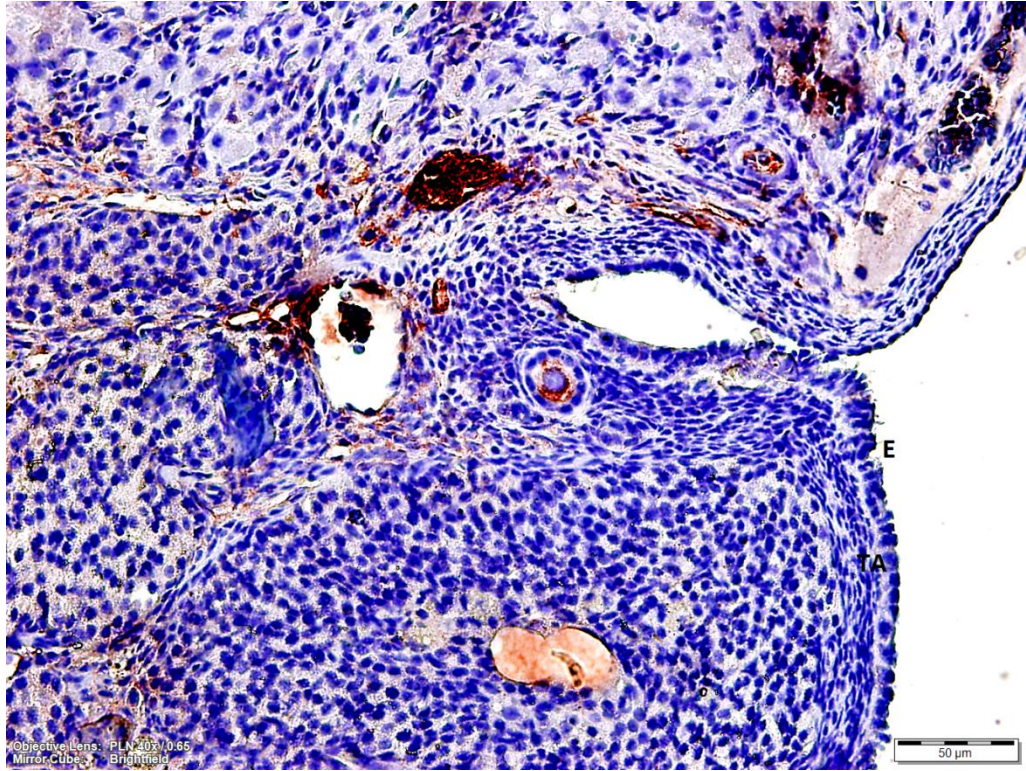
### 4.2.1 Kontrol Grubu VASA Bulguları

Diöstrus evresindeki hayvanların ovaryumlarında korpus luteumlar fazla sayıda ve oldukça büyük olarak belirlendi. Ovaryumun korteks tabakası, medulla ve kan damarlarında VASA ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 9-16). Germinal epitel ve tunika albuginea tabakası ile bazal membranda VASA immüno lokalizasyonu tespit edilmedi (Şekil 10). Primordiyal folikülde; primer oosit sitoplazmasında VASA immüno lokalizasyonu izlenirken, primordiyal folikül hücrelerinde gözlemlenmedi (Şekil 11). Primer folikülde; VASA immüno lokalizasyonu, oosit sitoplazmasında çok yoğun olarak belirlendi. Granüloza hücreleri, teka interna ve teka eksterna tabakalarında VASA ekspresyonu izlenmedi (Şekil 12). Sekonder folikülde; primer oosit sitoplazmasında ve zona pellucidada VASA immüno lokalizasyonu yoğun gözlemlendi. Teka tabakalarında, granüloza hücrelerinde ve antrumda VASA ekspresyonu tespit edilmedi (Şekil 13). Tersiyer folikülde; corona radiata, cumulus oophorus, granüloza hücreleri ve teka eksternada VASA ekspresyonu izlenmedi. Teka interna tabakasında VASA ekspresyonu gözlemlendi. Sekonder oosit, zona pellucida ve antrumda VASA immüno lokalizasyonu daha zayıf belirlendi. (Şekil 14). Corpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında VASA immüno lokalizasyonu zayıf izlendi. Kan damarlarında VASA immüno lokalizasyonu bu kısımlara oranla daha yoğun tespit edildi (Şekil 15). Medullada VASA ekspresyonu; kan damarlarında ve fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde yoğun gözlemlendi (Şekil 16).



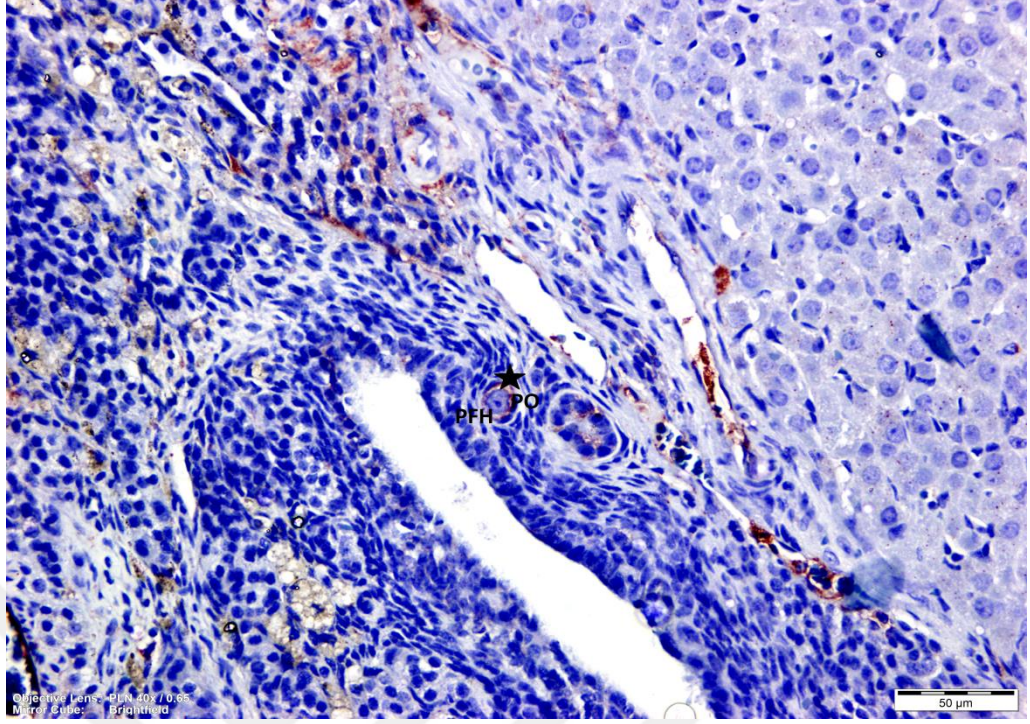


Şekil 9. Kontrol Grubu Ovaryumda VASA İmmünolokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M), Korteks; (K)

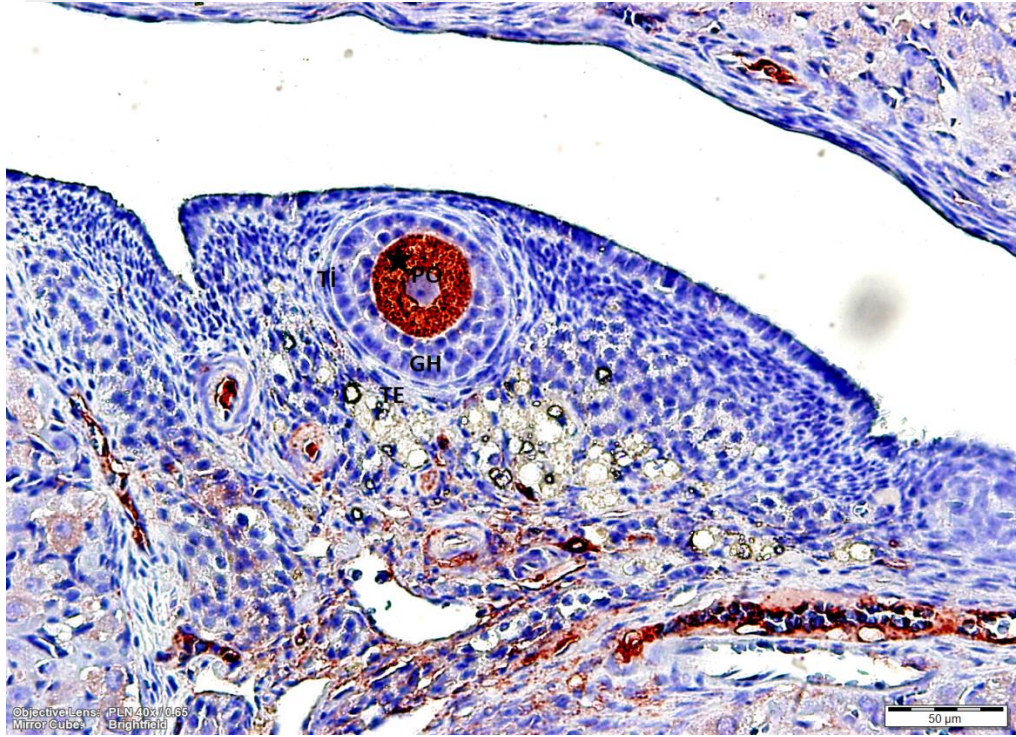


Şekil 10. Kontrol Grubu Germinal Epitel Tabakasında VASA İmmünolokalizasyonu  
Epitel Hücreleri; (E), Tunika Albuginea; (TA)



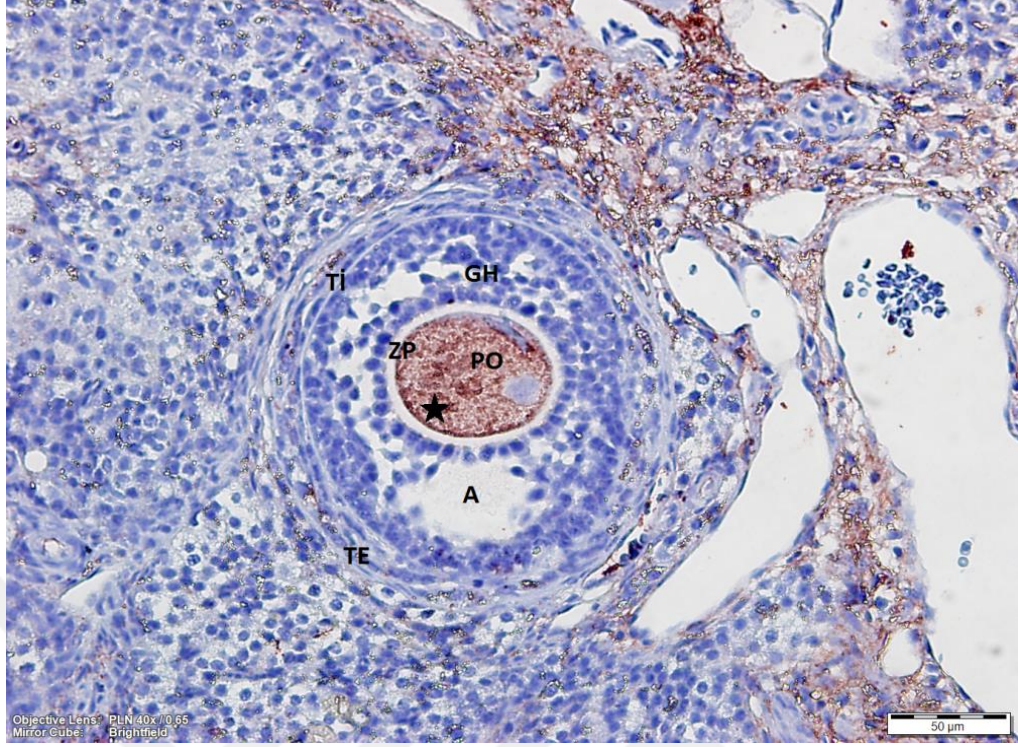


Şekil 11. Kontrol Grubu Primordiyal Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Primer Oosit; (PO), Primordiyal Folikül Hücreleri; (PFH)

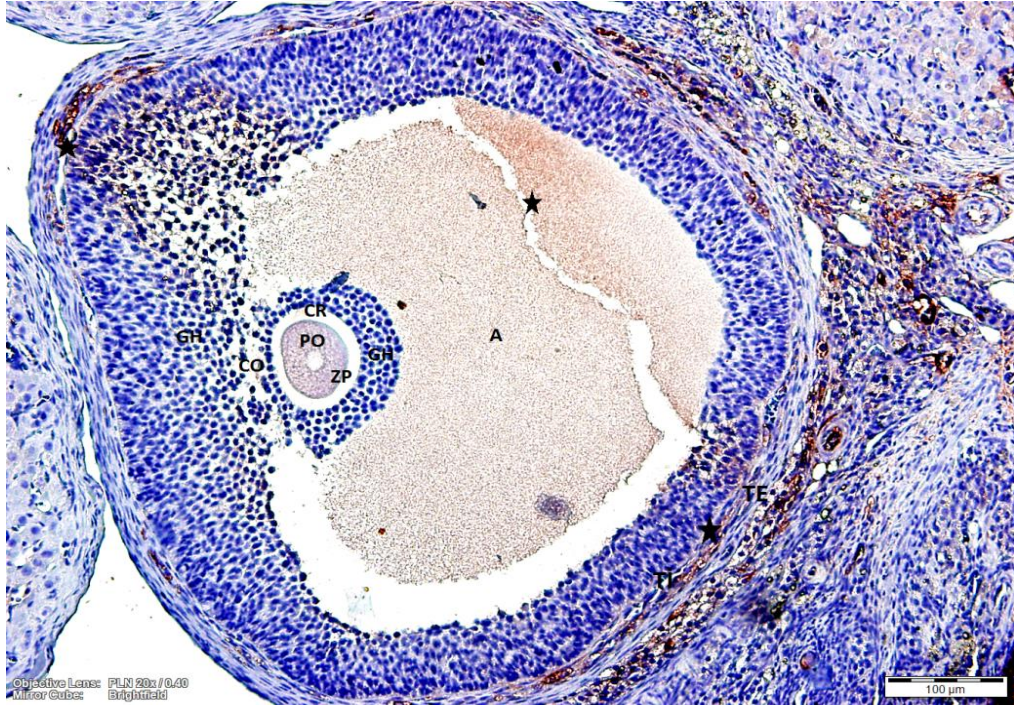


Şekil 12 . Kontrol Grubu Primer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Primer Oosit; (PO), Granüloza Hücreleri; (GH), Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna;  
(TE)



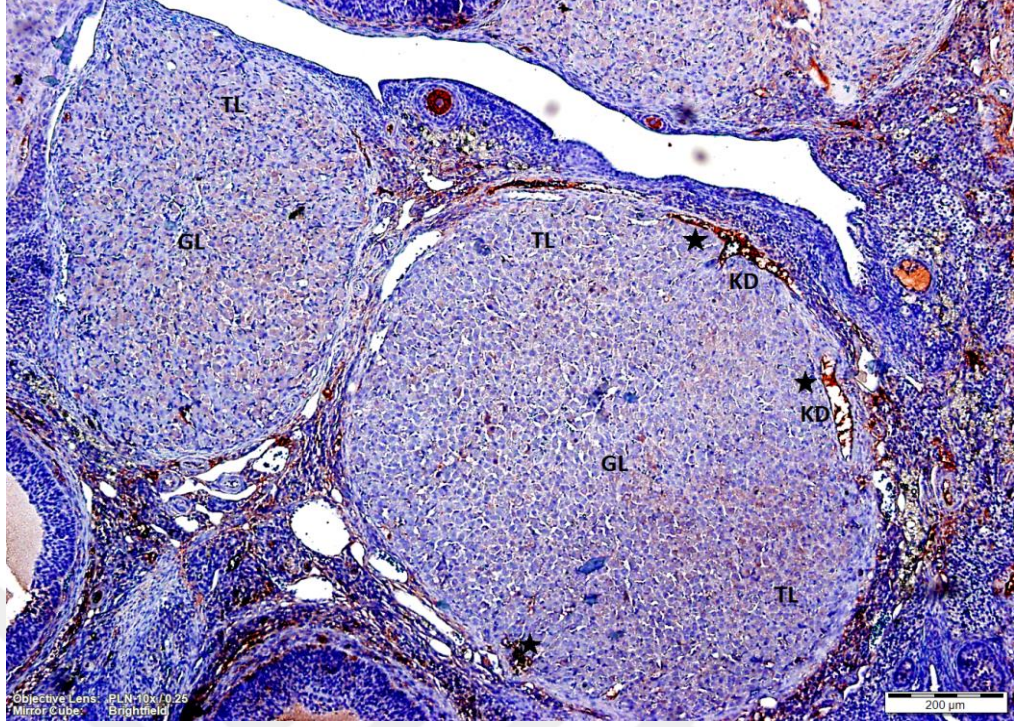


Şekil 13. Kontrol Grubu Sekonder Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
 Primer Oosit; (PO), Zona Pellucida; (ZP), Granüloza Hücreleri; (GH), Antrum; (A),  
 Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna; (TE)

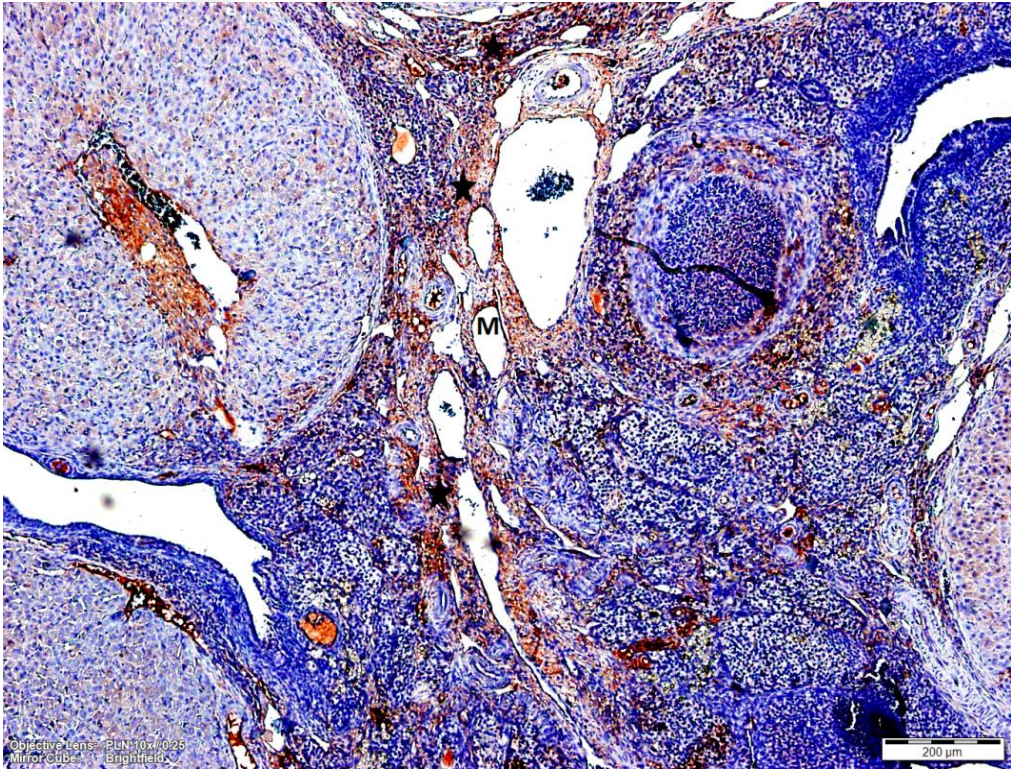


Şekil 14. Kontrol Grubu Tersiyer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
 Sekonder Oosit; (SO), Zona Pellucida; (ZP), Corona Radiata; (CR), Cumulus  
 Oophorus;(CO), Granüloza Hücreleri; (GH), Antrum; (A), Teka İnterna; (Tİ), Teka  
 Eksterna; (TE)





Şekil 15. Kontrol Grubu Corpus Luteumda VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Kan Damarları;(KD), Granuloza Lutein Hücreleri;(GL), Teka Lutein Hücreleri;(TL)

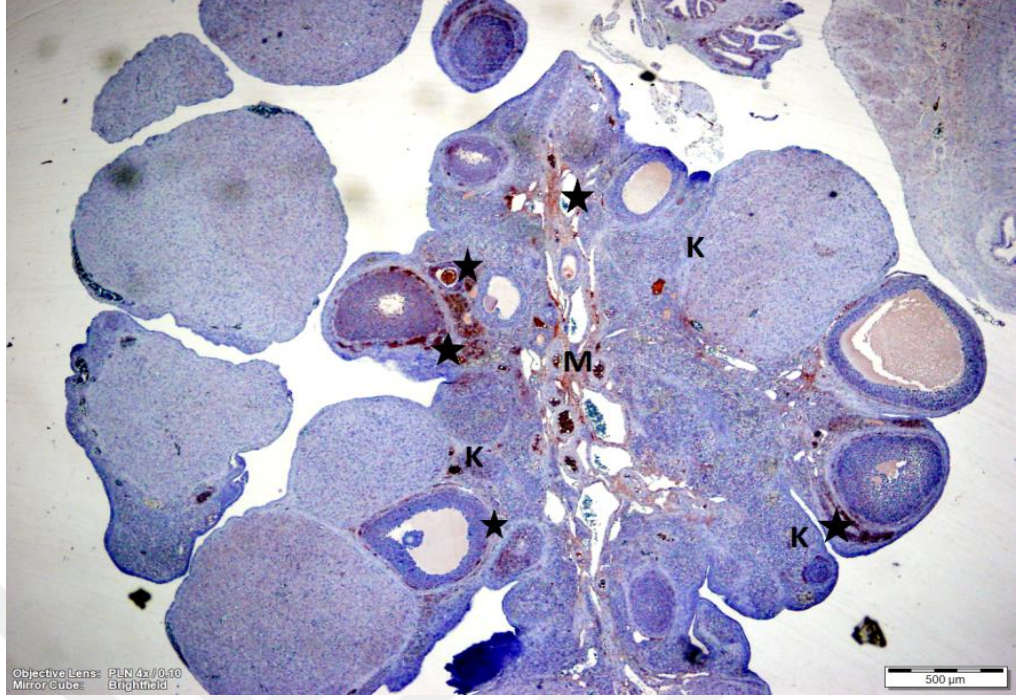


Şekil 16. Kontrol Grubu Medulla Bölgesinde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M)

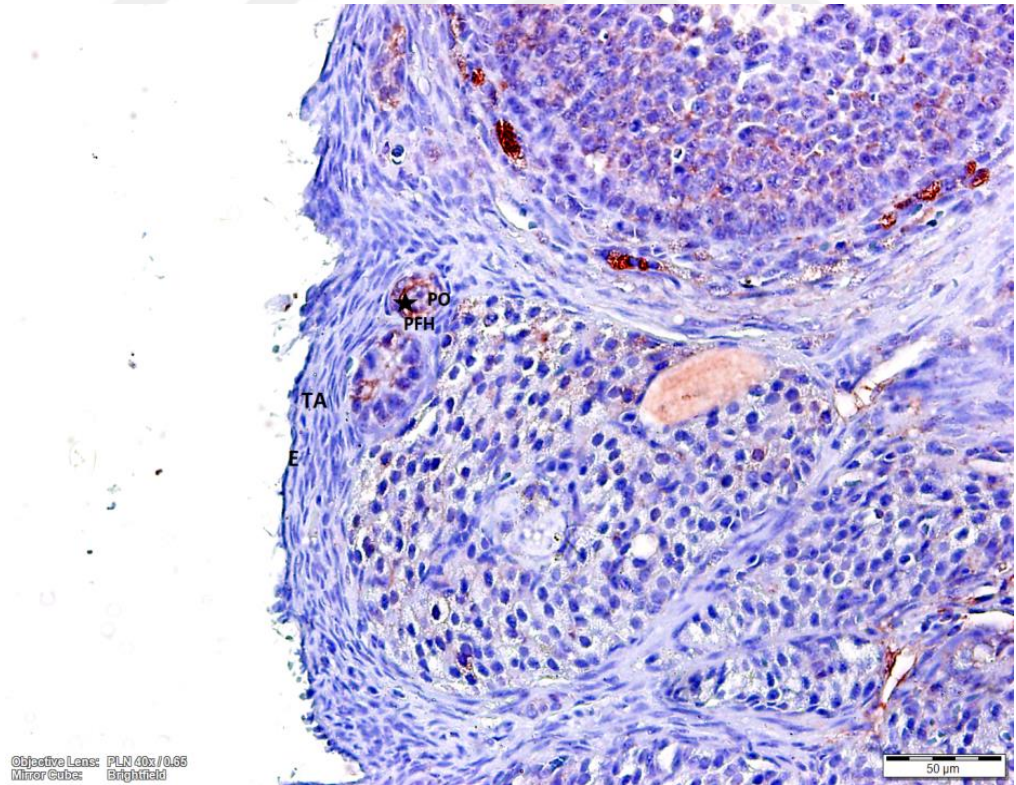
#### 4.2.2 DeneY Grubu VASA Bulguları

Diöstrus evresindeki hayvanların ovaryumunun korteks tabakası, medulla ve kan damarlarında VASA ekspresyonu izlendi (Şekil 17- 23). Germinal epitel ve tunika albuginea tabakası ile bazal membranda VASA immünolokalizasyonu gözlenmedi. Primordiyal folikülde VASA immünolokalizasyonu; primer oosit sitoplazmasında yoğun izlenirken, primordiyal folikül hücrelerinde gözlenmedi (Şekil 18). Primer folikülde; VASA immünolokalizasyonu, oosit sitoplazmasında çok yoğun, granüloza hücrelerinde zayıf olarak belirlendi. Teka interna ve teka eksterna tabakalarında VASA ekspresyonu izlenmedi (Şekil 19). Sekonder folikülde; primer oosit sitoplazmasında ve zona pellucidada VASA immünolokalizasyonu çok yoğun gözlendi. Granüloza hücrelerinin sitoplazmalarında ve teka tabakalarında da VASA ekspresyonu izlendi ancak antrumda VASA ekspresyonu tespit edilmedi (Şekil 20). Tersiyer folikülde; corona radiata, cumulus oophorus ve granüloza hücreleri ve antrumda VASA ekspresyonu gözlenmedi. Sekonder oosit ve zona pellucidada VASA immünolokalizasyonu zayıf olarak belirlendi. Teka interna ve teka eksterna tabakalarında VASA ekspresyonu yoğun izlendi (Şekil 21). Corpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında VASA immünolokalizasyonu zayıf gözlendi. Kan damarlarında VASA immünolokalizasyonu bu kısımlara oranla daha yoğun tespit edildi (Şekil 22). Medullada VASA ekspresyonu; kan damarlarında ve fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde yoğun izlendi (Şekil 23).



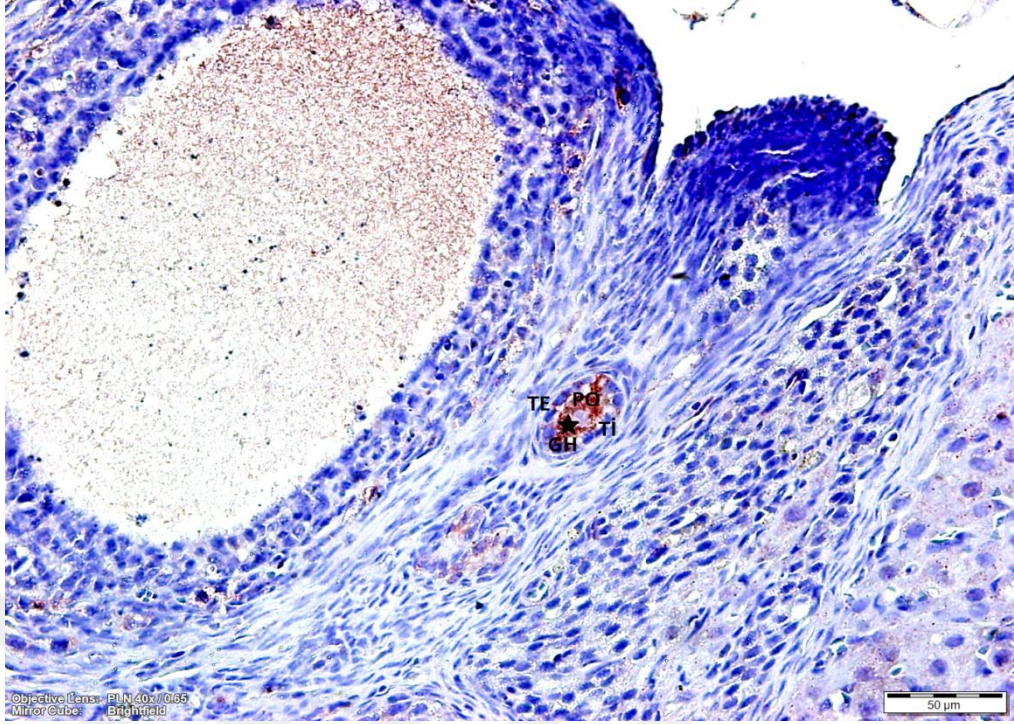


Şekil 17. Deney Grubu Ovaryumda VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M), Korteks; (K)

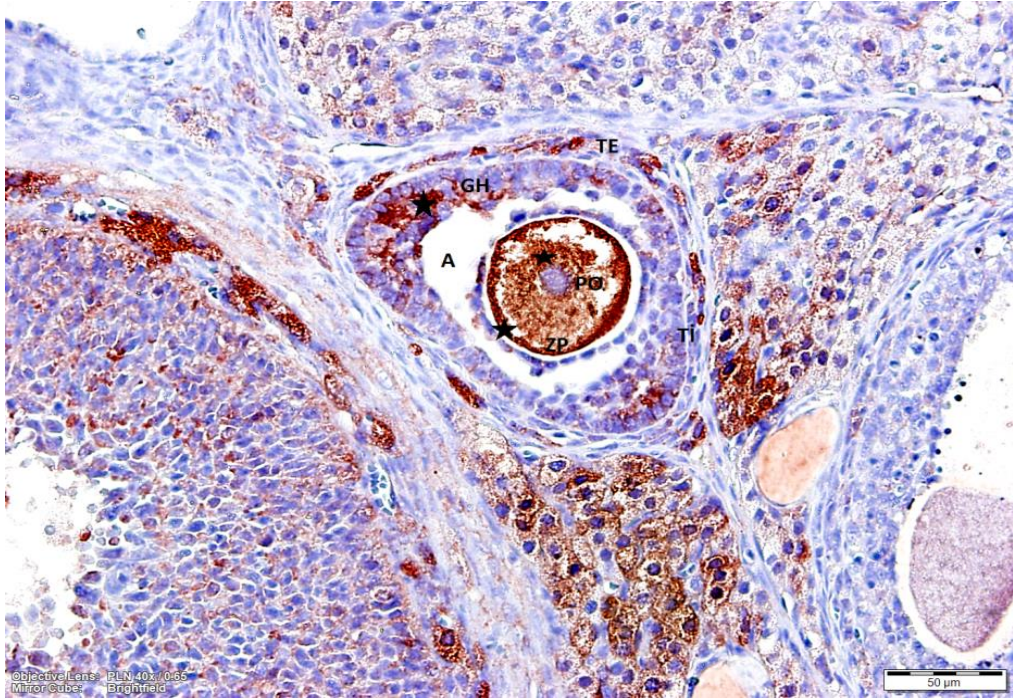


Şekil 18. Deney grubu germinal epitel tabakasında ve primordiyal folikülde VASA immüno­lokalizasyonu(\*). Epitel hücreler; (E), tunika albuginea; (TA), primer oosit; (PO), primordiyal folikül hücreleri; (PFH).



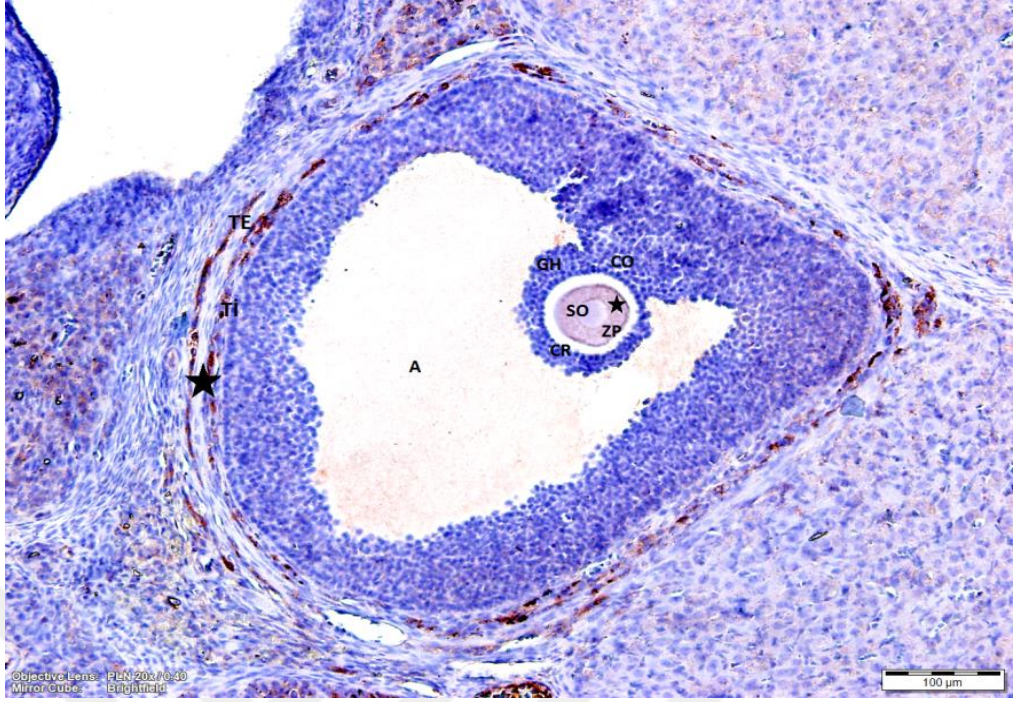


Şekil 19. Deney Grubu Primer Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
 Primer Oosit; (PO), Granüloza Hücreleri; (GH), Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna;(TE)

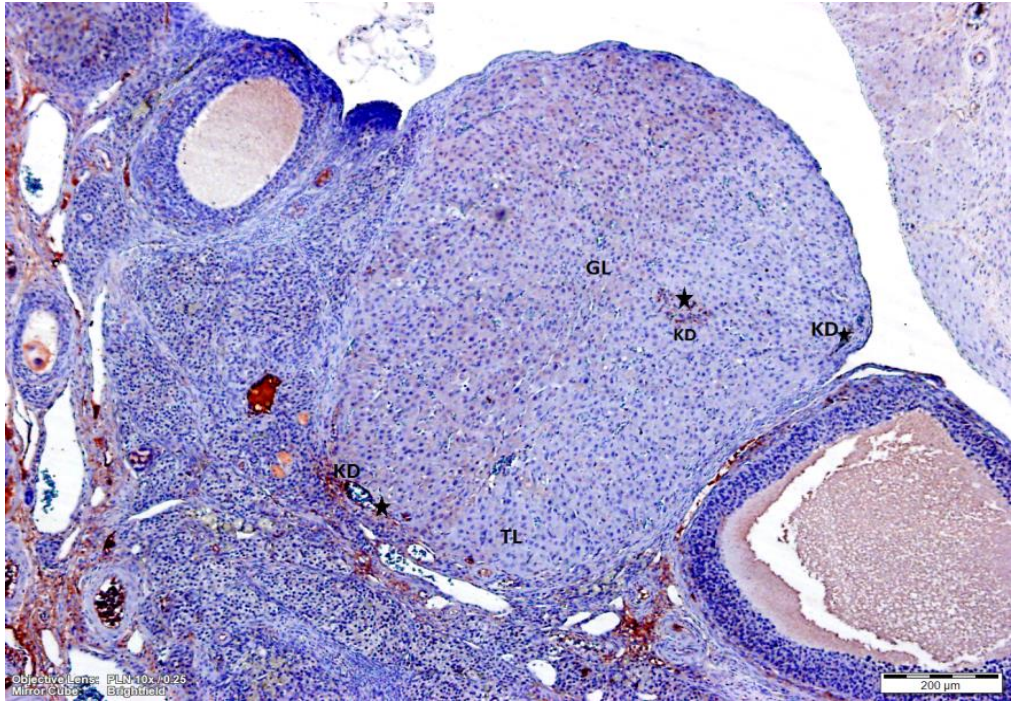


Şekil 20. Deney Grubu Sekonder Folikülde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
 Primer Oosit; (PO), Zona Pellucida; (ZP), Granüloza Hücreleri; (GH), Antrum; (A), Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna; (TE)



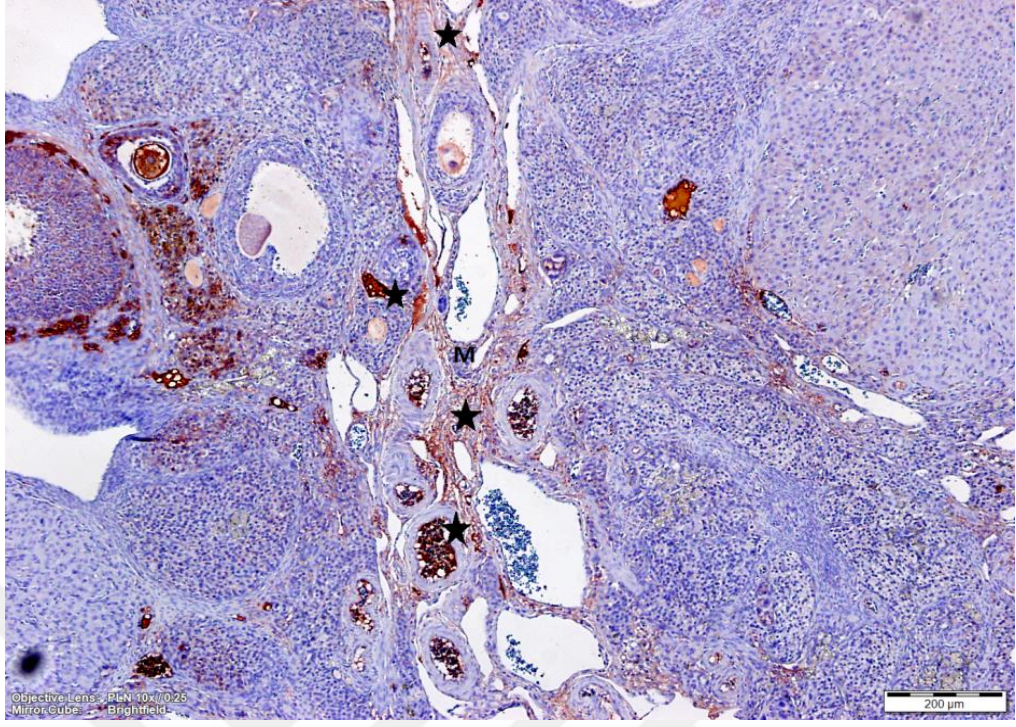


Şekil 21. DeneY Grubu Tersiyer Folikülde VASA İmmünolokalizasyonu(\*)  
 Sekonder Oosit;(SO), Zona Pellucida;(ZP), Corona Radiata; (CR),  
 Cumulus Oophorus; (CO), Granüloza Hücreleri; (GH), Antrum;  
 (A), TeKa İnterna; (Tİ), TeKa Eksterna; (TE)



Şekil 22. DeneY Grubu Corpus Luteumda VASA İmmünolokalizasyonu(\*)  
 Kan Damarları; (KD), Granüloza Lutein Hücreleri; (GL), TeKa Lutein Hücreleri;  
 (TL)



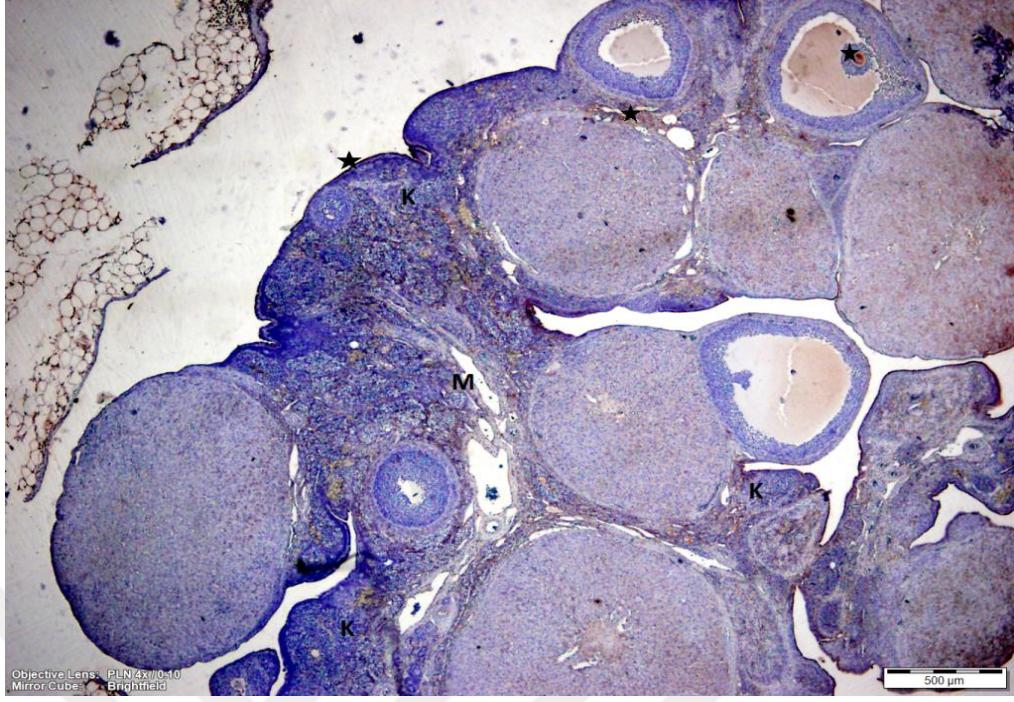


Şekil 23. Deney Grubu Medulla Bölgesinde VASA İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M)

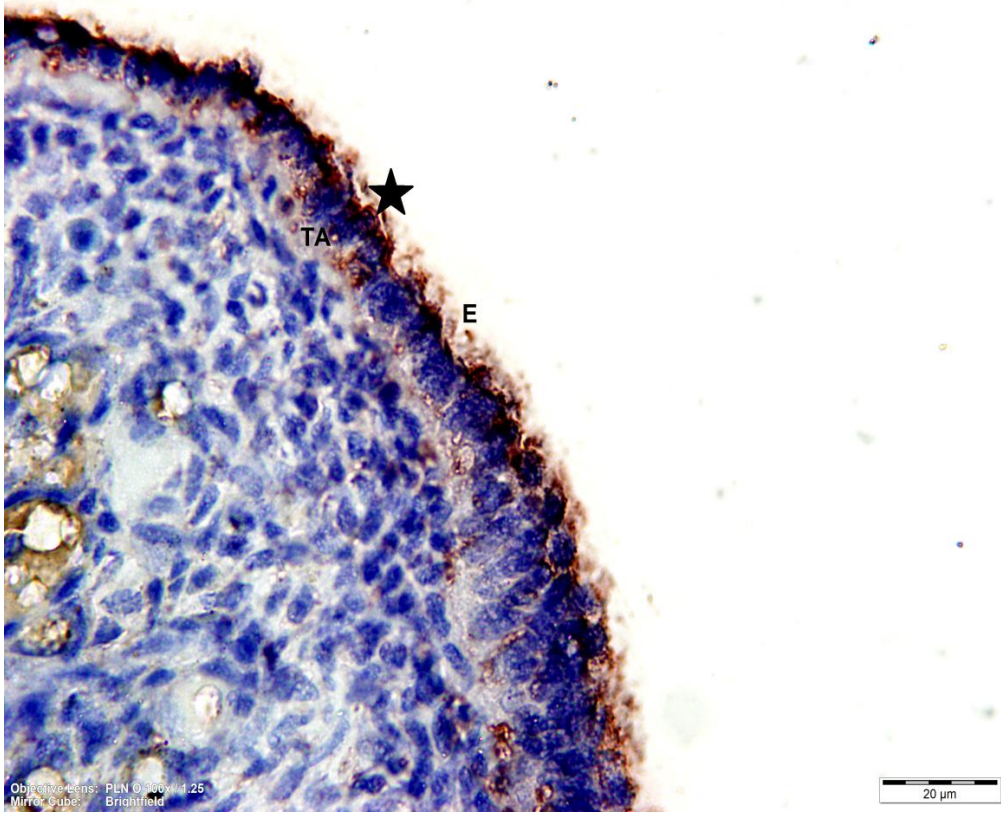


#### 4.2.3 Kontrol Grubu IFITM3 Bulguları

Diöstrus evresindeki hayvanların ovaryumunun korteks tabakası ve germinal epitelinde IFITM3 ekspresyonu izlenirken; medulla, kan damarları çevresi ve fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde daha zayıf gözlemlendi (Şekil 24-31). Germinal epitelde IFITM3 immüno lokalizasyonu yoğun gözlemlenirken, tunika albuginea tabakasında daha zayıf olarak belirlendi (Şekil 25). Primordiyal folikülde IFITM3 immüno lokalizasyonu tespit edilmedi (Şekil 26). Primer folikülde; IFITM3 immüno lokalizasyonu, oosit sitoplazmasında gözlemlendi. Granüloza hücreleri, teka interna ve teka eksterna tabakalarında IFITM3 ekspresyonu izlenmedi (Şekil 27). Sekonder folikülde; primer oosit sitoplazmasında ve zona pellucidada IFITM3 immüno lokalizasyonu yoğun olarak belirlendi. Teka tabakaları, granüloza hücreleri ve antrumda IFITM3 ekspresyonu tespit edilmedi (Şekil 28). Tersiyer folikülde; corona radiata, cumulus oophorus ve granüloza hücrelerinde IFITM3 ekspresyonu izlenmedi. Sekonder oosit ve zona pellucidada IFITM3 immüno lokalizasyonu çok yoğun, antrumda ise yoğun gözlemlendi. Teka interna ve teka eksterna tabakalarında IFITM3 ekspresyonu zayıf tespit edildi (Şekil 29). Corpus luteumda; IFITM3 immüno lokalizasyonu, teka lutein hücrelerinde zayıf izlenirken, granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında bu kısımlara oranla daha yoğun olarak belirlendi (Şekil 30). Medullada IFITM3'ün kan damarları çevresinde oldukça yoğun ekspresyon olurken, fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde zayıf ekspresyon olduğu izlendi (Şekil 31).

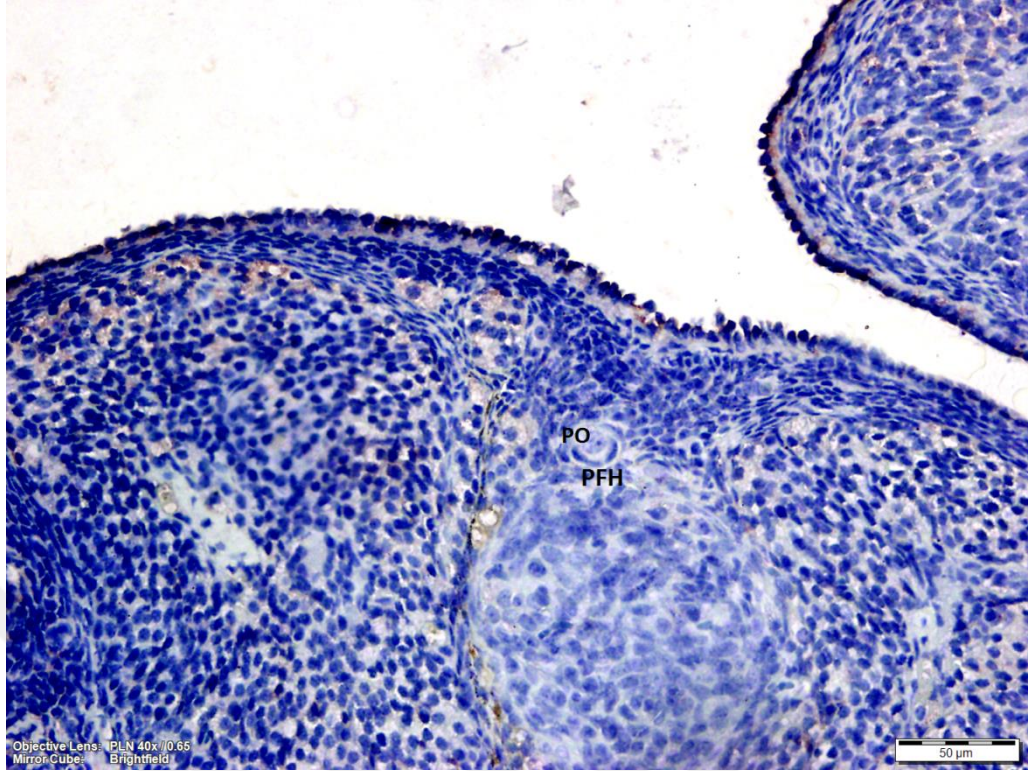


Şekil 24. Kontrol Grubu Ovaryumda IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M), Korteks; (K)

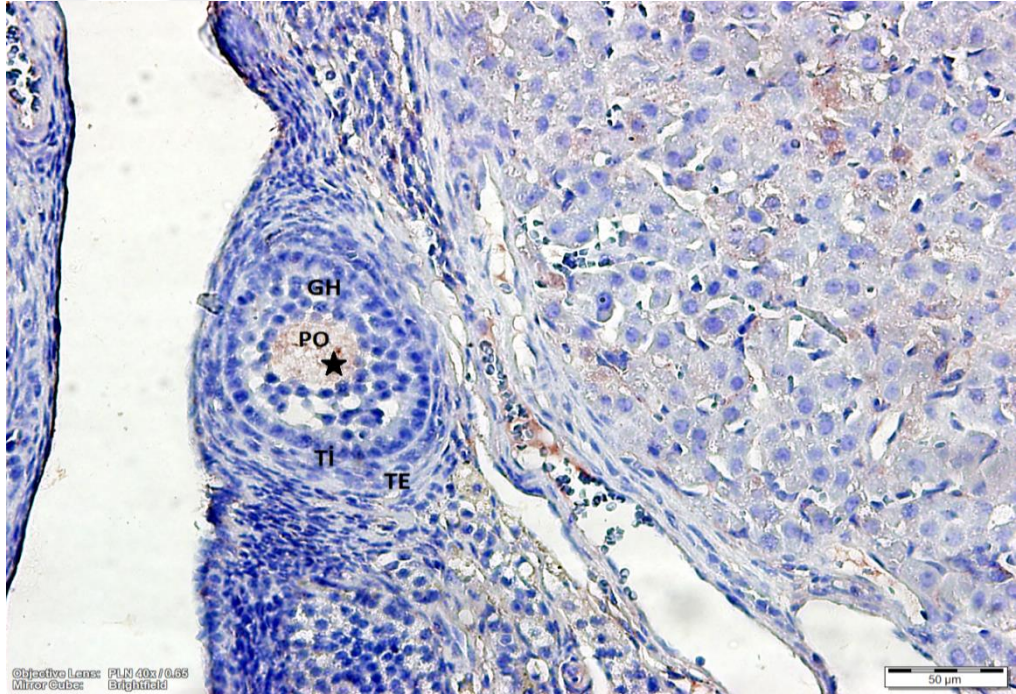


Şekil 25. Kontrol Grubu Germinal Epitel Tabakasında IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Epitel Hücreleri; (E), Tunika Albuginea; (TA)



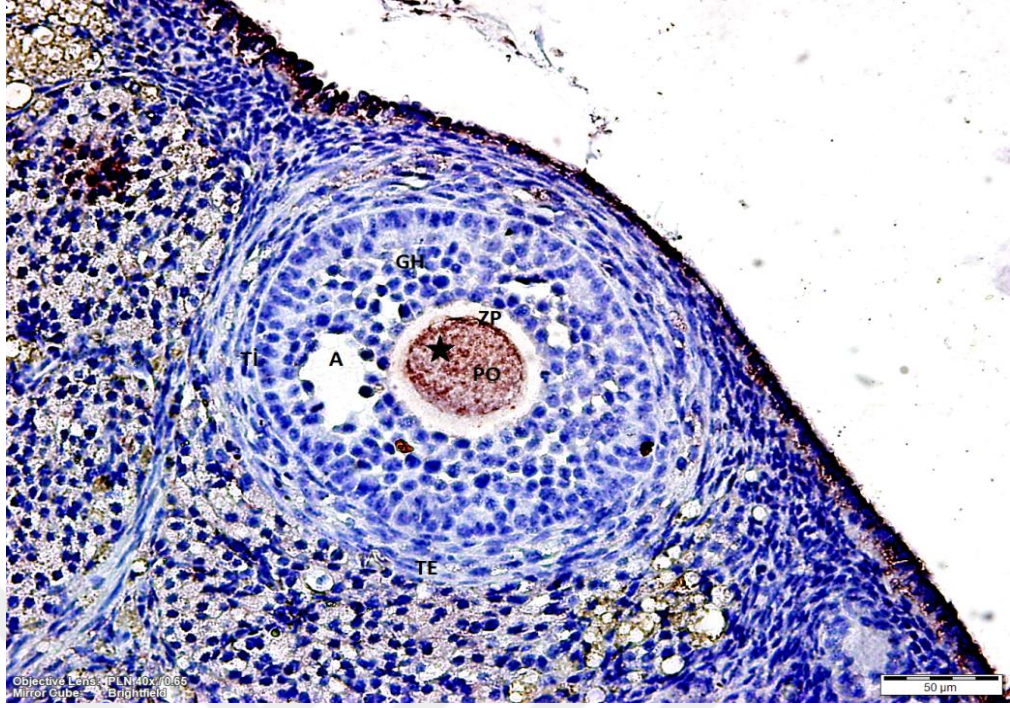


Şekil 26 . Kontrol Grubu Primordiyal Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu  
Primer Oosit; (PO), Primordiyal Folikül Hücreleri; (PFH)



Şekil 27. Kontrol Grubu Primer Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Primer Oosit; (PO), Granüloza Hücreleri; (GH), Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna;  
(TE)



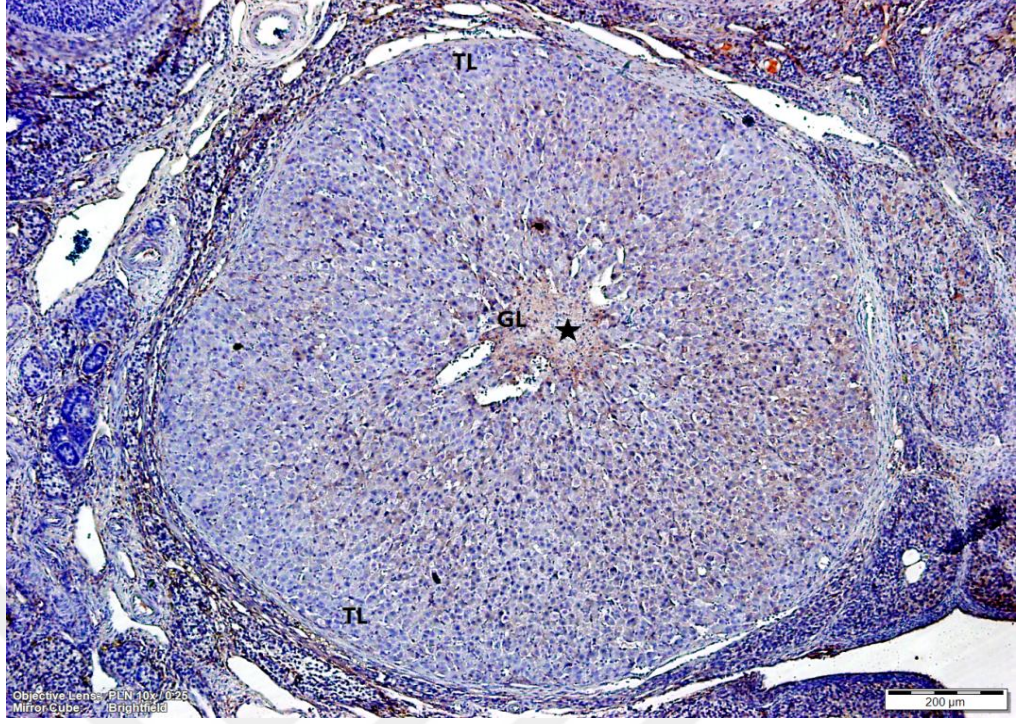


Şekil 28. Kontrol Grubu Sekonder Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Primer Oosit; (PO), Zona Pellucida; (ZP), Granuloza Hücreleri; (GH), Antrum;  
(A), Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna; (TE)

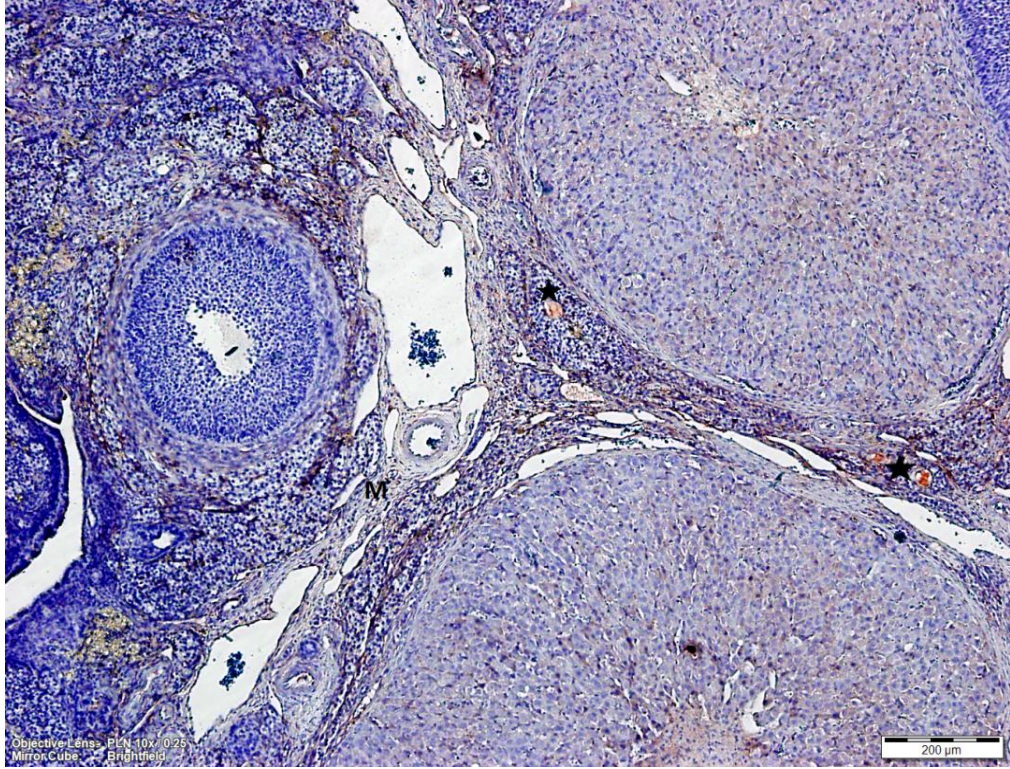


Şekil 29. Kontrol Grubu Tersiyer Folikülde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Sekonder Oosit; (SO), Zona Pellucida; (ZP), Corona Radiata; (CR), Cumulus  
Oophorus; (CO), Granuloza Hücreleri; (GH), Antrum; (A), Teka İnterna; (Tİ), Teka  
Eksterna; (TE)





Şekil 30. Kontrol Grubu Corpus Luteumda IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Granüloza Lutein Hücreleri; (GL), Teka Lutein Hücreleri; (TL)

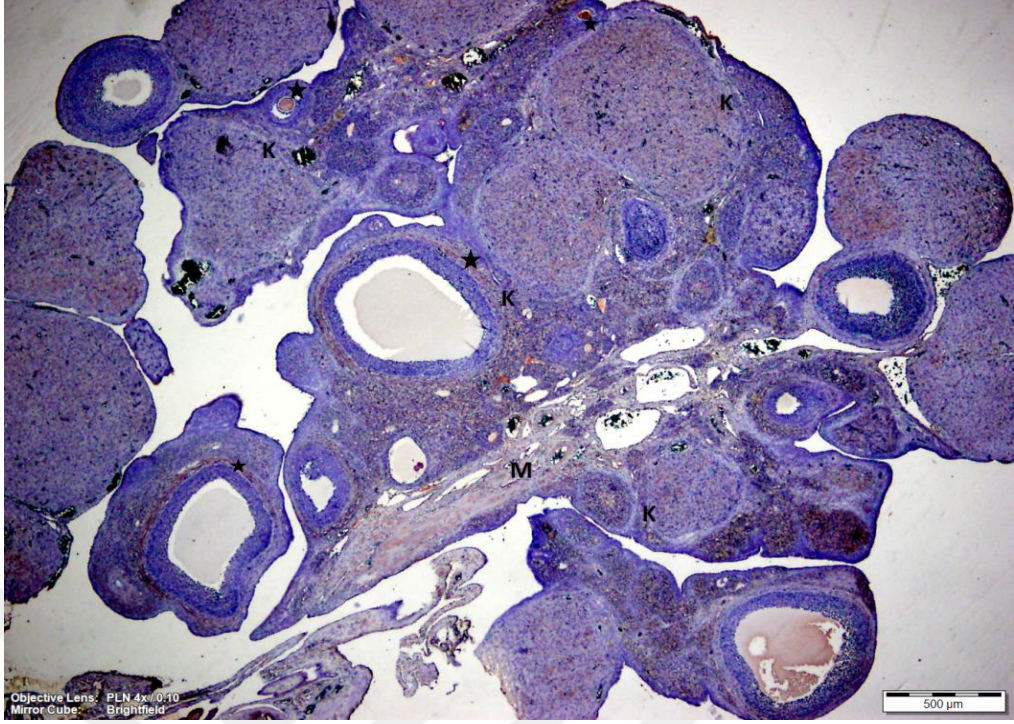


Şekil 31. Kontrol Grubu Medulla Bölgesinde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M)

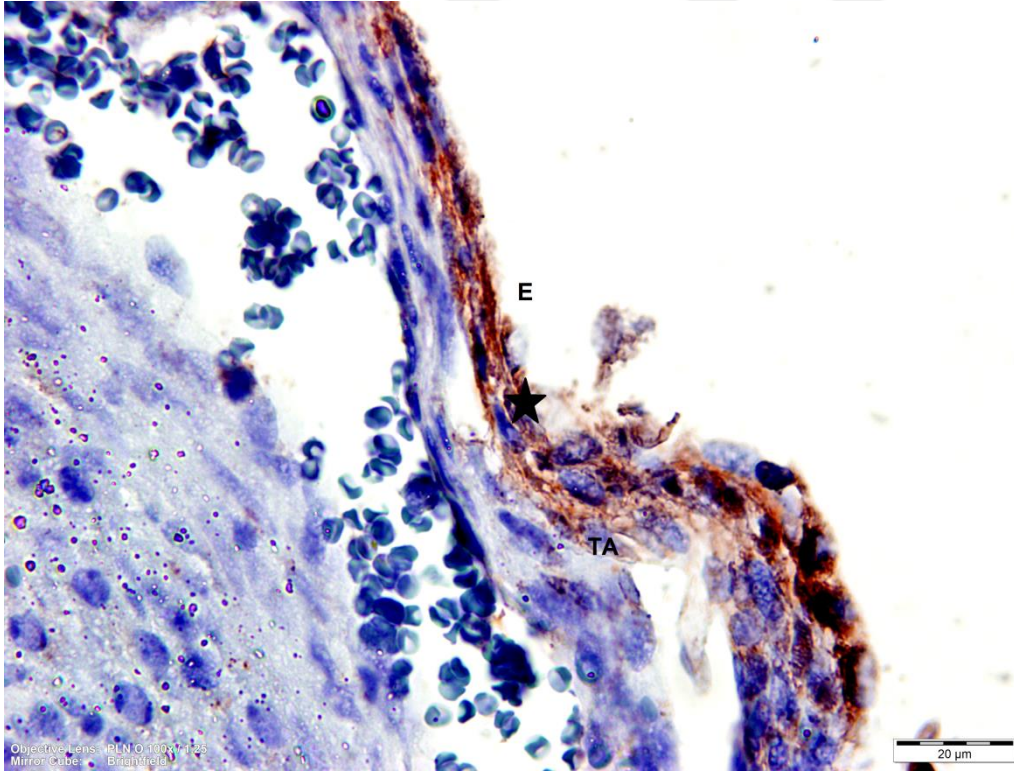
#### 4.2.4 Deney Grubu IFITM3 Bulguları

Diöstrus evresindeki hayvanların ovaryumunun korteks tabakası ve germinal epitelinde IFITM3 ekspresyonu izlenirken; medulla, kan damarları çevresi ve fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde daha zayıf gözlemlendi (Şekil 32-39). IFITM3 immüno lokalizasyonu; germinal epitelde yoğun, tunika albuginea tabakası ile bazal membranda daha zayıf gözlemlendi (Şekil 33). Primordiyal folikülde IFITM3 immüno lokalizasyonu tespit edilmedi (Şekil 34). Primer folikülde; IFITM3 immüno lokalizasyonu, oosit sitoplazmasında yoğun olarak belirlendi. Granüloza hücreleri, teka interna ve teka eksterna tabakalarında IFITM3 ekspresyonu tespit edilmedi (Şekil 35). Sekonder folikülde; primer oosit sitoplazmasında ve zona pellucidada IFITM3 immüno lokalizasyonu yoğun izlendi. Teka tabakaları, granüloza hücreleri ve antrumda IFITM3 ekspresyonu gözlenmedi (Şekil 36). Tersiyer folikülde; corona radiata, cumulus oophorus ve granüloza hücreleri, teka interna ve teka eksterna tabakalarında IFITM3 ekspresyonu belirlenmedi. Sekonder oosit, zona pellucida ve antrumda IFITM3 immüno lokalizasyonu zayıf gözlemlendi. (Şekil 37). Corpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında IFITM3 immüno lokalizasyonu zayıf izlendi. Kan damarlarında IFITM3 immüno lokalizasyonu bu kısımlara oranla daha yoğun tespit edildi (Şekil 38). Medullada IFITM3 ekspresyonu; kan damarlarında ve fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde gözlemlendi ancak çok yoğun değildi (Şekil 39).



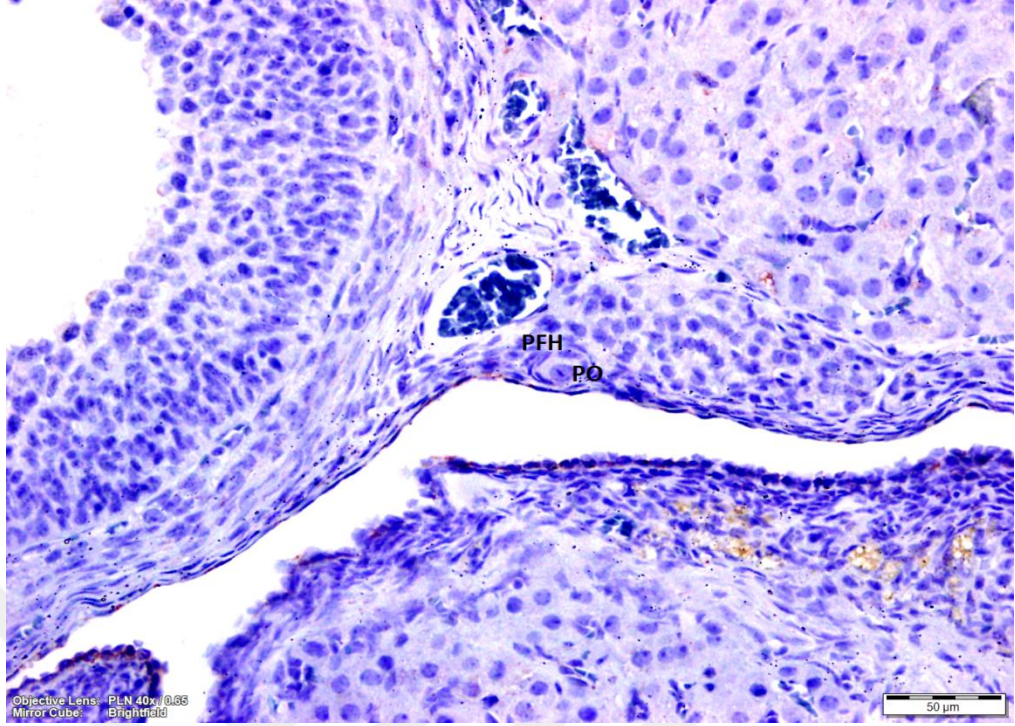


Şekil 32. Deney Grubu Ovaryumda IFITM3 İmmünelokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M), Korteks; (K)

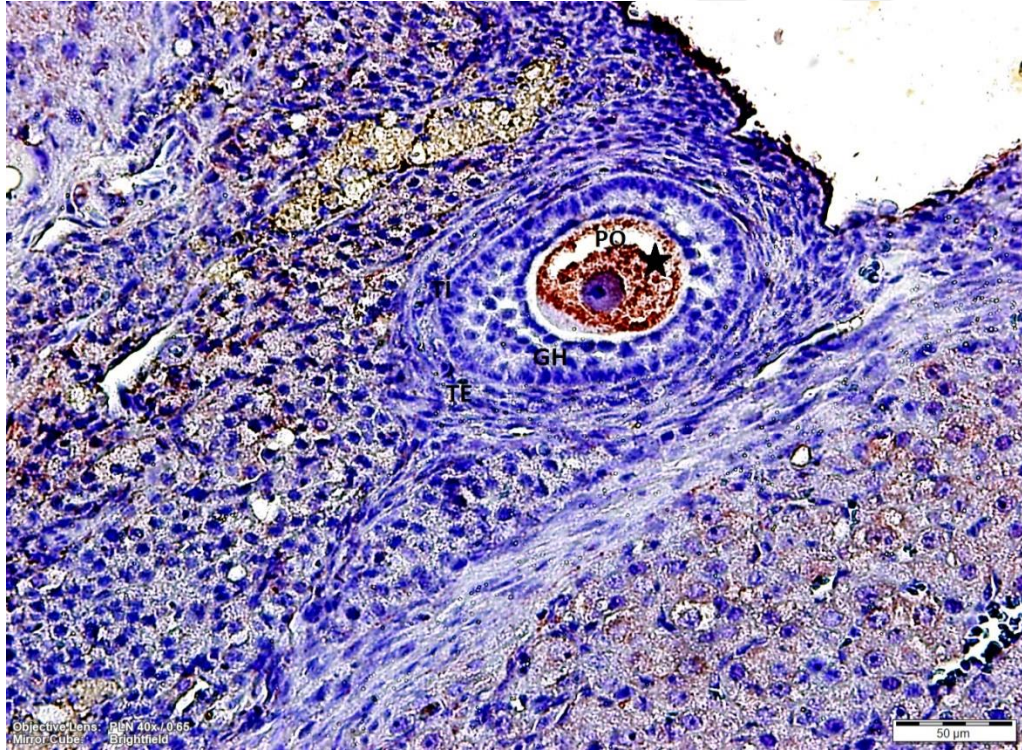


Şekil 33. Deney Grubu Epitel Tabakasında IFITM3 İmmünelokalizasyonu(\*)  
Epitel Hücreleri; (E), Tunika Albuginea; (TA)



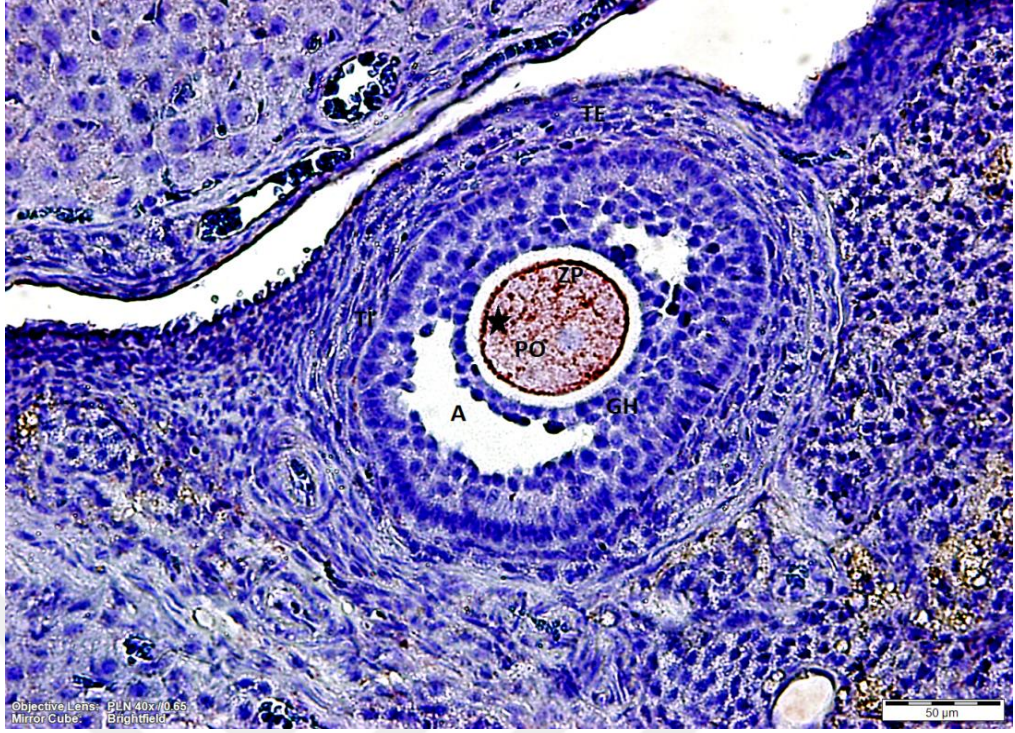


Şekil 34. DeneY Grubu Primordiyal Folikülde IFITM3 İmmünolokalizasyonu  
Primer Oosit; (PO), Primordiyal Folikül Hücreleri; (PFH)

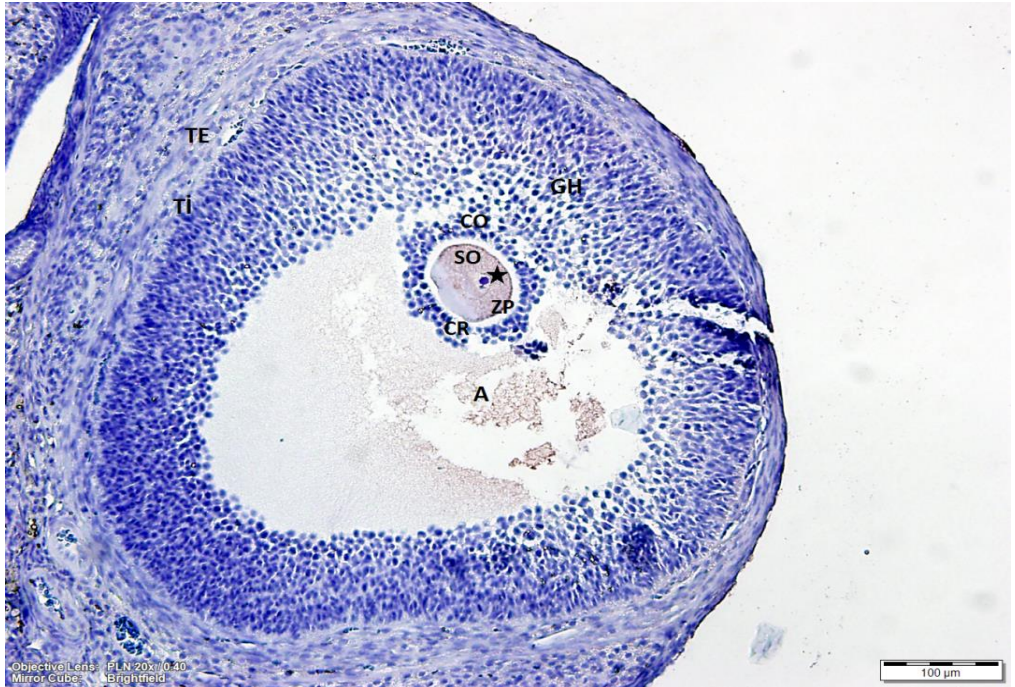


Şekil 35. DeneY Grubu Primer Folikülde IFITM3 İmmünolokalizasyonu(\*)  
Primer Oosit; (PO), Granüloza Hücreleri; (GH), Teka İnterna; (Tİ), Teka Eksterna;  
(TE)



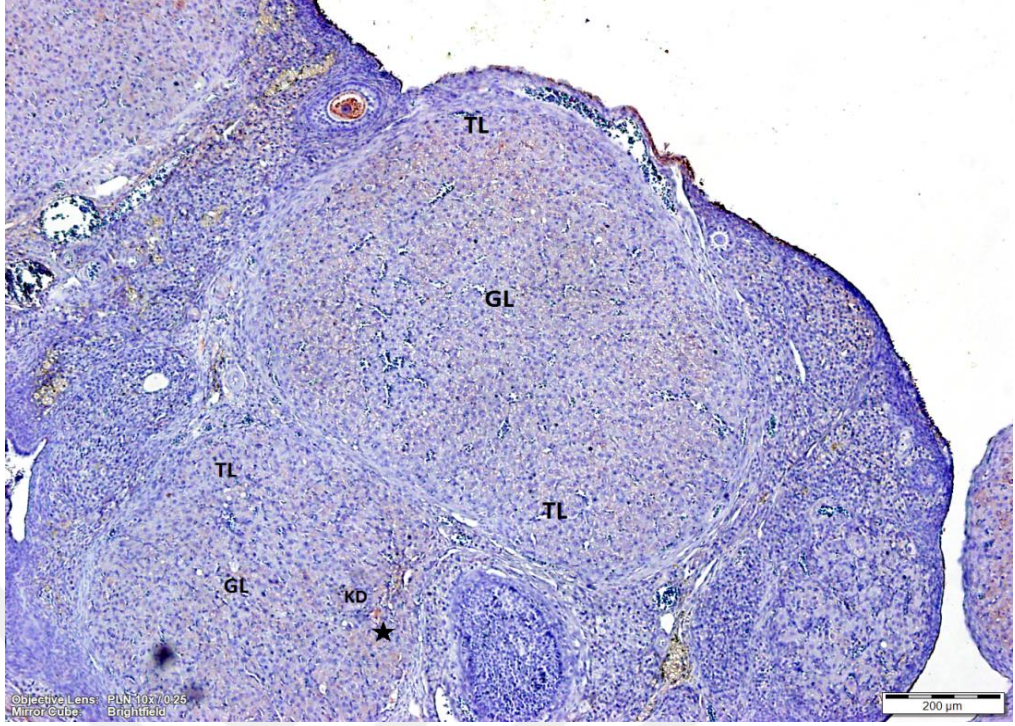


Şekil 36. DeneY Grubu Sekonder Folikülde IFITM3 İmmünolokalizasyonu(\*)  
Primer Oosit; (PO), Zona Pellucida; (ZP), Granüloza Hücreleri; (GH), Antrum; (A),  
TeKa İnterna; (Tİ), TeKa Eksterna; (TE)

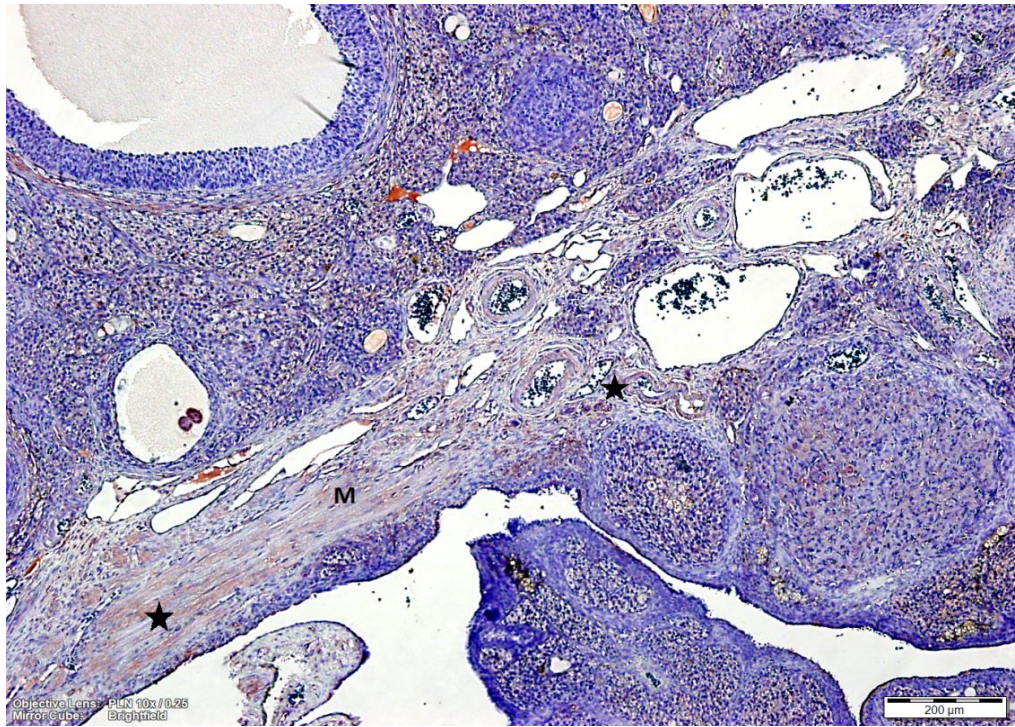


Şekil 37. DeneY Grubu Tersiyer Folikülde IFITM3 İmmünolokalizasyonu(\*)  
Sekonder Oosit; (SO), Zona Pellucida; (ZP), Corona Radiata; (CR), Cumulus  
Oophorus; (CO), Granüloza Hücreleri; (GH), Antrum; (A), TeKa İnterna;  
(Tİ), TeKa Eksterna; (TE)





Şekil 38. Deney Grubu Corpus Luteumda IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Kan Damarları; (KD), Granüloza Lutein Hücreleri; (GL), Teka Lutein Hücreleri; (TL)



Şekil 39. Deney Grubu Medulla Bölgesinde IFITM3 İmmüno­lokalizasyonu(\*)  
Medulla; (M)

**Tablo 2:** Kontrol ve Deneş Grularının, VASA ve IFITM3 İmmünohistokimyasal Lokalizasyonlarının Semikantitatif Değerlendirme Tablosu ( - boyanma olmamış, + hafif derecede boyanmış, ++ orta derecede boyanmış, +++ yoğun derecede boyanmış)

	<b>Kontrol VASA</b>	<b>Deneş VASA</b>	<b>Kontrol IFITM3</b>	<b>Deneş IFITM3</b>
Epitel	-	-	+++	+++
Tunika Albuginea	-	-	+	+
<b>Korteks</b>	+	+	+	+
Korteks Kan Damarı	++	++	++	++
<b>Medulla</b>	+++	+++	+	+
Fibroblast Benzeri Hücre	+++	++	+	+
Medulla Kan Damarı	+++	+++	++	+
<b>Primordiyal Folikül</b>				
Primordiyal Folikül Hücreleri	-	-	-	-
Primer Oosit	++	++	-	-
<b>Primer Folikül</b>				
Granüloza Hücreleri	-	+	-	-
Primer Oosit	+++	+++	++	+++
Teka İnterna	-	-	-	-
Teka Eksterna	-	-	-	-
<b>Sekonder Folikül</b>				
Primer Oosit	++	+++	+++	+++
Zona Pellucida	++	+++	+++	+++
Granüloza Hücreleri	-	++	-	-
Antrum	-	-	-	-
Teka İnterna	-	++	-	-
Teka Eksterna	-	++	-	-
<b>Tersiyer Folikül</b>				
Sekonder Oosit	+	+	+++	+
Zona Pellucida	+	+	+++	+
Granüloza Hücreleri	-	-	-	-
Antrum	+	-	++	+
Corona Radiata	-	-	-	-
Cumulus Oophorus	-	-	-	-
Teka İnterna	++	++	+	-
Teka Eksterna	-	++	+	-
<b>Corpus Luteum</b>				
Corpus Luteum Kan Damarı	+++	++	++	++
Teka Lutein Hücresi	+	+	+	+
Granüloza Lutein Hücresi	+	+	++	+

## 5. TARTIŞMA

Hipertiroidizm, aşırı miktarda tiroid hormonlarının vücut dokuları üzerine etkilerinden kaynaklanan bir durumdur. Tirotoksikozla eşanlamlıdır. Bazıları 'hipertiroidizm' terimini, aşırı tiroid hormonu alımı ya da tiroiddeki tiroid hormonu salıverilmesinin aksine, tiroid bezinin çok fazla tiroid hormonu ürettiğini ifade eden daha dar anlamıyla kullanmayı tercih ederler (57). Hipertiroidizmin en yaygın nedeni Graves hastalığıdır. Hipertiroidi metabolizmayı önemli ölçüde uyarır ve ani kilo kaybına, hızlı veya düzensiz kalp atışlarına, terleme ve sinirliliğe neden olur (58). Hipertiroidizmle ilişkili birincil veya ikincil infertilite prevalansı %5,8 olarak açıklanmıştır. Hipertiroidizmin erken teşhisi ve tedavisi nedeniyle, günümüzde, düzensiz siklus yaygınlığı daha önce tarif edilenle (% 50) karşılaştırıldığında; % 21,5'tir. Ötiroid kadınlardakine kıyasla tirotoksikoz, seks hormonu bağlayıcı globulinin (SHBG) ve östradiolün (E2) serum düzeylerinde artışa neden olmaktadır. Yüksek E2 (östradiol) seviyeleri şu şekilde açıklanabilir: - Artmış SHBG (seks hormonu bağlayıcı globulin) seviyeleri. - Testosteron ve androstenedion düzeylerinde artış ve bunun yanı sıra yükseltilmiş E2'ye dönüşüm oranı. Graves hastalığı olan hastalarda, LH salınımının da arttığı ve bu özelliğin antitiroid ilaçlar kullanıldıktan sonra normale döndüğü gösterilmiştir (59).

VASA (DDX4 olarak da bilinir) DEAD-box protein ailesinin temel bir üyesi olan ATP'ye bağımlı bir RNA helikazıdır (60). VASA, orjinal olarak *Drosophila*'daki dişi soyun gelişiminde gerekli olan maternal etki geni olarak tanımlanmıştır. DEAD-box ailesinin diğer üyeleri gibi, VASA'nın da ATPaz, RNA bağlama ve RNA çözme aktiviteleri olduğu gösterilmiştir (61). İnsan VASA geni (DDX4) germ hücresi soyunda spesifik olarak eksprese edilir ve yalnızca erişkinlerde yumurtalık ve testisteki dokularda saptanabilir. Gen; kurbağa (*Xenopus laevis*), zebra balığı (*Danio rerio*) ve fare dahil olmak üzere omurgasız ve omurgalı türlerde oldukça korunmuş, ancak işlevleri açık şekilde anlaşılmamıştır. VASA'nın germline spesifik ekspresyonu, raportör gen ekspresyonunu çalıştırarak diğer türlerde bir primordial germ hücresi belirteci olarak uygulanmasını sağlamıştır (62). VASA'nın eşey hücre öncüllerinin belirteci olarak faydalı zengin bir geçmişi vardır, eşey hücre öncüllerinin belirlenmesinde ve bakımında pozitif bir transkripsiyon düzenleyicisi olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Bununla birlikte, model dışı organizmalardaki çalışmalar, VASA'nın birçok dokunun somatik hücrelerinde de mevcut olduğunu ortaya koymuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, VASA'nın hücre döngüsünün düzenlenmesinde görev yaptığını da göstermektedir (63).

İnterferon ile uyarılabilir transmembran proteinleri (IFITM'ler), hücre proliferasyonunun kontrolü, homotipik hücre adezyonunun teşviki, viral enfeksiyona karşı koruma, kemik matriksi olgunlaşmasının ve mineralizasyonunun geliştirilmesi ve germ hücresi gelişimine aracılık etme dahil olmak üzere çeşitli rollere sahiptir (64). 1-8U olarak da bilinen

interferona bağı transmembran protein 3 (IFITM3), IFN-indüklenebilir transmembran protein ailesinin önemli üyelerinden biridir (65).

IFN'lar, güçlü antiviral ve immünomodülatör özelliklere sahip geniş şekilde sentezlenmiş sitokinlerdir. IFN ailesinin tip I, tip II ve tip III IFN'ler olmak üzere üç ana sitokin tipi sınıflandırılabilir. İnsanlarda ve farelerde, tip I IFN ailesi, 12 IFN $\alpha$  alt tipi, IFN $\beta$ , IFN $\epsilon$ , IFN $\kappa$  ve IFN $\omega$  6 olmak üzere 16 üyeden oluşur. Buna karşılık, tip II IFN ailesi de sadece antiviral aktiviteler sergileyen bir sitokin olan IFN $\gamma$  içerir. IFN'lerin üçüncü tipi IFN $\lambda$ 1 (aynı zamanda IL-29 olarak da bilinir), IFN $\lambda$ 2 (IL-28A olarak da bilinir) ve IFN $\lambda$ 3'ü (IL-28B olarak da bilinir) içeren IFN $\lambda$  ailesidir (66). Tip I IFN'ler çoğunlukla dendritik hücreler tarafından üretilir ancak T hücreleri, monositler, fibroblastlar ve epitel hücreleri gibi tüm hücre tiplerinde indüklenebilir (67).

İnsanlarda bugüne kadar IFITM1, IFITM2, IFITM3, IFITM5 ve IFITM10 olmak üzere beş interferonla uyarılmış transmembran (IFITM) proteini tespit edilmiştir. IFITM1, IFITM2 ve IFITM3, hem tip I hem de tip II IFN tarafından indüklenebilir. IFITM5 IFN-indüklenebilir değildir ve IFITM10'un fonksiyonu hakkında çok az şey bilinmektedir (68). İlk çalışmalar IFITM1, IFITM2 ve IFITM3'ün gelişme, apoptoz, hücre çoğalması ve hücre sinyallemesinde olası rollerini tanımlamıştır (9). IFITM1, lökositler ve endotel hücreleri tarafından eksprese edilir, anti-proliferatif etkilere sahiptir ve homotipik hücre yapışmasını teşvik eder. IFITM3, hücre proliferasyonunu inhibe eder, IFITM2; çok sayıda hücre dizisinde hem hücre döngüsü durması hem de daha sonra p53'den bağımsız apoptozu indüklemektedir. IFITM3 ifadesi E6.25 gibi erken bir zamanda PGC (primordiyal germ hücresi) haline gelme yetkinliğine sahip hücreleri tanımlar ve muhtemelen varsayımsal PGC'leri somatik hücrelerden homotipik hücre adezyonuyla ayıran ayrı hücre popülasyonunun oluşumunu teşvik ederek germ hücresi gelişiminde rol oynayabilir. IFITM1 ve IFITM3 PGC göçünü de kontrol edebilir (64). Son zamanlarda, IFITM1 ve IFITM3'ün erken ilkel germ hücrelerinin (PGC) göçüne aracılık ettiği fikri önerilmiş fakat çok fazla anlaşılammıştır (49). Fragilis'in PGC'nin belirlenmesine katıldığı ve özellikle germ hücrelerinde eksprese olduğu bildirilmiştir (69).

Tiroid hormonlarının tüm vücudu etkileyen yaygın bir etki alanı olduğu için ovaryum fonksiyonları üzerine olan etki mekanizmaları tam olarak anlaşılammıştır. Buna rağmen, insan ve fare oositlerinde tiroksin için spesifik bağlanma alanlarının saptanması tiroid hormonlarının oositler ve foliküler yapı üzerinde direkt etkili olduğunu düşündürmektedir (70). Daha önce yapılmış olan çalışmalarda TR $\alpha$ 1 (tiroid hormon reseptör alfa 1), TR $\alpha$ 2 (tiroid hormon reseptör alfa 2) ve TR $\beta$ 1 (tiroid hormon reseptör beta 1) reseptörlerinin sıçan ve insan ovaryumunun yüzey epitel hücrelerinin çekirdeğinde güçlü bir şekilde ekspresyonunun olduğu gözlenmiştir (71). Bizim çalışmamızdaki hipertiroidi modelinde ovaryum histolojik yapısında oosit, granuloza hücreleri ile germinatif epitelinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında histolojik olarak



değişiklik gözlenmemesine rağmen, immün boyama açısından oositte ve teka tabakasında fark olduğu gözlenmiştir.

Kaizhi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, nitrik oksit sentaz (NOS) ve tiroid hormon reseptör alfa 1'in (TRa1) olgunlaşmamış hipertiroid ve hipotiroid sıçanlar kullanarak bu bozukluklardaki rollerini incelemişlerdir. Nöronal NOS (nNOS) ve TRa1'in, incelenen tüm sıçan gruplarının oosit, granülosa hücreleri ve teka hücrelerinde mevcut olduğunu bulmuşlardır (72). Tiroid hormonlarının ovaryum foliküllerinin gelişiminde rol oynadığını, hipertiroidi ve hipotiroidi hallerinde de ovaryum folliküler gelişimi boyunca NOS sinyal yolağının da ilişkisi olduğu bildirilmiştir (73). Çalışmamızda hipertiroidili sıçan ovaryum dokusuna bakıldığında, VASA lokalizasyonu, primordiyal, primer ve sekonder foliküllerin oositlerinde izlenmiştir. Tersiyer folikülün oositinde ise boyanma görünür oranda azalmıştır. Sekonder folikülün teka tabakasında eksprese olan VASA, tersiyer folikülün teka tabakasında daha yoğun eksprese olmuştur. Sekonder folikülün antrumunda VASA ekspresyonu gözlenmemiştir. Tersiyer folikülde; zona pellucida, granüloza hücresi, corona radiata, cumulus oophorus ve antrumda da VASA ekspresyonu izlenmemiştir. Folikülün çeşitli kısımlarında eksprese olması VASA'nın folikül gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubundaki teka tabakasında VASA ekspresyonu artmıştır. Hipertiroidi VASA ekspresyonunu artırmış olabilir. Bunun dışında korpus luteumda VASA lokalizasyonu teka lutein ve granüloza lutein hücrelerinde zayıfken kan damarlarında bu kısımlara oranla daha kuvvetli olarak izlenmiştir. Medullada da VASA ekspresyonu yoğun olarak gözlenmiştir. Germinal epitelde ve tunika albuginea da VASA ekspresyonu gözlenmemiştir. Deney grubunda IFITM3 ekspresyonunun epitel, tunika albuginea ve oosit bölgelerinde yoğun olduğu görülmüştür. Primer, sekonder foliküllerin primer oositlerinde IFITM3 lokalizasyonudaha yoğunken, tersiyer folikülün oositinde bu yoğunluk büyük oranda azalmıştır. Sekonder folikülün antrumunda ve teka tabakalarında IFITM3 eksprese olmamıştır. Tersiyer folikülün antrumunda çok az yoğunlukta bir ekspresyon varken, teka tabakaları, corona radiata, cumulus oophorus ve granüloza hücrelerinde IFITM3 ekspresyonu negatiftir. Corpus luteumda IFITM3 lokalizasyonu teka lutein ve granüloza lutein hücrelerinde daha zayıf izlenirken kan damarlarında daha yoğun olarak izlenmiştir. Medullada IFITM3, fibroblast benzeri bağ doku hücrelerinde ve kan damarlarında zayıf ekspresyon göstermiştir. Genel olarak baktığımızda IFITM3'ün folikülün çeşitli kısımlarında lokalize olduğunu gözlemledik, bu da IFITM3'ün foliküler gelişimde bir rolü olabileceği fikrini yaratmıştır. Kontrol grubundaki oosit IFITM3 ekspresyonu, deney grubundakine oranla azalmıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak hipertiroidinin VASA ve IFITM3 ekspresyonlarını etkilediğini söyleyebiliriz.

Bizim çalışmamızdaki gibi hipertiroidi hastalığını çalışan araştırmacılar (Fatih ve ark, 2011) (47), Cx43 antikorunu kullanmışlardır. Kontrol grubu ovaryum histolojik kesitlerin germinal epitel hücreleri, granüloza ve stromal hücrelerde kuvvetli Cx43 ekspresyonu saptarken, hipertiroidi grubu ovaryumlarında ise germinal epitel hücreleri ve stromal hücrelerde Cx43 ekspresyonunda azalma gözlemlenmiştir (74). Gap junctionlar; özellikle Cx43 ve Cx37 folikül gelişimi ve oosit büyümesi için gereklidir. Bizim de çalışmamızda IFITM3 germinal epitelde eksprese olmuştur fakat deney ve kontrol grubunda germinal epitel boyanması bakımından çok bir fark gözlenmemiştir. VASA ise germinal epitelde eksprese olmamıştır. Ayrıca VASA ve IFITM3'ün oositlerde de eksprese olması folikül gelişimi ve oosit büyümesinde rolü olduğunu düşündürmüştür.

Çalışmamızdaki deney ve kontrol grubundaki ovaryumlar diöstrus evresindedir. Korpus luteum en yüksek büyüklüğüne erken diöstrus döneminde ulaşır. Progesteron seviyesi diöstrusta azalır ve artan östradiol-17 $\beta$ 'ya bağlı olarak folliküler gelişim tekrar başlar (39). Bizim çalışmamızda kullandığımız antikorlarımız (VASA ve IFITM3) folikül gelişiminde rol oynadığı için ve diöstrus evresi de foliküler gelişimin tekrar başladığı evre olduğu için bu evrede çalışmayı tercih ettik. Ayrıca tiroid hormonlarının folikül yapısında etkili olabileceği ihtimali de bu evrede çalışmamızın bir nedenidir.

Hipertiroidi oluşturularak yapılan başka bir çalışmada; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipertiroidili ratlarda, ovaryum germinal epitellerindeki progesteron ekspresyonunun östrus, metöstrus ve diöstrus evrelerinde arttığı gözlemlenmiştir (75). Bizim çalışmamızda deney ve kontrol gruplarından vajinal smear örnekleri alınmış ve hayvanların diöstrus evresinde oldukları belirlenmiştir. Halil ve arkadaşları çalışmalarında, kontrol ve deney grubunda Er $\alpha$ 'nin, menstural evrelere göre değişen oranlarda, germinal epitelde, teka hücrelerinde, granüloza hücrelerinde ve korpus luteumda lokalizasyonu gözlenmiştir. Menstural siklus evrelerindeki hipertiroidili grup, kontrol grubuyla kıyaslandığında; teka hücrelerinde ve korpus luteumdaki reseptör sayılarında anlamlı bir artışın, östrojen plazma konsantrasyonunun kendi reseptör konsantrasyonunu artırmasından dolayı olabileceğini düşünmüşlerdir (75). Yaptığımız çalışmada da VASA antikorunun, hipertiroidili grupta sekonder folikülün teka tabakasında ekspresyonu gözlenirken, tersiyer foliküldeki teka tabakasında daha yoğun boyanma gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise sekonder folikülün teka tabakasında ekspresyon yokken tersiyer folikülün teka tabakasında zayıf bir ekspresyon vardır. Bu bulgular, hormon düzeylerindeki değişikliğin antikorların ekspresyonlarını etkiliyor olabileceğini düşündürmüştür.

Juneo ve arkadaşları çalışmalarında, hipotiroidili ve hipertiroidili gebe sıçanların korpus luteumunda anjiogenik faktörlerin ve COX-2'nin çoğalması, apoptozisi ve ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Sonuçlarına göre deneysel

hipertiroidi, gebe sıçanların korpus luteumunda anjiogenik faktörlerin ve COX-2'nin çoğalmasını ve proliferatif aktiviteyi arttırır (76). Tiroid hormonları, yumurtalıkların normal işleyişini korumak ve yumurtayı olgunlaştırmak için üreme hormonları olan östrojen ve progesteron ile etkileşim halindedir. Hipertiroidizm, üreme hormonlarının dengesini bozabilir ve buna bağlı olarak yumurtlama bozuklukları, düzensiz adet, gebe kalamama veya tekrarlayan düşükler gibi birtakım doğurganlık sorunlarına yol açabilir. Granüloza lutein hücreleri; progesteron hormonunu, teka lutein hücreleri; östrojen hormonunu sentezler ve salgırlar. Çalışmamızda deney grubu VASA ve IFITM3'ün korpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında immünolokalizasyonu zayıf izlenirken, kan damarlarında ekspresyonları bu kısımlara oranla daha yoğun tespit edilmiştir. Bulgularımızda IFITM3 antikorunun deney grubunda corpus luteumun granüloza lutein hücrelerindeki ekspresyonunun kontrol grubuna göre daha az olduğunu gözlemledik. Bu da hipertiroidinin progesteron hormonunu etkileyebildiğinden olabilir. Hormon düzeylerindeki değişiklik IFITM3 antikorunun ekspresyonunu etkilemiştir. Hipertiroidi IFITM3'ün ekspresyonunu azaltmıştır.

Kunkun ve arkadaşları; dişi farelerde dağılımını ve rolünü daha iyi anlamak için, yumurtalıklarda VASA (DDX4) proteininin ekspresyonunu tespit etmişlerdir. VASA, apoptotik olmayan tüm foliküllerde oosit sitoplazmasında saptanmıştır. Ovaryumdaki VASA'nın ekspresyon yoğunluğunun, foliküler gelişim ile birlikte azaldığı görülmüştür (60). Bizim bulgularımızda da VASA primordiyal, primer ve sekonder folliküllerin oositerinde yoğun ekspresyon olurken, tersiyer follikülde VASA'nın immünolokalizasyonu azalmıştır, yani folikül gelişimiyle birlikte VASA'nın oositteki ekspresyonu azalmıştır. Onlar ovaryumda yüksek seviyelerdeki VASA proteininin, mayoz bölünmeye devam edebilmek için oositler hazırlayabileceği sonucuna varmışlardır (60). VASA mayoz bölünmede, foliküllerin gelişiminde rol oynayabilir. Oosit sitoplazmasının gelişiminde mitokondrilerin önemli rolü vardır. Mitokondrilerin görevi ATP sentezlemektir. ATP bağlayıcı RNA helikazı olan VASA'nın oositteki mitokondrilerin fazlalığından dolayı bu bölgede ekspresyonları yüksek olabilir.

Bizim bulgularımızla tutarlı olan Diego ve arkadaşlarının yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada; insan germ hücre soyunun kökeni ve işlevini anlamak için çalışılan insan yumurtalıklarında, VASA boyaması birincil folliküllerin oositlerinde sitoplazmik olarak gözlenmiştir, olgunlaşan antral foliküllerde ekspresyon azalmıştır. Oosit hacmi önemli ölçüde arttıkça, muhtemelen seyreltme nedeniyle VASA boyanmasında azalmaya neden olduğunu düşünmüşlerdir (77). Bizim çalışmamızda da folikül gelişimiyle beraber VASA'nın oositlerdeki ekspresyonu azalmıştır ve boyanma sitoplazmikdir.



Nicolas ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; ovaryum endometriozis lezyonlarında izole edilmiş hücre kümelerinde DDX4 ve IFITM3 proteinlerini saptamışlardır. DDX4 ve IFITM3 proteinleri, izole hücrelerde ve yumurtalık endometriyotik kistlerin korteks bölgesindeki hücre kümelerinde eksprese olmuştur. Normal endometrial dokuda DDX4 veya IFITM3 eksprese olmamıştır. Tüm endometriyotik örneklerde, izole veya kümelerde bulunan stromal hücrelerde DDX4 ve IFITM3 sitoplazmik boyanmıştır (78). Çalışmamızda VASA ve IFITM3'ün hem hastalıklı hem de normal ovaryum dokusunda ekspresyonu gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada IFITM3 lokalizasyonunun daha çok oositlerde, epitelde ve sitoplazmik alanlarda, VASA'nın ise oositlerde ve teka tabakasında yoğun olduğunu görmekteyiz. Çalışmamızda, sıçan ovaryumundaki immün boyama yöntemlerimiz, VASA ve IFITM3'ün kendine özgü ekspresyonlarının olduğunu göstermiştir. Nitekim çalışmalarımızın sonucunda sıçan ovaryumunda ister hipertroidili olsun ister hipertroidili olmasın VASA ve IFITM3 ekspresyonunun değiştiğini, farklı ekspresyonlara sahip olduklarını, birçok bölgesinde pozitif ve çoğunlukla sitoplazmik olduğunu görmekteyiz.

Li Zhou ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; dişi germline kök hücrelerini tanımlamak için immünohistokimyasal yöntemle 4-5 haftalık farelerin yumurtalıklarında DDX4 ve Fragilis (IFITM3) ekspresyonunu test etmişlerdir. Sonuçlar, hem DDX4 hem de Fragilis'in sıçan yumurtalıklarının germ hücrelerinde eksprese edildiğini göstermiştir. DDX4, yumurtalık germ hücrelerinin tüm aşamalarında eksprese edilmiştir. Fragilis erken evre germ hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edilirken, sekonder oositlerde ve daha sonraki aşamalarda Fragilis'in sinyalleri zayıftır (79). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada VASA'nın deney ve kontrol grubunda folikül büyüdükçe oositteki ekspresyonu azalmıştır. Ancak bu çalışmanın aksine bizim çalışmamızda deney ve kontrol grubunda primordiyal foliküllerde IFITM3 lokalize olmamıştır. Bu foliküllerde lokalizasyon görülmemesinin nedeni gelişimin erken dönemlerinde IFITM3'ün etkinliğinin az olmasından kaynaklanıyor olabilir. IFITM3'ün ekspresyonunun; kontrol grubunda oositlerde folikül büyüdükçe artmasına rağmen, deney grubunda folikül büyüdükçe oositteki ekspresyon azalması, hipertroidinin IFITM3 ekspresyonunu azalttığını ve folikül gelişimini etkileyebileceğini düşündürmüştür.

IFITM3'ün ovaryum dışında başka dokularda ekspresyonu olduğunu gösteren çalışmalar da olmuştur. Nicolini ve arkadaşları; düşük interferon düzeylerinin meme kanseri hastalarında daha kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (80).

Charles ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; IFITM3'ün nerede ve hangi koşullar altında in vivo olarak ifade edildiğini belirlemek için, enfeksiyona tabi tutulmuş ve enfekte olmamış farelerin akciğerlerini immünohistokimyasal olarak boyamış, böylece IFITM3 ekspresyonunun

başlangıçtaki ve influenza ile uyarılmış örneklerini saptamışlardır. IFITM3'ün ifadesi birçok akciğer dokusunda görülmesiyle birlikte, belirgin indüksiyon, sadece alt solunum yollarının solunum epitelinde görülmüştür. Sonuç olarak; IFITM3'ün interferon ve akut faz yanıtlarından önce influenza'ya karşı koruma sağlayabileceğini düşünmüşlerdir (47). Bizim çalışmamızda da IFITM3'ün germinal epitelde ekspresyonunun olduğu gözlenmiştir fakat hipertiroidili ve sağlıklı gruptaki hayvanların ovaryumlarının germinal epitelinde immünohistokimyasal boyanma yönünden çok bir fark olmadığı gözlenmiştir. Hücre çoğalmasını inhibe etmek gibi görevleri olan IFITM3, tip I ve tip II IFN ile uyarılabilir. Tip I IFN'lerin de epitel hücrelerinde uyarılabilir olmasından dolayı IFITM3'ün germinal epitelde lokalize olabileceği fikrini yaratmıştır.

Oositin sitoplazmik maturasyonunda; birinci polar cismin oluşmasıyla birlikte perivitellin boşluk genişler ve şekillenir. Mitokondriyonların sayısı artar ve yapısal değişimleri oluşur. Golgi komplekslerinden kortikal granül salınmasıyla birlikte ooplazma granüllü bir hal alır. Başlangıçta merkezi olarak yer alan mitokondriyonlar oositin gelişimi ile birlikte periferal bir konuma sahip olmaktadır. Mitokondriyonların, sitoplazmik maturasyonda anahtar rolü üstlendikleri bilinmektedir. Hücre içi metabolik olaylarda, hücre farklılaşmasında ve hücre proliferasyonunda mitokondriyonlar etkin rol oynamaktadırlar (81). Çalışmamızda ATP bağlayıcı RNA helikazı olan VASA'nın daha çok oosit sitoplazmasında eksprese olmasının buradaki mitokondriyonların varlığına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Tiroid hormonları mitokondriyonların sayısını ve aktivitesini artırır. Tiroksin veya triiyodotironin bir hayvana verildiği zaman, vücut hücrelerinin çoğunda mitokondriyonların sayısı kadar büyüklüğü de artar. Hatta hayvanın metabolizma hızındaki artışla hemen hemen doğrudan orantılı olarak, mitokondriyonların toplam yüzey alanı artar. Bu yüzden tiroksinin ana işlevlerinden birinin hücresel işlevlere enerji sağlamak için adenosin trifosfat (ATP) oluşum hızını artıran mitokondriyon sayısı ve aktivitesini artırmak olduğu söylenebilir. Ancak mitokondriyonların sayı ve aktivitesindeki artış, hücrelerin aktivitesindeki artışın nedeni olabileceği gibi sonucu da olabilir (27).

Teka hücrelerine farklılaşacak stromal hücrelerde LH reseptörü bulunmadığından, teka hücre tabakası oluşumu LH etkisi olmaksızın gerçekleşmektedir. Çevresini saracağı folikülün granüloza hücreleri iki ya da daha fazla tabakalı bir şekil haline geldikten sonra, bu hücrelerden salınan teka differensiyasyon faktörleri (TDF), teka prekürsör hücrelerinin LH reseptörlerinin ve androjen biyosentezi için gereken steroidojenik enzimlerin (CYP11A, 3 $\beta$ -HSD ve CYP17) mRNA'larının ekspresyonunu uyardıklarıdır (82). Çalışmamızda sekonder folikülün teka tabakasında eksprese olan VASA, tersiyer folikülün teka tabakasında daha yoğun eksprese olmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubundaki teka tabakasında VASA ekspresyonu artmıştır. IFITM3 ise teka tabakalarında lokalize olmamıştır.

IFITM3'ün teka tabakasında eksprese olmamasının nedeni, IFITM3'ün bağlanacağı LH reseptörleri ve TDF'yi tanınamaması olabilir. VASA'nın teka tabakasında lokalize olmasının nedeni ise, VASA'nın LH reseptörleri ve TDF'yi tanımasından kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak bu çalışmada; VASA (DDX4) ve IFITM3 ekspresyonları ile hipertiroidili sıçan ovaryumu arasındaki ilişki incelenmiştir. Literatürde bu zamana kadar VASA ve IFITM3'ün hipertiroidili sıçan ovaryumunda ekspresyonunu inceleyen başka bir çalışma bulunmadığından elde ettiğimiz sonuçları bu açıdan karşılaştırmak mümkün olmamıştır. Bulgularımıza göre, VASA'nın hipertiroidili sıçanlarda yoğun olarak oositlerde ve büyüyen foliküllerin teka tabakalarında, IFITM3'ün ise; germinal epitelde ve oositlerde kuvvetli eksprese edildiği görülmüştür. VASA antikörünün bu bölgelerde yoğun olarak eksprese edilmesi, oosit sitoplazmasında bol bulunan mitokondrinin sentezlediği ATP'den dolayı olabilir. Teka tabakasında LH reseptörleri vardır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında büyüyen foliküllerin teka tabakalarında VASA ekspresyonunun artması, hipertiroidinin LH seviyesini artırmasından kaynaklanabilir, VASA'nın teka tabakasında lokalize olmasının nedeni; VASA'nın LH reseptörleri ve TDF'yi tanımasından kaynaklanıyor olabilir ve hipertiroidinin VASA ekspresyonunu artırdığı söylenebilir. IFITM3; hem tip I hem de tip II IFN ile indüklenebilir. Tip I IFN'ler çoğunlukla dendritik hücreler tarafından üretilir ancak epitel hücreleri gibi hücre tiplerinde indüklenebilir. IFITM3'ün germinal epitelde eksprese edilmesi, IFN'nin epitel hücrelerinde uyarılmasından kaynaklanabilir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipertiroidili ovaryumda folikül gelişimiyle oosit sitoplazmasındaki ekspresyonun azalması, hipertiroidinin IFITM3 ekspresyonunu azalttığını düşündürebilir.

## 6. SONUÇLAR

- ✓ Hipertiroidinin VASA ve IFITM3 ekspresyonlarını etkilediği,
- ✓ Hipertiroidinin VASA lokalizasyonunu artırdığı,
- ✓ Hipertiroidinin IFITM3 lokalizasyonunu azalttığı,
- ✓ VASA ve IFITM3 ekspresyonlarının birbirlerinden farklı olduğu,
- ✓ VASA'nın daha çok oositte ve büyüyen foliküllerin teka tabakasında, IFITM3'ün ise daha çok germinal epitelde ve oositte eksprese olduğu,
- ✓ VASA ve IFITM3'ün ayrıca kan damarları ve bağ dokusunda lokalize olduğu,
- ✓ VASA ve IFITM3'ün ovaryumun birçok bölgesinde pozitif olduğu ve çoğunlukla sitoplazmik olduğu,
- ✓ Foliküllerin çeşitli kısımlarında VASA ve IFITM3'ün eksprese olmaları foliküler gelişiminde etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

- [1] Junqueira LC, Carneiro J (2009). Temel Histoloji Text & Atlas (Çeviri Editörleri: Seyhun Solakoğlu, Yener Aytekin). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 435.
- [2] <http://www.brukseltupbebek.com/tiroit-hormonlari-gebe-kalmayi-etkileri>, 11.06.2017.
- [3] Bostancı MS, Taşkesen F (2011). Gebelikte tiroid fonksiyon bozuklukları ve sonuçlarının değerlendirilmesi. *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi*, 2 (2):196-201.
- [4] Dişel NR, Şahin G, Açıkalın A (2014). Thyroid storm: A Case Report. *Journal of Academic Emergency Medicine*, 5: 225-8.
- [5] Medrano JV, Ramathal C, Nguyen HN, Simon C, Pera RA (2012). Divergent RNA-binding proteins, DAZL and VASA, induce meiotic progression in human germ cells derived in vitro. *Stem Cells*, 30:441–451.
- [6] Hickford DE, Frankenberg S, Pask AJ, Shaw G, Renfree MB (2011). DDX4 (VASA) is conserved in germ cell development in marsupials and monotremes. *Biol Reprod*, 85: 733–743.
- [7] Zhang Z, Liu J, Li M, Yang H, Zhang C (2012). Evolutionary dynamics of the interferon-induced transmembrane gene family in vertebrates. *PLoS One*, 7(11): 1-13.
- [8] Tanaka SS, Yamaguchi YL, Tsoi B, Lickert H, Tam PP (2005). IFITM/Mil/fragilis family proteins IFITM1 and IFITM3 play distinct roles in mouse primordial germ cell homing and repulsion. *Developmental Cell*, 9:745–756.
- [9] Gorman MJ, Poddar S, Farzan M, Diamond MS (2016). The interferon-stimulated gene Ifitm3 restricts West Nile Virus infection and pathogenesis. *JVI Accepted Manuscript Posted Online*, 1-42.
- [10] Önerci M, Hoşal Ş (2009). Tiroid Cerrahisi. Kulak Burun Boğaz Baş Boyun Cerrahisi'nde Güncel Yaklaşım, 5(1):1.
- [11] Campell N, Reece J (2010). Campell Biyoloji (6. Baskıdan Çeviri) (Çeviren: Ertunç Gündüz, Ali Demirsoy, İsmail Türkan). Palme Yayıncılık, Ankara, 965-988.
- [12] Seçkin İ, Ertürkoğlu Ş, Taşyürekli M, Arda O, Alkan F, Oktar H (2008). Özel Histoloji Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 114-173.
- [13] Çimen M (2014). Anatomi. Öz Emek Matbaa, Sivas, 209- 232.
- [14] Yıldırım M (2013). Sistematik Anatomi. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 552-553.

- [15] Schünke M, Schulte E, Schumacher V, Voll M, Wesker K (2009). Prometheus Anatomi Atlası (Editör: Mehmet Yıldırım). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 23.
- [16] Eşrefoğlu M (2009). Özel Histoloji. Medipres Matbaacılık Yayıncılık, Malatya, 194- 223.
- [17] Ovalle W.K, Nahirney P.C (2009). Netter Temel Histoloji (Çeviri Editörleri: Sevdâ Müftüoğlu, Figen Kaymaz, Pergin Atilla). Güneş Tıp Kitapevleri, Öncü Basımevi, Ankara, 228- 406.
- [18] Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C (2007). Özel Histoloji (2.Baskı). Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 148-184.
- [19] Ross M.H, Pawlina W (2014). Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas (6. Baskıdan Çeviri). (Çeviri Editörü: Barış Baykal). Palme Yayıncılık, Ankara, 756-839.
- [20] Cui D (2011). Atlas of Histology. SPI Technologies, Philadelphia, 33.
- [21] Widmaier E, Raff H, Strang K (2010). Vander İnsan Fizyolojisi (10. Baskı) (Çeviren: Serdar Demirgören), Güven Kitapevi, İzmir, 367-370.
- [22] Erbaş O (2016). Tusem Fizyoloji Histoloji & Embriyoloji. Salmat Basım, Ankara, 261.
- [23] Bozdoğan Ö (2012). Fizyoloji (3.Baskı). Palme Yayıncılık, Ankara, 498.
- [24] <https://tr.wikipedia.org/wiki/Tiroksin>, 11.06.2017.
- [25] <https://tr.wikipedia.org/wiki/Triiyodotironin>, 11.06.2017.
- [26] Turan IO, Yurtlu BS (2010). Tiroid ve Paratiroid Hastalıkları ve Anestezi. *Türkiye Klinikleri J Anest Reanim-Special 16 Topics*, 3(1).
- [27] Guyton AC, Hall JE (2007). Guyton Tıbbi Fizyoloji (11. Baskıdan Çeviri). (Çeviri Editörleri: Hayrunisa Çavuşoğlu, Berrak Çağlayan Yeğen). Nobel Tıp Kitapevi, Ankara, 935-940.
- [28] Adam B, Yiğitoğlu R (2012). Tıbbi Biyokimya Ders Kitabı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 397.
- [29] Terris DJ, Gourin CG (2010). Tiroid ve Paratiroid Hastalıkları: Tıbbi ve Cerrahi Tedavi. (Çeviri Editörleri: Atilla Güngör, Muammer Urhan). Habitat Yayıncılık, İstanbul, 24-25.
- [30] Şenel F (2009). Tiroit Hastalıkları. *Bilim ve Teknik*, 86-87.
- [31] Madazlı R, Bulut B, Oncül M, Artar G, Benian A (2007). *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 38:46 – 50.
- [32] <http://ozaytiryakioglu.com/tihasin.html>, 11.06.2017.
- [33] Boyar Hİ (2013). Kadın infertilitesi ve endokrinolojik hastalıklar, *Dicle Tıp Dergisi*, 40 (4):700-703.
- [34] Drake LD, Vogl AW, Mitchell AWM, Tibbitts RM, Richardson PE (2009). Gray's Anatomi Atlası (Çeviri Editörleri: Sezgin İlgi, Mehmet Yıldırım). Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 229.

- [35] Özfiliz N, Erdost H, Ergün L, Özen A (2013) Temel Veteriner Histoloji ve Embriyoloji (4. Baskı) (Editör: Hatice Erdost). Anadolu Üniversitesi Yayını, Eskişehir, 164-166.
- [36] Gürsoy Erdoğan, Ergin K (2007) Dişi Üreme Sistemi Atlası. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 4-12.
- [37] Ünver Saraydın S, Şahin İnan ZD (2015). Genel Histoloji Laboratuvarı. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 91.
- [38] Ünver Saraydın S, Şahin İnan ZD (2016). Özel Histoloji Laboratuvarı. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 191-195.
- [39] Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S (2008). Ratlarda Üreme. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 39-44.
- [40] Ekizceli G, İnan S, Öktem G, Onur E, Özbilgin K (2015). Sıçanlarda östrus döngüsü ile ilişkili ovaryum ve uterusların histolojik değerlendirmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 41 (2) 65-72.
- [41] Anderson RA, Fulton N, Cowan G, Coutts S, Saunders PTK (2007). Conserved and divergent patterns of expression of DAZL, VASA and OCT4 in the germ cells of the human fetal ovary and testis. *BMC Developmental Biology*, 7:136.
- [42] Kirino Y, Vourekas A, Kim N, Alves FL, Rappsilber J, Klein PS, Jongens TA, Mourelatos Z (2010). Arginine methylation of Vasa protein is conserved across Phyla. *The Journal Of Biological Chemistry*, 285(11):8148 –8154.
- [43] Zou K, Yuan Z, Yang Z, Luo H, Sun K, Zhou L, Xiang J, Shi L, Yu Q, Zhang Y, Hou R, Wu J (2009). Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat Cell Biol*, 11:631–636.
- [44] White YAR, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL (2012). Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nat Med*, 18:413–421.
- [45] Zhang H, Panula S, Petropoulos S, Edsgard D, Busayavalasa K, Liu L, Li X, Risal S, Shen Y, Shao J, Liu M, Li S, Zhang D, Zhang X, Gerner RR, Sheikhi M, Damdimopoulou P, Sandberg R, Douagi I, Gustafsson JA, Liu L, Lanner F, Hovatta O, Liu K (2015). Adult human and mouse ovaries lack DDX4-expressing functional oogonial stem cells. *Nature Medicine*, 21(10):1116-1118.
- [46] Hernandez SF, Vahidi NA, Park S, Weitzel RP, Tisdale J, Rueda BR, Wolff EF (2015). Characterization of extracellular DDX4- or Ddx4-positive ovarian cells. *Nature Medicine*, 21(10):1114-1116.
- [47] Bailey CC, Huang IC, Kam C, Farzan M (2012). Ifitm3 limits the severity of acute influenza in mice. *PLOS Pathogens*, 8(9):1-11.

- [48] Smith RA, Young J, Weis JJ, Weis JH (2006). Expression of the mouse fragilis gene products in immune cells and association with receptor signaling complexes. *Genes Immun*, 7:113–121.
- [49] Lange UC, Adams DJ, Lee C, Barton S, Schneider R (2008). Normal germ line establishment in mice carrying a deletion of the Ifitm/Fragilis gene family cluster. *Mol Cell Biol*, 28:4688–4696.
- [50] Mikedis MM, Downs KM (2013). Widespread but tissue-specific patterns of interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3, FRAGILIS, MIL-1) in the mouse gastrula. *Gene Expr Patterns*, 13(7):225–239.
- [51] Chesarino NM, McMichael TM, Yount JS (2015). E3 ubiquitin ligase NEDD4 promotes influenza virus infection by decreasing levels of the antiviral protein IFITM3. *PLoS Pathog*, 11(8):1-18.
- [52] Diamond MS, Farzan M (2013). The broad-spectrum antiviral functions of IFIT and IFITM proteins. *Nat Rev Immunol*, 13:46–57.
- [53] Smith S, Weston S, Kellam P, Marsh M (2014). IFITM proteins-cellular inhibitors of viral entry. *Curr Opin Virol* 4:71–7.
- [54] Huang IC, Bailey CC, Weyer JL, Radoshitzky SR, Becker MM, Chiang JJ, Brass AL, Ahmed AA, Chi X, Dong L, Longobardi LE, Boltz D, Kuhn JH, Elledge SJ, Bavari S, Denison MR, Choe H, Farzan M (2011). Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathog*, 7(1):1-13.
- [55] Feeley EM, Sims JS, John SP, Chin CR, Pertel T, Chen LM, Gaiha GD, Ryan BJ, Donis RO, Elledge SJ, Brass AL (2011). IFITM3 inhibits influenza A virus infection by preventing cytosolic entry. *Plos Pathog*, 7(10):1-17.
- [56] Li K, Markosyan RM, Zheng YM, Golfetto O, Bungart B, Li M, Ding S, He Y, Liang C, Lee JC, Gratton E, Cohen FS, Liu SL (2013). IFITM proteins restrict viral membrane hemifusion. *Plos Pathog*, 9(1):1-18.
- [57] Lavin N (2012) Endokrinoloji ve Metabolizma El Kitabı (4. Baskı). (Çeviri Editörü: Neslihan Başçıl Tütüncü). Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 439.
- [58] Karaca T, Uz Y.H, Karabacak R, Karaboğa I, Demirtaş S, Çiçek AÇ (2015). Effects of hyperthyroidism on expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and apoptosis in fetal adrenal glands. *European Journal of Histochemistry*, 59(2560):258-261.
- [59] Weiss R.V, Clapauch R (2014). Female infertility of endocrine origin. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 58(2):144-151.
- [60] Song K, Ma W, Huang C, Ding J, Cui D, Zhang M (2016). Expression pattern of mouse Vasa homologue (MVH) in the ovaries of C57BL/6 female mice. *Med Sci Monit*, 22:2656-2663.
- [61] Xiol J, Spinelli P, Laussmann M.A, Homolka D, Yang Z, Cora E, Coute Y, Conn S, Kadlec J, Sachidanandam R, Kaksonen M, Cusack S,



- Ephrussi A, Pilla RS (2014). RNA clamping by Vasa assembles a piRNA amplifier complex on transposon transcripts. *Cell*, 157:1698–1711.
- [62] Tilgner K, Atkinson S.P, Yung S, Golebiewska A, Stojkovic M, Moreno R, Lako M, Armstrong L (2009). Expression of GFP under the control of the RNA helicase VASA permits fluorescence-activated cell sorting isolation of human primordial germ cells. *Stem Cells*, 28:84–92.
- [63] Yajima M, Wessel GM (2011). The multiple hats of Vasa function and its regulation of cell cycle progression. *Mol Reprod Dev*, 78(10-11):861–867.
- [64] Hickford D, Frankenberg S, Shaw G, Renfree MB (2012). Evolution of vertebrate interferon inducible transmembrane proteins. *BMC Genomics*, 13:155.
- [65] Jia Y, Zhang M, Jiang W, Zhang Z, Huang S, Wang Z (2015). Overexpression of IFITM3 predicts the high risk of lymphatic metastatic recurrence in pN0 esophageal squamous cell carcinoma after Ivor-Lewis esophagectomy. *PeerJ*, 3:1355.
- [66] Gonzalez JM, Lee J, David M, Raz E (2012). Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nat Rev Immunol*, 12(2):125–135.
- [67] Cheon H, Borden EC, Stark GR (2014). Interferons and their stimulated genes in the tumor microenvironment. *Semin Oncol*, 41(2):156–173.
- [68] Narayana SK, Helbig KJ, McCartney EM, Eyre NS, Bull RA, Eltahla A, Lloyd AR, Beard MR (2015). The interferon-induced transmembrane proteins, IFITM1, IFITM2, and IFITM3 inhibit hepatitis C virus entry. *The Journal Of Biological Chemistry*, 290(43):25946–25959.
- [69] Zou K, Hou L, Sun K, Xie W, Wu J (2011). Improved efficiency of female germline stem cell purification using fragilis-based magnetic bead sorting. *Stem Cells Dev*, 20(12):2197-2204.
- [70] Krassas GE, Poppe K, Glinioer D (2010). Thyroid function and human reproductive health. *Endocrine Reviews*, 31 (5):702-755.
- [71] Rae MT, Niven D, Ross A, Forster T, Lathe R, Critchley HOD, Ghazal P, Hillier SG (2004). Steroid signalling in human ovarian surface epithelial cells: the response to interleukin-1 determined by microarray analysis. *Journal of Endocrinology*, 183:19–28.
- [72] Zheng K, Sulieman FJ, Li J, Wei Q, Xu M, Shi F (2015). Nitric oxide and thyroid hormone receptor alpha 1 contribute to ovarian follicular development in immature hyper- and hypo-thyroid rats. *Reproductive Biology*, 15(1):27-33.
- [73] Fedail JS, Zheng K, Wei Q, Kong L, Shi F (2014). Roles of thyroid hormones in follicular development in the ovary of neonatal and immature rats. *Endocrine*, 46:594–604.

- [74] Oltulu F (2011). Sıçan hipertiroidi modelinde, ovaryum ve testis dokusunun histokimyasal, immünohistokimyasal ve moleküler olarak araştırılması, Ege Üniveristesi, Uzmanlık Tezi, 149.
- [75] Bozoğlu H (2013). Deneysel hipertiroidi oluşturulmuş sıçanlarda östrus siklusunun değişik evrelerinde dişi genital organlarda (ovaryum ve uterus) östrojen ve progesteron reseptör dağılımının immünohistokimyasal olarak incelenmesi, Trakya Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 58.
- [76] Silva JF, Ocarino NM, Serakides R (2014). Luteal activity of pregnant rats with hypo-and hyperthyroidism. *Journal of Ovarian Research*, 7:75.
- [77] Castrillon DH, Quade BJ, Wang TY, Quigley C, Crum CP (2000). The human VASA gene is specifically expressed in the germ cell lineage. *PNAS*, 97(17):9585-90.
- [78] Fraunhofer NA, Meilerman Abulafia A, Stella I, Galliano S, Barrios M, Vitullo AD (2015). Identification of germ cell-specific VASA and IFITM3 proteins in human ovarian endometriosis. *Journal of Ovarian Research*, 8:66.
- [79] Zhou L, Wang L, Kang JX, Xie W, Li X, Wu C, Xu B, Wu J (2014). Production of fat-1 transgenic rats using a post-natal female germline stem cell line. *Molecular Human Reproduction*, 20(3):271–281.
- [80] Nicolini A, Carpi A, Rossi G (2006). Cytokines in breast cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*, 17:325–337.
- [81] Kuyucu Y, Tap Özgöl (2009). Oosit Olgunlaşma Süreci ve Düzenleyici Faktörler. *Arşiv*, 18:227-240.
- [82] Matur İ, Solmaz Suna (2010). Ovarian Folliköl Gelişiminin Moleküler Temelleri. *Arşiv*, 19:193-205.

**İZİNLER**  
**EK 1**

**T.C.**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

Sayı : 65202830-050.04.04-  
Konu : Etik Kurul Kararı.

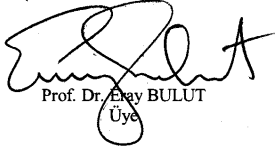
07.01.2016

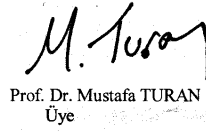
Sayın

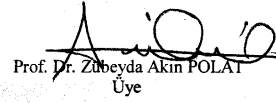
Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN  
Tıp Fakültesi  
Histoloji-Embriyoloji

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.01.2016 tarihinde Prof. Dr. Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

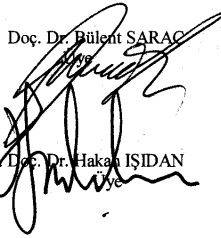
Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN' nın yürütücülüğünü yapmış olduğu 16.12.2015 tarih ve 88 sayılı "Deneyel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçan Ovaryumlarında VASA(DDX4) ve IFITM3 İmmüno lokalizasyonlarının Belirlenmesi." isimli Araştırma Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

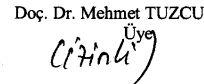
  
Prof. Dr. Eray BULUT  
Üye

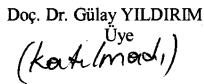
  
Prof. Dr. Mustafa TURAN  
Üye

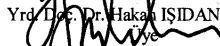
  
Prof. Dr. Zübeyda Akin POLAT  
Üye

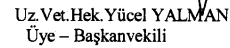
  
Prof. Dr. İhsan HUBBEZOĞLU  
Üye

  
Doç. Dr. Bülent SARAC  
Üye

  
Doç. Dr. Mehmet TUZCU  
Üye

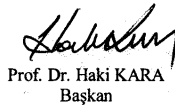
  
Doç. Dr. Gülay YILDIRIM  
Üye  
(katılmadı)

  
Yrd. Doç. Dr. Hakan İŞİDAN  
Üye

  
Uz. Vet. Hek. Yücel YALMAN  
Üye - Başkanvekili

  
Özcan KARATAŞ  
Sivil Üye

  
Hilmi GÜL  
Sivil Üye

  
Prof. Dr. Haki KARA  
Başkan

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Kübra BAŞOL
Doğum Yeri ve Tarihi	Kütahya-1992
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, 58140-Sivas
E-posta Adresi	<a href="mailto:basolkubra.43@gmail.com">basolkubra.43@gmail.com</a>

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Hüsnü Kişioğlu Lisesi, 2010, Kütahya
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 2014
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, 2017 Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Anabilim Dalı, 2017

### İş Tecrübesi

Cumhuriyet Üniversitesi Yüksek Lisans Öğrencisi, 2014