



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HİPERTİROİDİNİN SIÇAN HİPOFİZ-OVARYUM  
EKSENİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNE KARŞI E  
VİTAMİNİNİN KORUYUCU ROLÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**Elfide Gizem KIVRAK**

**Samsun  
Aralık-2019**



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HİPERTİROİDİNİN SIÇAN HİPOFİZ-OVARYUM EKSENİ  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNE KARŞI E VİTAMİNİNİN  
KORUYUCU ROLÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**Elfide Gizem KIVRAK**

**Danışman  
Prof. Dr. Süleyman KAPLAN**

**Samsun  
Aralık-2019**

**T.C.**  
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Elfide Gizem KIVRAK tarafından Prof. Dr. Süleyman KAPLAN Danışmanlığında hazırlanan “Hipertiroidinin Sıçan Hipofiz-Ovaryum Eksen Üzerindeki Etkilerine Karşı E Vitamininin Koruyucu Rolü” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 16/12/2019 tarihinde yapılan sınav ile Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Süleyman KAPLAN, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Rüştü Cankon GERMİYANOĞLU, Ankara Şehir Hastanesi

Üye: Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ, Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. İlknur KESKİN, Medipol Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Yavuz Kürşad DAŞ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

**ONAY**

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / .... /.....  
**Prof. Dr. Ahmet Uzun**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca akademik anlamda donanımlı bir şekilde yetişmemde büyük bir emeğe sahip olan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman KAPLAN'a,

Tez çalışmamın stereolojik analizlerinin bir kısmını anabilim dallarındaki stereoloji çalışma istasyonunda yapmama müsaade eden Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Başkanı Sayın Doç. Dr. Levent TÜMKAYA'ya,

Tez çalışmama ait biyokimyasal testlerin laboratuvarlarında yapılmasına izin veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Bahattin AVCI'ya, biyokimyasal analizlerimi yapmamda yardımcı olan Eser ÇAKMAK'a,

Lisans eğitimimden itibaren her daim yanımda olan, hayatın bana kattığı en büyük değer can dostum, kardeşim Arş. Gör. Kıymet Kübra YURT'a,

Tez çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Dr. Ömür Gülsüm DENİZ, Arş. Gör. Gamze ALTUN ve Yük.Lis.Öğr. Ayşenur KAYA'ya

Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (KİTAM)'nde tezime ait dokuların elektron mikroskopunda (SEM-TEM) incelenmesi ve görüntülenmesi esnasında yardımlarını esirgemeyen Yunis GEDİK'e

Tez resimlerimin çiziminde büyük bir emeğe sahip olan Sn. Mehmet KEPENEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemde büyük bir emeğe sahip olan ve varlıklarıyla beni her zaman mutlu eden değerli babam İsmail KIVRAK, sevgili annem Nilgün KIVRAK, kardeşim Bensu Sinem DEMİRCİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez, bugünlere gelmemde büyük bir emeğe sahip olan başta aileme ve tüm hocalarıma en derin saygılarımla atfedilmiştir.

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.18.023 nolu proje ile desteklenmiştir.



## ÖZET

### HİPERTİROİDİNİN SIÇAN HİPOFİZ-OVARYUM EKSENİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNE KARŞI E VİTAMİNİNİN KORUYUCU ROLÜ

**Amaç:** Deneysel olarak oluşturulan hipertiroidi (Hipert) modelinin hipofiz-ovaryum eksenini üzerindeki olası etkileri ve E vitamininin (Vit E) bu negatif etkilere karşı muhtemel koruyucu rolünün araştırılması.

**Materyal ve Metot:** *Wistar albino* türü 8-10 haftalık, 200-300 gr ağırlığında, her grupta 8 adet hayvan bulunacak şekilde 40 adet dişi sıçan 5 gruba ayrıldı. Çalışmamızda Hipert grubundaki hayvanlara 21 gün boyunca 0,3 mg/kg/gün intraperitoneal olarak (i.p.) L-tiroksin verildi. Kontrol (Kont) grubundaki hayvanlar ise herhangi bir işleme tabi tutulmadı. Sham grubundaki hayvanlara 21 gün boyunca oral gavajla 1 mL mısır yağı verildi. Hipert+Vit E grubundaki hayvanlara 21 gün boyunca 0,3 mg/kg/gün i.p. L-tiroksin ve oral gavajla mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg/gün/1 mL E vitamini verildi. Vit E grubundaki hayvanlara 21 gün boyunca oral gavajla mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg/gün/1 mL E vitamini verildi. Çalışma sonunda ovaryum dokularında elektron mikroskopik ve streolojik analizler yapıldı. Ayrıca kan serum örneklerinde tiroid uyarıcı hormon (TSH), serbest tiroksin (ST4), folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ve katalaz (CAT) enzim aktivite tayinleri yapıldı.

**Bulgular:** Hipert grubunda, ovaryum folikül sayısı ve hacimlerinin, korpus luteum ve korteks hacminin, vücut ağırlığının, TSH, FSH ve SOD düzeylerinin Kont grubuna göre önemli derecede azaldığı, buna karşın bağ doku hacminin, CAT enzim aktivitesinin ve ST4 düzeylerinin ise Kont grubuna göre arttığı gözlenmiştir. E vitamini takviyesi yapılan Hipert grubunda, E vitamininin antral folikül, korpus luteum, bağ doku hacimleri ile CAT aktivitesi, SOD ve FSH düzeyleri üzerinde koruyucu rolünün olduğu gözlemlendi.

**Sonuç:** Sonuç olarak, hipertiroidinin ovaryum foliküllerini azaltarak infertilite problemlerine neden olabileceği, hipofiz-ovaryum eksenini üzerinde gözlenen hipertiroidinin bu olumsuz etkilerine karşı E vitamininin oksidan-antioksidan homeostazisini sağlayarak hipofiz-ovaryum eksenini üzerinde düzenleyici rol oynadığı biyokimyasal, histopatolojik ve stereolojik bulgularımızla gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** E vitamini; hipertiroidi; hipofiz; ovaryum; sıçan

**Elfide Gizem KIVRAK, Doktora Tezi,**

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Aralık-2019**

## ABSTRACT

### THE PROTECTIVE ROLE OF VITAMIN E AGAINST THE EFFECTS OF HYPERTHYROIDISM ON THE RAT PITUITARY-OVARY AXIS

**Aim:** In this study, we aimed to investigate the possible effects of experimentally induced hyperthyroidism (Hypert) model on the pituitary-ovarian axis and the possible protective role of vitamin E (Vit E) against these negative effects.

**Material and Methods:** In total of 40 *Wistar albino* rats, 10-week-old, 200-300 g weight, were divided into 5 groups, each group consists of 8 animals. Hypert group was received L-thyroxine intraperitoneally, 0.3 mg/kg/day for 21 days. Animal in the control (Cont) group was not subjected to any treatment. Sham group animals were given 1 mL/day corn oil by oral gavage for 21 days. The animals in the Hypert + Vit E group were intraperitoneally exposed to L-thyroxine (0.3 mg/kg/day) and 100 mg/kg/day/1 mL vitamin E dissolved in corn oil by oral gavage for 21 days. Animals in the Vit E group were received 100 mg/kg/day/1 mL vitamin E dissolved in corn oil by oral gavage for 21 days. At the end of the experiment, electron microscopic and stereological analyzes were done on the ovarian tissues. In addition, thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT4), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), superoxide dismutase (SOD) levels and catalase (CAT) enzyme activity were determined in blood serum samples.

**Results:** As a result of analysis, it was observed that ovarian follicle numbers and volumes, corpus luteum and cortex volume, body weights, TSH, FSH and SOD levels decreased significantly in the Hypert group in comparison of the Cont, on the other hand, the volume of connective tissue, CAT enzyme activity and FT4 levels increased in Hypert group in comparison of the Cont. It was observed that vitamin E supplementation had a protective role on the volumes of antral follicle, corpus luteum and connective tissue, and CAT activity and SOD, FSH levels.

**Conclusion:** It was observed that hyperthyroidism decreases the number of ovarian follicles that may cause infertility problem. It was seen that negative effect of hyperthyroidism on the pituitary-ovarian axis would be ameliorated by means of vitamin E usage since it may have a homeostasis role on this axis that was shown by biochemical, histopathological and stereological analyses of present study.

**Keywords:** Hyperthyroidism; ovary; pituitary; rat; vitamin E

Elfide Gizem KIVRAK, Ph. D. Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, December-2019

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>DIT</b>	: Diiyodotirozin
<b>DK</b>	: Değişim katsayısı
<b>DÖ</b>	: Deney öncesi
<b>DS</b>	: Deney sonrası
<b>E2</b>	: Östradiol
<b>FSH</b>	: Folikül uyarıcı hormon
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
<b>GSI</b>	: Gonadosomatik indeks
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>HK</b>	: Hata katsayısı
<b>LH</b>	: Luteinleştirici edici hormon
<b>MCT</b>	: Monokarboksilaz transporter
<b>MIT</b>	: Monoiyodotirozin
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentetaz
<b>OATP1C1</b>	: Organik anyon transporter
<b>OsO<sub>4</sub></b>	: Osmiyum tetraoksit
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>SHBG</b>	: Seks hormonu bağlayıcı globülin
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>SRÖ</b>	: Sistematik rastgele örnekleme
<b>T<sub>3</sub></b>	: L-triiodotironin
<b>T<sub>4</sub></b>	: L-tiroksin (tetraiodotironin)
<b>TAI</b>	: Tiroid otoimmünitesi
<b>TAK</b>	: Toplam antioksidan kapasitesi
<b>TGF</b>	: Transformasyon büyüme faktörü
<b>TGF-β1</b>	: Transformasyon büyüme faktörü-β1
<b>THR</b>	: Tiroid hormonu reseptörü
<b>TOK</b>	: Toplam oksidan kapasitesi
<b>TPO</b>	: Tiroid peroksidaz

<b>TRH</b>	: Tirotropin salgılatıcı hormon
<b>TSH</b>	: Tiroid stimüle edici hormon
<b>TSHR</b>	: Tiroid stimüle edici hormon reseptörü
<b>TTPA</b>	: A-tokoferol transfer proteini



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	7
2.1. Tiroid Bezi .....	7
2.1.1. Tiroid Bezi Anatomisi .....	7
2.1.2. Tiroid Bezinin Embriyonik Gelişimi .....	8
2.1.3. Tiroid Bezi Histolojisi .....	9
2.1.4. Tiroid Hormonlarının Sentezi.....	10
2.1.5. Tiroid Hormonlarının Etki Mekanizması .....	12
2.2. Hipotalamus – Hipofiz – Tiroid Eksenini .....	14
2.3. Hipertiroidizm.....	15
2.3.1. Hipertiroidizmin İnsan Sağlığı Üzerine Metabolik Etkileri .....	17
2.3.2. Hipertiroidizmin İnfertilite Üzerine Etkileri .....	21
2.4. Ovaryumun Anatomisi.....	24
2.4.1. Ovaryumun Histolojisi .....	24
2.4.2. Ovaryum Folikülleri ve Gelişimi.....	25
2.5. E Vitamininin Moleküler Yapısı.....	29
2.5.1. Oksidatif Stres ve Dişi Üreme Sistemi Üzerine Etkileri .....	30
2.5.2. Dişi Üreme Sisteminde E Vitamininin Antioksidatif Rolü .....	34
2.6. Stereoloji .....	37
2.6.1. Tarafsız Sayım Çerçevesi .....	38
2.6.2. Optik Parçalama Yöntemi .....	38
2.6.3. Cavalieri Yöntemi .....	39
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	41
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	41
3.2. Histolojik Yöntemler .....	42
3.2.1. Perfüzyon.....	42
3.2.2. Işık Mikroskopik İşlemler .....	43
3.3. Stereolojik Analizler .....	46
3.3.1. Optik Parçalama Yöntemi ile Folikül Sayılarının Hesaplanması.....	46
3.3.2. Hacim Hesabı .....	48
3.4. Elektron Mikroskopik İşlemler .....	50
3.4.1. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) Analizler için Doku Takibi .....	50
3.4.2. Taramalı Elektron Mikroskopik (SEM) Analizler için Doku Takibi .....	51
3.5. Biyokimyasal Analizler .....	51
3.5.1. TSH ve ST4 Hormon Analizi .....	51
3.5.2. FSH ve LH Hormon Analizi.....	52
3.5.3. Katalaz.....	52
3.5.4. Süperoksit Dismutaz.....	53
Gonadosomatik İndeksin Hesaplanması .....	54

3.7. İstatistiksel Analiz.....	54
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>55</b>
4.1. Stereolojik Bulgular.....	55
4.1.1. Optik Parçalama Yöntemi ile Elde Edilen Bulgular.....	55
4.1.2. Hacimsel Sonuçlar.....	61
4.2. Biyokimya Sonuçları.....	70
4.2.1. TSH Hormon Tayini.....	70
4.2.2. ST4 Hormon Tayini.....	72
4.2.3. Grupların Ortalama Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyi.....	73
4.2.4. Grupların Ortalama Katalaz Enzim Aktivitesi.....	75
4.2.5. Grupların Ortalama FSH Hormon Düzeyleri.....	76
4.2.6. Grupların Ortalama LH Hormon Düzeyleri.....	77
4.3. Açlık Kan Şeker Testi.....	79
4.4. Relatif Ağırlık Kaybı.....	81
4.5. Deney Sonunda Elde Edilen Gonadosomatik İndeks Değerleri.....	82
4.6. Histopatolojik Bulgular.....	83
4.6.1. Yarı-İnce Kesitlerden Elde Edilen Işık Mikroskopik Bulgular.....	83
4.6.2. Elektron Mikroskopik Bulgular.....	111
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>169</b>
5.1. Hipertiroidi ve Hipofiz-Ovaryum Ekseni.....	170
5.2. E vitamini.....	179
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>185</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>188</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>208</b>
<b>ÖZ GEÇMİŞ.....</b>	<b>209</b>

## 1. GİRİŞ

Tiroid bezi, neredeyse bütün metabolizma hızını düzenleyen, vücutta ısı oluşumunu, oksijen tüketimini, kalbin kasılma gücünü ve nabız hızını artıran ve daha pek çok hayati fonksiyonlarda ana rol oynayan önemli bir salgı bezidir (Silvestri ve ark., 2005; Kim, 2008). Tiroid bezinden salgılanan hormonların birçok doku, organ ve sistemlerin işleyişine etkisi bulunmaktadır. Tiroid hormonlarının çok ya da az fonksiyon görmesi, pek çok rahatsızlığa neden olmanın yanı sıra, metabolizma hızındaki değişikliklerle hayat kalitesini olumsuz etkilemektedir (De Leo ve ark., 2016; Kravets, 2016). Tiroid bezinin hiperfonksiyonu veya ekstra tiroidal kaynaklı olarak dolaşımda tiroid hormonlarının artışı ile karakterize endokrin bir hastalık olan hipertiroidizmde bazal metabolizma büyük oranda hızlanmaktadır. Tiroid hormonları başta cinsiyet hormonları olmak üzere diğer hormonlar ile etkileşim içerisindedir (Mintziori ve ark., 2012). Erkeklerde testis, kadınlarda ise yumurtalıkların normal işleyişi için tiroid hormon düzeyinin normal olması gerekir. Bu hormonların fazla veya az çalışması, erkek ve kadın doğurganlığını olumsuz etkileyebilmektedir. Çalışmalar, tiroid hastalıklarının daha çok kadınların bir sorunu olduğunu göstermektedir (Janssen ve ark., 2004; Carp ve ark., 2012; Vissenberg ve ark., 2015). Tiroid otoimmüitesi (TAI), üreme çağındaki kadınların %5-20'sini etkileyen en yaygın endokrin bozukluktur. Bu konuyla ilgili araştırmaların çoğunda kısırlık merkezlerine giden kadınlarda TAI prevalansında bir artış olduğu gözlenmiştir (Pope ve ark., 2008). Dahası kadınların tiroid bezi kaynaklı sorunlarının ergenlik, hamilelik, doğum sonrası ve menopoz dönemlerinde daha belirgin olduğu görülmüştür. Çalışmalarda foliküler sıvıda tiroid antikorlarının bulunması TAI'nin folikül sıvısında oosite zarar veren sitotoksik bir reaksiyona sahip olduğunu ve dolayısıyla daha düşük oosit kalitesine yol açtığı öne sürülmüştür (Vissenberg ve ark., 2015). Literatürde hipertiroidi ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır. Fakat hipertiroidinin özellikle dişi bireylerde meydana getirdiği infertilite olgularıyla ilgili çalışmaların sayısının azlığı dikkat çekmektedir (Krassas ve ark., 2010). Çalışmaların kısıtlı olması ve çelişkili sonuçların varlığı, bu konuyla ilgili yeni çalışmaların gerekliliğini göstermektedir.

Hipertiroidizm, dişi genital organlarında (ovaryum ve uterus) fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır (Dittrich ve ark. 2011). Bu değişikliklerin tiroid

hormonlarının yumurtalıklar ve uterus üzerinde mi, yoksa hipofiz ve hipotalamus üzerindeki doğrudan etkisiyle mi gerçekleştiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Deneysel ve klinik araştırmalardan elde edilen bulgulara göre, tiroid hormonlarının gonadlar üzerindeki direkt etkileri, ön hipofizden salınan uyarıcı ve inhibe edici hormonların ortaklaşa çalışması sonucudur (Veerle ve ark 2000). Hipofiz-tiroid aksı ile hipotalamus-ovaryum aksı fizyolojik olarak ilişkili olup, bazı patolojik durumlarda tek bir sistem gibi birlikte hareket etmektedirler. Ovaryumlardaki spesifik hormon reseptörlerinin, üretkenlik fonksiyonunu düzenliyor olabileceğine ve östrojenin hipotalamik tiroid aksının daha üst düzeylerinde etkisi olduğuna dair görüşler bulunmaktadır. Bu durum iki ana endokrin aksın karşılıklı ilişkisini doğrular niteliktedir. Bu ilişkiye kadınlarda hipofizyo-tiroideal-overyel eksen adı da verilmektedir. Bu iş birliği çeşitli nedenlerle bozulduğunda, kadınlarda düzensiz âdet dönemlerine, âdet kanamalarının ve yumurtlamanın azalmasına, cinsel isteksizliğe sebep olur (Krassas, 2000; Miyauchi, 2010). Bu sebepler de dişi bireylerin gebe kalma ihtimalini zorlaştırmaktadır. Üreme hücrelerinin üretimindeki bozulma sayı ve/veya kalite açısından olabilmektedir. Skjoldebrand ve ark. çalışmalarında hipertiroidili kadınların over ultrasonografisinde polikistik, multikistik veya multifoliküler modelleri gördüklerini bildirmişlerdir (Skjoldebrand ve ark., 2002). Silva ve ark. yaptıkları çalışmalarında tiroid fonksiyon bozukluğu olan dişi sıçanların korpus luteumlarında proliferatif aktivite, anjiyogenez, apoptoz ve siklooksijenaz ekspresyonunu incelemişler, sonuç olarak hipertiroidizmin, korpus luteumdaki apoptoz seviyesini arttırdığını ve yeni korpus luteum oluşumunu baskıladığını göstermişlerdir (Silva ve ark., 2013).

İnsan ovaryum (oositler, kumulus hücreleri ve granüloza hücreleri) ve endometriyum dokularında TR ve TSH reseptörlerinin (TSHR) bulunması tiroid hormonlarının dişi üreme sistemi üzerindeki doğrudan etkilerini kanıtlar niteliktedir (Colicchia ve ark., 2014). Fedail ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise hipertiroidinin neonatal ve immatür sıçanlarda folikül gelişimine etkisi araştırılmış ve çalışma sonucunda primordiyal, primer ve sekonder foliküllerin toplam sayılarının kontrol grubuna kıyasla önemli derecede azaldığı saptanmıştır (Fedail ve ark., 2013). Ergenlik çağından önce ortaya çıkan hipertiroidinin adet döneminin başlamasını geciktirdiğine dair çalışmalar olsa da hipertiroidinin menarş yaşı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Weber ve ark. 2003).



Hipertiroidili kadınlarda kısırlığın açıklanması için farklı patofizyolojik mekanizmalar önerilmiştir. Hipertiroid durumunda, hormonal profil değişir: serumdaki seks hormonu bağlayıcı globülinler (SHBG) ve östradiol (E2) seviyelerinin artmasına neden olur. SHBG ve E2 seviyelerindeki bu artış ile östrojen metabolizması değişir ve androjenlerin östrojenlere dönüşümü artar (Krassas ve ark., 2010; Weiss ve Clapauch, 2014). Hipertiroid kadınlarda androstenedion ile birlikte testosteronun da üretim hızı normal kadınlara kıyasla anlamlı derecede artar ve bununla birlikte hipertiroidili kadınlarda androstenedionun estronun yanı sıra testosteronun estradiole dönüşüm oranı artar (Krassas 2000). Hipertiroidi, her iki cinsiyette de seks hormonları ve bu hormonları kanda taşıyan proteinlerde değişikliklere yol açarak hormon düzeylerini etkileyebilmektedir. Çalışmalar, hipertiroidili kadınlarda folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve östrojen düzeylerinde artış olduğunu göstermiştir (Mutinati et al. 2010). Liu ve ark. çalışmalarında düzensizliğinin sıçanlarda üreme hormonları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Oluşturdukları hem hipertiroid hem de hipotiroid sıçan modellerinde kontrol grubuna göre serum GnRH ve FSH serum seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı, ancak LH hormon düzeylerinde bir değişiklik olmadığını bulmuşlardır (Liu ve ark., 2018). Vargas ve ark. çalışmalarında yaptıkları hormonal değerlendirme sonucunda, postmenopozal aralıkta FSH ve LH düzeylerinde yükselme olduğunu ve anormal TSH düzeyi ile birlikte serbest hipertiroksineminin varlığını saptamışlardır (Vargas ve ark., 2017). Başka bir çalışmada infertilite kliniğine başvuran üreme çağındaki 100 kısır kadında TH'larının FSH, LH ve prolaktin hormon düzeyleri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonunda hipertiroidizm görülen kadınlarda FSH ve LH düzeylerinin ötroid kadınlardaki hormon düzeylerine göre azaldığı gözlenmiştir (Lal, 2016). Hipertiroidili kadınların da serum LH ve FSH artış mekanizması ile ilgili bilgiler kısıtlı ve çelişkilidir. Çalışmamızda kan örneklerindeki FSH ve LH düzeylerinin biyokimyasal analizleri yapılacak olup, bu bağlamda literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Radyoiodin, hipertiroidizm ve tiroid kanseri gibi tiroid hastalıklarının teşhisinde ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat bu tedavi yönteminin uygulanması kadınlara bazı sınırlamalara sahiptir (Mintziori ve ark., 2012). Radyasyonun mutajenik olduğu ve radyoaktif iyodun küçük bir miktarının meme ve yumurtalık dokularında birikmesinden dolayı gonadları etkileyebileceği düşüncesi

nedeniyle üretgenlik çağında tiroid bozukluklarının tedavisinde radyo iyot kullanımına ilişkin endişelere neden olmaktadır (Damiani ve ark., 2009). Radyoiyodin tedavisinin gebelikler ve doğurganlık üzerindeki sonuçları, bu tür hastalıklarla ilgilenen doktorlar için çok önemli bir tıbbi sorun olmakla birlikte, literatürde konuyla ilgili araştırmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle hipertiroidi kaynaklı infertilite problemleri için daha pratik yöntemlerin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Tiroid hormonu ile indüklenen hipermetabolik durumun sebep olduğu hızlanmış mitokondriyal elektron transportu, süperoksit oluşumunda artış ile sonuçlanır. Oluşan süperoksit radikalleri lipid peroksidasyonunun serbest radikal sürecini hızla başlatan hidroksil radikallerini de içeren birçok reaktif oksijen türlerin (ROS) oluşumuna öncülük eder (Burton ve Jauniaux, 2011). ROS iki ucu keskin bir kılıç gibidir, hem fizyolojik süreçlerde anahtar sinyal molekülleri olarak işlev görür, hem de antioksidanlarla arasında denge bozulduğunda patolojik süreçlerin modülatörü olarak rol oynamaktadır. ROS, oosit olgunlaşması, yumurtalık steroidogenezi, korpus luteum fonksiyonu ve luteoliz gibi fizyolojik fonksiyonların tümünün modülasyonunda görev almaktadır (Behrman ve ark., 2001). Ergenlikte hormonların etkisiyle her ay birçok primer oosit büyümeye başlar ve mayoz I tamamlanır. İlginç bir şekilde, mayoz I 'in başlatılması, ROS'taki bir artışla indüklenir (Kodaman ve Behrman, 2001). Bu durum yumurtlama öncesi folikülün ROS üretiminin önemli bir promotörü olduğunu göstermektedir (Behrman ve ark., 2001). SOD, CAT ve GPx gibi antioksidanlar, yumurtalık hücrelerinin oksidatif strese karşı korunmasında önemlidir (Matzuk ve ark., 1998). SOD ve CAT düzeyleri peroksidasyon seviyesini ve hücre hasarının derecesini yansıtmaktadır (Sharma ve ark., 2004). Deneysel çalışmalar ve epidemiyolojik veriler hipertiroidizmin serbest radikal üretimindeki artış ve lipid peroksit seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Vitale ve ark., 2000; Araujo ve ark., 2006).

Hipertiroidili hastalarda artan serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonu doku hasarı ve hastalıkların meydana gelmesine yol açmaktadır. Sağlıklı bir üretgenlik, serbest radikaller ile bunların antioksidanları arasında sağlanacak bir dengeye bağlıdır. Artmış ROS veya azaltılmış antioksidanlarla ilgili herhangi bir dengesizlik hücresel fonksiyonları ve hücre içi homeostazı bozarak hücre hasarlarına yol açmaktadır (Ruder ve ark., 2009). İn vitro, hayvan modelleri ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, oksidatif stresin hem kadınlarda hem de erkeklerde üreme sistemini

olumsuz etkilediği bilinmektedir (Vural ve ark., 2000; Walsh ve ark., 2000; Acevedo ve ark., 2001; Sikka, 2001). Oksidatif stresin kadınlarda çeşitli fizyolojik fonksiyonları, oosit olgunlaşması, yumurtalık steroidogenezi, yumurtlama, implantasyon, blastosist oluşumu, lutealiz ve luteal gebelik gibi, nasıl etkilediğine dair birçok çalışma yapılmıştır (Sugino ve ark., 2000; Ruder ve ark., 2009). Aşırı artan ROS üretimi anovulasyona, işlevsiz oositlere, döllenme ve implantasyon başarısızlığına ve/veya düşüklere neden olabilir (Wei ve ark. 2017). Ovaryum mikro-ortamının bozulmasına neden olan oksidatif stres gibi faktörler ovaryum stroma damarlarını, foliküler büyümeyi, etkili bir antioksidan enzimatik savunma sistemini ve perifoliküler vaskülarizasyonun gelişimini engellemektedir (Tatone ve ark., 2014). Birbirini takip eden zincir reaksiyonlar dişilerde meydana gelen birçok fizyolojik reaksiyonları etkileyerek endometriozis, polikistik over sendromu ve açıklanamayan kısırlık gibi birçok üreme bozukluğuna yol açmaktadırlar (Modugno, 2004; Walsh ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada ROS seviyelerinin IVF ile fertilizasyon oranını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Kültür ortamındaki yüksek ROS seviyeleri, gecikmiş embriyonik gelişim, parçalanma ve morfolojik olarak anormal blastosistlerin gelişimi gibi etkilere neden olmaktadır (Bedaiwy ve ark., 2004). Ek olarak, daha önceki çalışmalar, Oksidatif stres ile indüklenen hücre zarı hasarlarının, DNA hasarı ve apoptozis nedeniyle kusurlu ve geciktirilmiş embriyonik gelişimde rol oynadığını bildirmiştir (Bedaiwy ve ark., 2004; Agarwal ve ark., 2005). Oksidatif stres ve kadın infertilitesi arasındaki sebep-sonuç ilişkisi henüz aydınlatılmış değildir.

E vitamini, uzun yıllardır güçlü antioksidan etkisi nedeniyle üzerinde çalışılan ve terapötik gücünden faydalanılmaktadır. Vitamin E (Vit E,  $\alpha$ -tokoferol), dış kaynaklı ve lipitte çözünen bir antioksidan moleküldür (Tongtako ve ark., 2018). Vitamin E'nin, hücre içi antioksidan enzimlerini harekete geçirerek ve ovaryumun hücrel membran bileşenleri üzerinde meydana gelen lipid peroksidasyonundan hücre zarlarını koruyarak doğrudan serbest radikal süpürücü olduğu düşünülmektedir (Subudhi ve ark., 2008; Traber ve ark., 2011). Tüm antioksidanlar vücut için önemli olsa da üreme için E vitamininin ayrı bir öneminin olduğu bilinmektedir. A-tokoferol (E vitamini) in vivo ve in vitro koşullarda bir ROS tutucu olarak bilinir, aynı zamanda yumurtalık dokusu ve foliküler sıvıda bulunan en önemli antioksidandır. Oosit, döllenme ve blastosist oranlarının başarılı şekilde olgunlaşması, over foliküllerinin büyümesi ve gelişimi

arasındaki koordinasyona bağlıdır. Abedelahi ve ark. yaptıkları çalışmalarında E vitamini takviyesinin, hormonların ve büyüme faktörlerinin etkinliğini artırarak mayoz II aşamasına ulaşan oositlerin yüzdesi, blastosist oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir (Abedelahi ve ark., 2010). Çiçek ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, açıklanamayan infertil hastalarda Vit E desteğinin, kontrollü ovaryum uyarımında, folikül sayısında artışta ve endometrial kalınlığın iyileştirilmesinde yararlı etkilerinin olduğu bulunmuştur (Çiçek ve ark., 2012). Molavi ve ark. yaptıkları bir çalışmada, sipermetrin (pretiroid insektisit) uyguladıkları dişi sıçanların ovaryumlarında foliküler atrezisinde artış gözlemişlerdir. Bu maddenin toksik etkisine karşın, bir antioksidan olarak uyguladıkları Vitamin E' nin glikoz taşıyıcı-1 biyosentezini arttırmasıyla, foliküler hücrelerdeki ve oositte glikoz alımını iyileştirerek folikül atrezisini azalttıklarını göstermişlerdir (Molavi ve ark., 2016). Mevcut çalışmalar, infertilite sonuçlarının iyileştirilmesinde, antioksidanların güvenilirliği ve etkinliği hakkında alternatif çözümler sağlayacağını göstermektedir. Hipertiroidi nedeni ile ortaya çıkan infertilite ve buna karşın antioksidan takviyesiyle tedavi yöntemi üzerinde sınırlı sayıda çalışmanın bulunması, konunun kapsamlı bir şekilde araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Hipertiroidinin, hipofiz-ovaryum ekseninde meydana getirdiği değişikliklerin ovaryum rezervi, folikül gelişimi ve ovaryumun yapısal bütünlüğünü olumsuz yönde etkilediği ve sonuçta dişi bireylerde infertilite problemlerine neden olabileceği düşünülmektedir. Literatürde hipertiroidinin fertilitiyi etkilediğine dair çalışmalar olmasına karşın, sayıca yetersiz ve çelişkilidir. Çalışmamızın, hipertiroidinin hipofiz-ovaryum eksenindeki etkilerini stereolojik, elektron mikroskopik ve biyokimyasal incelemelerle değerlendirerek ve aynı zamanda güçlü bir antioksidan özelliği olan E vitamininin koruyucu etkisini ortaya koyarak hem yeni moleküler çalışmalara zemin hazırlayacağı, hem de hipertiroidi kaynaklı infertilite problemlerine karşı pratik çözümler sunacağı kanısındayız.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Tiroid Bezi**

#### **2.1.1. Tiroid Bezi Anatomisi**

Boynun ön bölgesinde yer alan tiroid bezi; strep kaslarının arkasında ve krikoid kıkırdağın hemen altında, isthmus aracılığı ile birleşmiş iki lateral lobdan oluşan endokrin bir organdır. Bu bezde loblar eşit büyüklükte olmayıp sağ lobun sol lobdan iki kat daha büyük olması nedeniyle asimetric yapı gözlenir. Çoğunlukla (populasyonun %15-40'ında) bu iki loba ek üçüncü bir lob olarak embriyonel bir kalıntı olan primodial lobdan bahsedilir. Bu üçüncü lob sol lobdan köken alır ve isthmusun sağ kenarından hafif sağa eğik uzanarak hyoid kemiğin ön yüzüne yapışık olarak bulunur. Tiroid bezi kahverengi ve sert kıvamlı olup yaklaşık 5 cm boyunda 2,5 cm genişliğindedir. Tiroid bezinin normal ağırlığı 20 gram olmakla beraber, vücut ağırlığı ve iyot alımına bağlı olarak ağırlığı değişmektedir (Skandalakis JE, 1995; Ross, 2003; Thijssen, 2005; Siti N, 2013).

Tiroid bezi, derin servikal fasyanın orta tabakasının bir bölümü olan viseral fasya tarafından sarılmıştır ve bu da onu laringoskeletoya sıkıca bağlamaktadır. Anterior suspensor ligament, her tiroit lobun üst medial yönünden krikoid ve tiroid kıkırdağına uzanır. Bezin posteromedial yönü, krikoid kıkırdağın yan tarafına, birinci ve ikinci trakeal halkanın, posterior suspensor bağ (Berry ligament) tarafından bağlanır. Bezin laringoskeletoya bu şekilde tutturulması, besinlerin yutulurken tiroid bezinin ve ilgili yapıların hareket etmesinden sorumludur. Tiroid loblarının en arka lateral uzantısı ise Zuckerkandl tüberkülleridir. Larinkse giden yolda, rekürren laringeal sinir genellikle Berry ligamentine veya ana ligament ile lateral yaprağı arasına geçer (Costanzo ve ark., 2005; Sheahan ve Murphy, 2011). Nervus larengeus inferior (N. rekürrens) ve Nervus larengeus süperior, vagus sinirlerinden gelir, sempatik lifler sempatik gövdenin üst, orta ve alt ganglionlarından dağılır. Bu sinirler solda ligamentum arteriosum altından, sağda subklavien arterin altından dönerek tiroide ulaşırlar (Miller, 2003; Costanzo ve ark., 2005; Sheahan ve Murphy, 2011).

Tiroid bezi salgıladığı hormonları doğrudan kan içine verdiği için oldukça vaskularize bir organdır. Tiroid bezi üç ana arterden beslenir.

1. Süperior tiroid arter
2. İnférieur tiroid arter

### 3. Arteria tiroidea ima

Süperior tiroid arter, eksternal karotid arterin dalıdır ve tiroid lobların apeksinde anterior ve posterior dallarına ayrılır. Inferior tiroid arter ise subklavian arterden çıkan trunkus tiroservikalisin dalıdır ve karotis kılıfının posteriorunda boyundan yukarı doğru ilerleyerek tiroid loblarının orta kesiminden beze girer. İnsanların küçük bir kısmında (yaklaşık %10) arteria tiroidea ima bulunur. Bu arter direk arkus aortadan çıkar. Aort kemerinin brakioyosefalik gövdesinden köken alır ve isthmus seviyesinden dokuya girer. Tüm arterler bezin yüzeyinde anastomaz yapar. Tiroid bezi üç vene drene olur (Larsen, 2003; Guyton, 2006).

1. Süperior tiroid ven
2. Middle tiroid ven
3. İnférieur tiroid ven

Süperior ve middle tiroid venler internal juguler vene drene olur. İnférieur tiroid venleri birbirleriyle anastomoz yapar ve toraks içindeki sol brakioyosefalik ven içine akar. Lenfatik kapiller tiroid foliküllerini bir ağ gibi sararak, subkapsüler lenf pleksusuna açılırlar. Buradan parakapsüler bölgeye, pretrakeal, jugular ven ve rekürren sinir boyunca bulunan ilk kademe lenf bezlerine drene olur (Larsen, 2003; Dillmann, 2004; Jameson, 2010).

### 2.1.2. Tiroid Bezinin Embriyonik Gelişimi

Tiroid bezi, primitif farinks tabanının endodermal kalınlaşmasından köken alan bir primordiyumdan gelişmeye başlar. Primordiyum kaudele doğru büyür ve tiroglossal kanal olarak bilinen kanal benzeri bir invajinasyon oluşturur. Tiroglossal kanal boyun dokuların içinden geçerek trekeanın önündeki son hedefine ulaşır ve burada iki loba bölünür. Bu aşağıya doğru göç sırasında tiroglossal kanal atrofiye uğrar ve geride toplumun yaklaşık %40'ında bulunan embriyonik kalıntı olan tiroidin piramidal lobunu bırakır (Ross, 2003). Gestasyonun yaklaşık dokuzuncu haftasında endodermal hücreler foliküler hücre plaklarına farklılaşırlar ve bunlar da foliküller halinde düzenlenirler. On dördüncü haftada foliküler hücreler ile dōşeli iyi gelişmiş foliküler lümenlerinde kolloid içerirler. Yedinci haftada ultimobrankial cisimcikler olarak bilinen dōrdüncü brankial cepleri dōşeyen hücreler, gelişmekte olan tiroid bezine doğru göç etmeye başlarlar ve lateral lobların yapısına katılırlar. Tiroid ile birleştikten sonra ultimobrankial cisimcik

hücreleri foliküllerin arasına dağılırlar ve foliküler epitelin yapısına katılan parafoliküler hücreleri oluştururlar (Ross, 2006).

### **2.1.3. Tiroid Bezi Histolojisi**

Tiroid bezi en dıştan sıkı bağ dokusundan yapısında bir kapsül ile sarılmıştır, bu kapsül derin servikal fasia ile devam eder. Dış kapsülün altında, daha ince olan beze yapışık içte gerçek bir kapsül bulunur. Gevşek bir bağ dokusundaki kapsül bezin içine doğru irregüler lob ve lobülleri sınırlayan trabeküller gönderir. Bu trabeküller foliküllerin arasında ince (retiküler liflerden oluşan ince, düzensiz bağ dokusu) tüm folikülleri birbirinden ayırmaktadır (Ross, 2006). Histolojik yapı itibari ile tiroid bezi 20-30 milyon kadar mikroskopik küresel yapıdaki foliküllerden oluşan tek endokrin bezdir. Foliküller, tiroid bezinin içi kolloid ile dolu fonksiyonel birimleridir. Sekresyona bağlı olarak farklı gerilme göstermeleri yönünden büyüklükleri 15-500 µm arasında değişebilmektedir. Bu foliküllerin şekilleri genelde farklı olmakla birlikte genellikle yuvarlak, ovoid ve bazen de karşılıklı basınç yüzünden polihedrik şeklidirler. Tiroid folikül duvarı bazal lamina üzerine oturan folikül epiteli adı verilen tek katlı kübik epitel ya da alçak prizmatik epitle çevrilidir. Bu hücrelerin şekli bezin fonksiyonu prizmatikten (hiperaktif durumu) yassı epitele (hipoaktif durumu) doğru bir değişim gösterir. Foliküler epitel iki tip hücre içermektedir.

1. Foliküler hücreler (esas hücreler)
2. Parafoliküler hücreler (C, berrak, açık hücreler)

Esas hücreler, morfolojik yapısı tiroid hormonları olan L-tiroksin (tetraiodotironin,  $T_4$ ) ve L-triiodotironin ( $T_3$ )'ün üretiminden, depolanmasından ve sekresyonundan sorumludurlar. Bu hücreler rutin hematoksilen-eozin preparatlarında hafif bazofilik sitoplazma içinde oval bir nukleus ve bir veya iki belirgin nukleolusa sahiptir. Elektron mikroskopide hem sekretuar hem de absorsiyon yapan hücre organelleri görülmektedir. Özel boyama yöntemleriyle PAS pozitif damlacıklar, supranükleer golgi kompleksi ve lipid damlacıkları görülmektedir. Apikal bölgede tipik bağlantı kompleksleri ve çok fazla kolloide uzanan mikrovillus vardır. Ayrıca bu bölgede kolloid rezorbsiyon damlacıkları olarak adlandırılan endositotik veziküller, bol miktarda mitokondri ve lizozomlar bulunmaktadır. Foliküler hücre zarının taban kısmında tirotropin reseptörleri oldukça fazladır. Tirotropin tiroid hormon sentezini

artırarak hücre yüksekliğinin artmasına kolloidin ve folikül büyüklüğünün azalmasına neden olur(Larsen, 2003; Dillmann, 2004; Jameson, 2010).

Parafoliküler hücreler (C hücreleri), tiroid folikül epiteli ile folikül bazal laminası arasında ayrı küçük hücre kümeleri ya da tek tek olarak bulunurlar. Bu hücrelerler folikül hücrelerden daha büyüktürler ve soluk boyanırlar. Işık mikroskopide ayırt edilmeleri zor olup elektron mikroskopide sitoplazmalarında bulundukları hormon içeren küçük granülleri ve belirgin golgi kompleksidir. Bu hücrelerin görevi kalsiyum metabolizmasını düzenleyen kalsitonin hormonunu salgılamasıdır. Kalsitonin hormonu kan kalsiyum hormon düzeyini düşürür ve osteiod kalsifikasyonunu arttırarak kemiklerde kalsiyum birikmesine yardımcı olur (Ross 2006).

#### **2.1.4. Tiroid Hormonlarının Sentezi**

Kolloidin ana bileşeni tiroid hormonlarının inaktif formu olan tiroglobulindir. Bununla birlikte kolloid içinde çeşitli enzimler ve glikoproteinler bulunmaktadır. Tiroid bezi, salgı ürününü büyük miktarda ekstrasellüler ortamda depolayan tek endokrin bezdir (Ross, 2003; Guyton, 2006). Tiroid bezinin iki ana hormonu olan T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> folikül hücrelerinden salgılanmaktadır. İyot, T<sub>4</sub>'lerin ağırlığının %65'ini ve T<sub>3</sub>'lerin %58'ini içeren tiroid hormonlarının vazgeçilmez bir bileşenidir. T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub>, insanlarda fizyolojik önemi olan tek iyot içeren bileşiklerdir. Tiroid hormonlarının sentezi birkaç basamakta gerçekleşir (Guyton, 2006; Stondring S, 2008).

1. Tiroglobulin sentezi: Tiroglobulin, bireysel tiroid hormon molekülleri haline gelen çok sayıda tirozin amino asidi içeren bir proteindir. Tiroglobulin prekürsörü, foliküler epitel hücresi içinde granüler endoplazmik retikulum (gER)'da sentezlenir ve golgi kompleksinde karbonhidrat eklenmesi ile birlikte hücrenin apikal kısmında oluşan veziküllerden folikül lümenine salınır.

2. İyodürün rezopsiyonu: Dışarıdan alınan iyot ince bağırsaktan emilir ve plazma içinde tiroide nakledilir, burada yoğunlaştırılır. Folikül hücreleri, iyodürü yan ve taban taraflarında bulunan sodyum/iyodür simportörlerini kullanarak aktif bir şekilde kandan sitoplazmalarına alırlar. İyodür difüzyonla hücre apikaline doğru ilerler ve pendrin ile lümeneye aktarılır. Lümen içindeki iyodür tiroid peroksidaz (TPO) enzimi ile iyota okside edilir.



3. Tiroglobulinlerin iyotlanması: TPO enzim aktivitesiyle folikül hücrelerin mikrovilluslarına yakın bölgede tiroglobulin molekülüne bir ya da iki iyodin atomu monoiyodotirozin (MIT), iki iyodin atomunun eklenmesiyle de diiyodotirozin (DIT) oluşur.

4. T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub> oluşumu: TPO daha sonra MIT ve DIT kalıntılarını birleştirerek T<sub>4</sub> veya T<sub>3</sub> oluşumunu katalizlemektedir. T<sub>4</sub>, iki DIT kalıntısının birleştirilmesiyle üretilirken T<sub>3</sub>, bir DIT kalıntısının bir MIT kalıntısı ile birleştirilmesiyle üretilir. Önemli olarak, TPO iki DIT kalıntısının birleştirilmesinde çok daha etkilidir ve bu nedenle T<sub>4</sub>'ün oluşumu çok daha kolay gerçekleşir ve bu nedenle tiroid bezinden T<sub>4</sub> hormonu, T<sub>3</sub> hormonuna göre daha fazla sentezlenir. İyotlanmadan sonra tiroglobuline bağlı olan T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>, DIT ve MIT kalıntıları folikül içinde kolloid olarak depolanır.

T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>'ün dolaşıma salınması: Hipofizden salınan TSH'a yanıt olarak folikül hücrelerinden endositoz ile tiroglobulin içeri alınır. Tiroglobulinlerin hidrolizi için iki farklı yolak vardır. Lizozomal yolak; endositozla hücre içine alınan veziküller ile lizozomlar birleşir. Tiroglobulinler lizozomların içindeki enzimler tarafından yapı taşlarına parçalanır. Geride T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>, DIT ve MIT molekülleri serbest kalır. Transepitelyal yolda ise, tiroglobulin bozulmadan foliküler hücrelerin apikal yüzünden bazolateral yüzeyine alınır (Ross, 2006). Tiroglobulin, kolloidal yüzeyde yerleşim gösteren bir transmembran proteini olan megaline bağlanır. Megaline bağlanan tiroglobulin lizozomal yoldan korunarak foliküler hücrelerin bazolateral membranlarına iletilir. TSH düzeyleri yüksek kalırsa kolloid miktarı azalır. Bazolateral yüzeyden salınan T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub> hormonları çevredeki bağ dokusunda bulunan kan ve lenfatik kapillerlere kolaylaştırılmış difüzyonla geçerler. Tiroid hormonları dolaşıma geçerken MIT ve DIT yapısında bulunan iyotlar deiyodinaz enzimi ile tekrar kullanmak için ayrılır. İyodür ya dolaşıma geçerek kana verilir ya da tekrar kullanılır, kalan kısım ise aminoasitlere parçalanarak tekrar kullanılır (Larsen, 2003; Dillmann, 2004; Jameson, 2010).

Hormonlar kana geçtiğinde moleküllerin çoğu tiroksin bağlayıcı proteine bağlanırlar. Kanda T<sub>4</sub>'ün %99,98'i, T<sub>3</sub>'ün %99,7si karaciğerde üretilen tiroksin bağlayıcı globülin (T<sub>4</sub> için yüksek T<sub>3</sub> için orta derecede ilgiye), tiroksin bağlayıcı preglobülin (T<sub>4</sub> taşır (%15-20), T<sub>3</sub> bağlamaz), albümin (T<sub>4</sub> %10, T<sub>3</sub> %20) proteinlerine bağlanarak taşınır. Tiroid hormonlarının plazmada bağlayıcı proteinlere affinitesi fazla

olduğundan doku hücrelerine T<sub>4</sub> hormonu (6 günde) ve T<sub>3</sub> hormonu (1 günde) daha yavaş serbestleşir. Bağlı olmayan veya serbest T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> (sırasıyla ST<sub>3</sub> ve ST<sub>4</sub>), dolaşımdaki tiroid hormon seviyelerini korumak için TSH ve TRH'nın sentezi ve salınımı üzerinde negatif bir geri besleme yapar. T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>'e göre daha bol miktarda bulunan bir hormon olup dolaşımdaki tiroid hormonunun %93'unu oluştururken, T<sub>3</sub> (%7) de daha etkili olup daha hızlı işlev gösterir (Gartner LP, 2001; Guyton, 2006; Ross, 2006).

### 2.1.5. Tiroid Hormonlarının Etki Mekanizması

Tiroid hormonları normal büyüme ve gelişme için gerekli olan metabolik süreçleri enerji metabolizmasını kontrol ederek düzenlemektedir. Karbonhidratların, lipidlerin ve proteinlerin metabolizmasına aracılık eden süreçler hemen hemen tüm dokularda (beyin, beyaz ve kahverengi yağ, iskelet kası, karaciğer ve pankreas) tiroid hormonları tarafından düzenlenir (Potenza ve ark., 2009; Sinha ve ark., 2014). Doku ve organların büyüme ve olgunlaşmaları, bazal metabolizma, hücre çoğalması, hücrelerin oksijen yakabilme ve enerji kullanabilme yetenekleri, büyüme hormonu gibi spesifik hormonların serum düzeylerinin artması, vücudun hormonlara olan yanıtı, çeşitli membran reseptörlerinde olan değişiklikler tiroid hormonlarının insan vücudundaki önemli etkilerindedir. Tiroid hormonlarının karaciğer, beyaz yağ doku, iskelet kası ve pankreastaki fonksiyonları plazma glikoz seviyelerinde, insülin duyarlılığında ve karbonhidrat metabolizmasında önemli etkilere sahiptir (Sinha ve ark., 2014). Özellikle tiroid hormon hastalığının glikoz homeostazı üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Brent, 2012; Mullur ve ark., 2014).

Tüm hormonlar gibi tiroid hormonları da doku ve hücrelerdeki etkisini reseptörlere bağlanarak gösterir. Diğer hormon reseptörlerinin aksine THR, hücrenin zarında ve sitoplazmasında değil, çekirdek ve mitokondrilerinde lokalize olmuşlardır. Bu hormonlar hedef hücre çekirdeğindeki özgül reseptörlere yüksek ilgi ile bağlanır (Cheng ve ark., 2010). Her ne kadar T<sub>4</sub> hormonu çekirdeğe ulaşıp bu reseptörlere tutunabilirse de etkisi T<sub>3</sub>'den 4 kere daha azdır. Bu nedenle, T<sub>4</sub>'ün, T<sub>3</sub>'e dönüşmesi gerekir. Genellikle, hidrofobikliğinden dolayı tiroid hormonunun, pasif difüzyon yoluyla hücrelere girdiği varsayılmıştır. *In vitro* çalışmalar, monokarboksilat ve organik iyon taşıyıcı aileler dâhil olmak üzere tiroid hormonunu taşıma kabiliyetine sahip çoklu taşıyıcılar (OATP1C1 (organik anyon transporter), MCT8 (monokarboksilat transporter)

8), MCT10 (monokarboksilaz transporter 10)) tanımlamıştır. OATP1C1 beyinde; MCT8 beyin, hipofiz, hipotalamus, karaciğer ve plasentada; MCT10 karaciğer, böbrek, bağırsak ve plasentada da bulunur (Janssen ve ark., 2004). Hücre içine giren  $T_4$ 'ün %90'nı deiyonidaz enzimi ile  $T_3$  hormonuna dönüştürülür. Hücre içinde ve hücre dışındaki bu dönüşüm "tiroksin 5' deiyodinaz" enzimi tarafından gerçekleştirilir. Deiyodinaz enzimleri selenyum içeren selenoenzimlerdir. Bu nedenle selenyum tiroid metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (Schneider ve ark., 2006; Gereben ve ark., 2008). Bu enzimlerin vücuttaki miktarları doku ve organlara göre değişir. Üç çeşit tiroksin 5' deiyodinaz enzimi vardır. Birinci tiroksin 5' deiyodinaz enzim türü (D1) daha çok karaciğer, böbrek, tiroid ve dalakta bulunur ve vücut  $T_3$  miktarının üçte ikisinin oluşumundan sorumludur. İkinci enzim türü (D2) özellikle beyinde, hipofizde ve kahverengi yağ dokusunda yer almıştır (Schneider ve ark., 2006). Üçüncü enzim türü (D3) ise beyin, plasenta ve ciltte bulunmaktadır.  $T_4$ 'den  $T_3$ 'e dönüşüm en çok D1 ve D2 enzimleri ile gerçekleşir ve kandaki  $T_3$  ve  $T_4$  dengesi en çok D1 enzimi ile sağlanır.  $T_4$  hormonu tiroksin 5' deiyodinaz enzimi tarafından dönüştürüldükten sonra aynı şekilde hücre içine giren  $T_3$  hormonuna eşlik ederek çekirdek zarına doğru ilerler. Çekirdek zarından, nükleoplazmaya ulaşan  $T_3$  hormonu özgül reseptörlere yüksek affinite ile bağlanarak " $T_3$ -Reseptör kompleksi"ni oluşturur (Silva ve Bianco, 2008). Böylece reseptöre bağlanan  $T_3$  hormonu DNA'nın belli yörelerine bağlanma ve o segmentlerdeki genlerin etkinliklerini değiştirme yeteneği kazanır.  $T_3$ -Reseptör kompleksi hücrelerin farklılaşma niteliklerine göre, her hücrede farklı DNA yörelerine bağlanarak farklı genlerin etkinliklerini modifiye eder ve dolayısıyla her hücre grubunda değişik etkilere yol açar. Hedef hücrelerde depolanan tiroid hormonları haftalar içinde hücrelerden yavaş yavaş salınır (Silva ve Bianco, 2008; Heuer ve Visser, 2009)

THR, hormonla aktive edilmiş transkripsiyon faktörleri olarak işlev gören ve genlerin ekspresyonunu modüle ederek hareket eden bir nükleer reseptör ailesine aittir. Bu reseptörler, birbirleri ile ilişkili bir grup gen tarafından kodlanır. İki THR geni vardır: alfa ve beta genleri, sırasıyla, üçüncü ve on yedinci kromozomlarda lokalize olmuşlardır. Her bir gen için birincil transkript alternatif olarak eklenebilir ve farklı alfa ve beta reseptör izoformları üretilebilir. " $THR\alpha_1$ ,  $THR\alpha_2$ ,  $THR\beta_1$ ,  $THR\beta_2$ " olmak üzere dört farklı THR olarak tanımlanır. Farklı THR formları, doku ve gelişimsel aşama ile farklı şekilde ifade edilir (Refetoff, 2008).  $THR\alpha_1$ ,  $THR\alpha_2$  ve  $THR\beta_1$  genleri

tarafından şifrelenen THR'leri hemen hemen her dokuda bulunurken "THR $\beta$ 2" geni tarafından kodlanan THR'leri yalnız beyinde bulunur. THR $\alpha$ 1, ağırlıklı olarak beyin, kalp ve iskelet kasında, karaciğerde ise daha çok THR $\beta$ 1 reseptörlerini içerir. Yapılan çalışmalarda insan ve sıçan ovaryum yüzey epitel hücreleri çekirdeğinde THR $\alpha$ 1, THR $\alpha$ 2 ve THR $\beta$ 1 güçlü bir şekilde eksprese edildiği gösterilmiştir (Vattai ve ark., 2015; Ziegelmuller ve ark., 2015).

## 2.2. Hipotalamus – Hipofiz – Tiroid Ekseni

Hipotalamik-hipofiz-tiroid ekseni (tiroid homeostazisi veya tirotropik geri besleme kontrolü için) metabolizmanın düzenlenmesinden sorumlu olan nöroendokrin sistemin bir parçasıdır. Hipotalamus tiroit hormonlarının (T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>) düşük dolaşım düzeylerini algılar ve tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) salgılayarak yanıt verir (Ortiga-Carvalho ve ark., 2016). TRH hipotalamusun paraventricüler çekirdeğinde sentezlenen bir tripeptiddir (Pyro-Glu-His-Pro). Aksonal taşınım yoluyla ile medyan eminens ve daha sonra portal kapiler plexus ile anterior hipofiz bezine nakledilir (Dietrich ve ark., 2012). TRH, daha sonra, TSH üreten tirotroflara (TRH reseptörlerine bağlandığı ve TSH  $\beta$  alt birimlerini eksprese eden genleri uyardığı) hipotalamik portal ven yoluyla taşınır. Bu tirotropik etkilerin yanı sıra, TRH ayrıca TSH (tiroid stimüle edici hormon)  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerinin konjugasyonunu ve biyolojik aktivitesini kontrol etmek için TSH molekülünün glikosilasyonunu düzenlemektedir. TRH'ın etkisiyle TSH hipofiz bezinden salgılanır ve tiroid hormon üretimini ve salınımını uyardığı tiroid bezine ulaşır. TSH, tiroid hormonunu, kandaki normal değerine dönene kadar üretmesi için uyarır. Tiroid bezinden salgılanan ana hormon, periferik organlara ulaşan ve deiodinaz enzimi ile T<sub>3</sub>'e dönüşen T<sub>4</sub> hormonudur. T<sub>3</sub>, hücre çekirdeklerine girerek hedeflenen genler üzerinde tiroid hormonu reseptörü  $\alpha$  ve  $\beta$  izoformlarına bağlanır, böylece gen transkripsiyonunu düzenler. THR, hedeflenen genler üzerinde ya retinoid X reseptörü ile heterodimerler ya da homodimerler olarak etki ederler. TSH, tiroid hücresi üzerindeki reseptörüne bağlandığında reseptörün hücre içi kısmı birçok proteini (çekirdek baskılayıcılar (nükleer reseptör koruyucular, retinoid ve tiroid hormon reseptörlerinin susturucu aracı, vb.) ve koaktivatörler (steroid reseptör koaktivatörü-1 ve siklik AMP yanıt elementi bağlayıcı-bağlayıcı protein, vs.) ve birçok kofaktör) aktive eder. Bu etkinleşen proteinler sayesinde işleyen yollar hücre içine iyot alımını

hızlandırır (Yamada ve Mori, 2008). Tiroid hormonlarının yapı taşı olan iyot, hormonların metabolizmasında ana rolü oynamaktadır. Salgılanan tiroid hormonları hipofiz-tiroid aksını oluşturarak, TRH ve TSH'nin üretimini inhibe ettiği hipotalamusa ve hipofize ulaşır. Bu ekseninde herhangi bir faktör veya denge bozulursa, tiroid hormon bozuklukları ortaya çıkar önemli hastalıkları da beraberinde getirir (Segerson ve ark., 1987; Lechan ve Fekete, 2004; Hoermann ve ark., 2015).

### **2.3. Hipertiroidizm**

Hipertiroidi, aşırı miktarda tiroid hormonunun tiroid bezi tarafından sentezlendiği ve salgılandığı bir endokrin hastalıktır. Tiroid bezinin aşırı çalışmasıyla ortaya çıkan hipertiroidi; inflamasyon, dışarıdan fazla miktarda hormon alınmasına veya önceden oluşturulmuş ya da depolanmış hormon salınımına bağlı olarak da oluşabilen patolojik bir durumdur.

Hipertiroidizm, dünyadaki tüm popülasyonları etkileyen potansiyel yıkıcı sağlık sonuçları olan ve diyabetten sonra en yaygın olarak görülen endokrin hastalıktır. Hipertiroidizmin genel popülasyondaki prevalansı %0,5 kadardır. Bu prevalans beslenmeyle ilişkili olarak bölgelere göre değişim göstermektedir. Tiroid hormonları büyüme, nöron gelişimi, üreme ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi için gereklidir. Beslenmedeki iyot tüketimi, hipertiroidinin önemli bir belirleyicisidir; bununla birlikte, yaşlanma, sigara içme durumu, genetik duyarlılık, etnik köken, endokrin bozucu maddeler ve immün kontrol noktası inhibitörleri de dahil olmak üzere yeni terapötik maddelerin ortaya çıkması gibi diğer faktörler de tiroid hastalığı epidemiyolojisini etkilemektedir (De Leo ve ark., 2016). Hipertiroidizmin en yaygın görülen çeşitleri graves hastalığı (%85), toksik multinodüler guatr (%10) ve toksik adenom (%5)'dir (Tablo 1) (Guyton AC, 2011; Kravets, 2016).

**Tablo 1.** Hipertiroidizm etiyolojisi ve patogenezi

<b>Etiyoloji</b>	<b>Mekanizma</b>
<b><i>En yaygın nedenleri</i></b>	
Graves (Basedow) hastalığı	Antikorların TSH reseptörünü stimüle ettiği otoimmün süreç, tiroid hormonlarının aşırı üretilmesine neden olur
Toksik multinoduler guatr (Plummer hastalığı)	Tiroid nodülünde TSH reseptörü veya Gs alfa geninde somatik mutasyon
Toksik adenom (Toksik soliter nodül)	Aktive edici bir TSH reseptörü mutasyonu ile klonojenik hücrelerin genişlemesi
Tiroidite bağlı hipertiroidizm (subakut tiroidit, ağrısız tiroidit, radyasyon tiroiditi, Hashitoksikoz)	Önceden oluşturulmuş tiroid hormonlarının salınımına yol açan tiroid dokusunun otoimmün yıkımı
<b><i>Diğer yaygın olmayan nedenler</i></b>	
İyot kaynaklı tiroidit (Jod basedow)	Aşırı iyot alımına bağlı düzensiz tiroid hormonu üretimi
İlaç kaynaklı tiroidit (amiodaron)	Tiroid hormonlarının (amiodaronun neden olduğu tirotoksikoz tip 1) aşırı üretimi veya önceden oluşturulmuş tiroid hormonlarının (amiodaronun neden olduğu tirotoksikoz tip 2, interferon alfa, interlökin-2 veya lityum salınımı)
Subakut granüloamatöz (de Quervain) tiroidit	Over dermoid tümöründe ektopik tiroid dokusu tiroid hormonu üretiyor
Struma ovarii	Önceden oluşturulmuş tiroid hormonlarının salınımını tetikleyen, genellikle ateşle birlikte viral enfeksiyonun neden olduğu tiroid bezinin ağırlı enflamasyonu
TSH salgılayan hipofiz adenomu	Tümör büyük miktarlarda TSH salgılayan ve T3 ve T4 geri bildirimine yanıt vermeyen tümör
Metastatik fonksiyonel tiroid kanseri	Fonksiyonel foliküler tiroid kanserinin metastazı

### 2.3.1. Hipertiroidizmin İnsan Sağlığı Üzerine Metabolik Etkileri

Hipertiroidizm, dünyadaki tüm popülasyonları etkileyen potansiyel yıkıcı sağlık sonuçları olan önemli bir endokrin hastalıktır. Bu nedenle, aşırı tiroid hormonu üretimi, kalp, gastrointestinal sistem, beyin, kas, göz ve cilt gibi hemen hemen her organ sistemini etkileyen hipermetabolik bir duruma neden olur ve tanımlanması zor olabilecek şikayetlerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Başlıca komplikasyonları arasında sinirlilik, uykusuzluk, halsizlik, aşırı terleme, saç dökülmesi, ishal, kilo verme, nadiren alma, depresyon, ekzoftalmi (gözlerin çıkıklaşması) ve infertilite yer almaktadır. Bununla birlikte, teşhis edilmediğinde, deliryum, osteoporoz, kas zayıflığı, atriyal fibrilasyon, konjestif kalp yetmezliği, tromboembolizm, değişen ruhsal durum, kardiyovasküler çöküş ve ölüm gibi ciddi komplikasyonlar da ortaya çıkabilir. Multiorgan fonksiyon bozukluğu ve ölümü önlemek için hipertiroid durumunun hızlı bir şekilde tanımlanması ve tedavi edilmesi gerekir.

**Bazal metabolizma hızı:** Bazal metabolizma, insanlarda birincil enerji harcama kaynağıdır ve tiroid hormonlarının plazma konsantrasyonlarının, memelilerin (insanlar dahil) bazal metabolik hızını (BMR) etkilediği uzun zamandır bilinmektedir (Hulbert ve Else, 2004). Bu nedenle, birçok laboratuvar çalışmasında tiroid hormon konsantrasyonları ile bazal metabolizma hızı arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Tiroid hormon, bazal metabolizma hızının kilit bir düzenleyicisi olarak nitelendirilir. Bu hormonların memelilerde *in vitro* oksijen tüketimini uyardığı ve metabolik süreçler için ATP üretimini artırarak, iyon gradyanlarını oluşturarak veya koruyarak bazal metabolizma hızını artırdığı bilinmektedir. Bazal metabolizma hızında meydana gelen artış olumsuz metabolik sonuçlar doğurabilir (Hulbert ve Else, 2004; Silvestri ve ark., 2005; Kim, 2008).

Yüksek miktarda bulunan tiroid hormonları dokuların metabolizma ve oksijen kullanma hızının artmasına sebep olurlar. Bu durum birçok dokuda oksidan ve antioksidan dengesini bozarak oksidatif strese neden olabilir. Tiroid hormonlarını aşırı salınımı (hipertiroidizm) bazal metabolizma hızını %60 ile %100 kadar arttırdığı ve bununla birlikte toplam enerji tüketiminin %38 oranında arttığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Klieverik ve ark., 2008; Bianco ve ark., 2014). Hipermetabolizma hipertiroidinin en önemli belirtisidir. Hipertiroid hastalarında iştah giderek artarken, artan metabolik ihtiyacı karşılayabilecek günlük enerjiyi alamadığı için giderek hızla

kilo vermeye başlar. Hızla verilen kiloda çoğu yağ dokusundan olsa da özellikle erkeklerde kas kaybı da oldukça fazladır. Hastalığın ilerleyen safhalarında ise hasta normal ağırlığının ortalama yüzde 20'sini kaybetmektedir (Ransay, 1974; Klieverik ve ark., 2008).

Tiroid hormonları metabolik etkilerini genomik ve genomik olmayan yollar aracılığı ile göstermektedir. Tiroid hormonlarının etkilerine büyük ölçüde genomik mekanizmaların aracılık ettiği görülmüştür. Bu etkiler, primer tiroid hormonunun ( $T_3$ ) nükleer alımı ve nükleer THR proteinleri arasında kompleks oluşumu ve daha sonra düzenleyici komplekslerin aracılığıyla oluşan spesifik genlerin transkripsiyonel modülasyonuna bağlıdır. Tiroid hormonlarının genomik olmayan etkilerinin birçok farklı hücre tipinde çoklu fizyolojik süreçleri içerdiği ve  $[Ca^{+2}]$ , siklik-AMP veya protein kinaz sinyalleme basamaklarının indüklenmesiyle aracılık ettiği düşünülmektedir. Genomik olmayan etki bölgeleri, plazma zarı, sitoplazma, hücre iskeleti ve hücre organellerinde lokalizedir (Williams ve Bassett, 2011).  $T_4$  hormonu karşıt fizyolojik etkinlikler göstermektedir (glukoz absorpsiyonunu ve sentezini çabuklaştırırken, yakımını kolaylaştırır; kolesterol ve trigliseridlerin sentezini uyarırken, yine kolesterol ve trigliseridlerin klerensini artırması gibi).  $T_4$ 'ün aşırı artması durumlarında genel olarak katabolik, etkiler, anabolik, etkilerden daha üstün hale gelir ve bunun sonucunda hipertiroidli hastalarda negatif nitrojen dengesi gelişerek (normal trigliserid ve kolesterol düzeylerinde düşmeler görülür) hastaların üçte birinde, serum glukoz düzeyinin normal olmasına rağmen, glukoz tolerans testlerinde, absorpsiyonda olan artmadan dolayı, bozukluklar gelişir (Klieverik ve ark., 2008).

**Sinir sistemi üzerine etkileri:** Tiroid hormonları beyin ve korteksinin büyümesi, aksonların proliferasyonunda, dentritlerin dallanmasında, sinaps oluşumunda, miyelinizasyon ve merkezi sinir sistemi gelişim hızında kritik öneme sahiptir. Hipertiroidi durumunda merkezi sinir sistemi ile ilgili çeşitli nöropsikiyatrik (sinirlilik, iritasyon depresyon, anksiyete, hipomanya, manya ve hatta şizofrenik belirtiler) ve nörolojik bozukluklar (dikkati toplamada çekilen güçlük, çeşitli bellek bozuklukları ve kompleks problemleri çözememe gibi mental problemler) gelişir. Psikiyatrik bozuklukların genel olarak hipertiroid tedavisiyle paralel olarak düzeldiği yapılan çalışmalarla görülmüştür (Bernal ve ark., 2003; Cuevas ve ark., 2005).



**Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri:** Tiroid hormonları kardiyovasküler sistem dengesinde önemli bir yere sahip olmakta ve sistemin olağan fonksiyonu sürdürmek için erişkin yaşamda normal tiroid hormon düzeyine sahip olmak gerekmektedir (Klein ve Ojamaa, 2001). Tiroid hormonlarının kalpte hedef genlerin düzenlenmesi ve kalpte önemli olan proteinlerin sentezini artırması bu hormonların kardiyovasküler sistem üzerinde önemli etkilere sahip olduğunun göstermektedir (Davis ve Davis, 2002). Bazal metabolizma hızının hipertiroidi durumu ile artmasıyla birlikte oksijen kullanımı artar ve buna bağlı olarak vücut dokularında vazodilatasyona neden olarak kan akımını artır. Kan akımının artması kalp debisini %50 veya daha fazla artmasına ve sistemik damar direnci azalmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte hipertiroidli hastalarda taşikardi, çarpıntı, atriyal fibrilasyon ve bazılarında periferik embolizasyon geliştiği görülmüştür (Fazio ve ark., 2004).

**Solunum sistemi üzerine etkileri:** Tiroid bezinin soluk borusunun başlangıç kısmında yer alması ve akciğerlerin gelişiminde tiroid hormonlarının önemli rol oynaması tiroid bezinin solunum sistemiyle birkaç açıdan birbiriyle ilişkili olduğunu kanıtlar niteliktedir (Ingbar, 2012). Akciğer ve tiroid bezi arasındaki ilişkiyi aydınlatılmasına yönelik yapılan çalışmalarda tiroid transkripsiyon faktör varlığı tespit edilmiş bu faktörün tiroglobulinin ve preoksidazın ekspresyonunda rol alırken, yeni gelişen akciğer tomurcuğunun ve hava yolları epitellerinin düzenlenmesinde rol aldığı gözlenmiştir (Minoo ve ark., 1995; Kimura ve ark., 1996). Ayrıca akciğer hücrelerinin T<sub>3</sub> hormonlarını T<sub>4</sub> hormonuna göre daha fazla ihtiva edildiği bilinmektedir. Akciğerlerde 5 iodinaz aktivitesinin yüksek olması ve pnömositlerin T<sub>3</sub> için yüksek affiniteli reseptörler içermesinden ötürü akciğer hücrelerinde T<sub>3</sub> hormonunun T<sub>4</sub> hormonuna göre daha fazla miktarda olmasına neden olmaktadır (Mccann ve ark., 1984). Metabolizma hızının artmasıyla O<sub>2</sub> ihtiyacı ve CO<sub>2</sub> tüketimini karşılamak için daha hızlı gaz değişimi gerekmektedir. Hipertiroidli hastalar bu ihtiyacı karşılayamadığı akciğerlerde önemli bir stres ortaya çıkar. Hipertiroid vakalarının %82'inde iskelet kaslarında güçsüzlüğe proksimal miyopatiye ve bu durumda solunum kaslarında zayıflama hava yolu direncinin artmasına neden olur. Ciddi hipertiroid vakalarında ise dispne (vital kapasitenin azalması) ciddi sorunlardandır (Ingbar, 2012).

**Boşaltım sistemi üzerine etkileri:** Tiroid bezinin böbrek dokusu üstünde etkisini açıklayan çalışmalar daha çok fizyolojik düzeydedir (Basu ve Mohapatra, 2012; Mohamedali ve ark., 2014). Hipertiroid ile bazal metabolizma hızının artmasına paralel olarak böbrek kan akımı artar bu durum da hiperfiltrasyona neden olmaktadır. Böbrek kan dolaşımı artmasıyla orantılı olarak glomerüler filtrasyon, tübüler reabsorbsiyon ve sekresyon da artar. Hipertiroidizmde artan susama refleksinin bu değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mitokondriyal enerji metabolizmasının artması dokularda oksidatif strese neden olan serbest radikal oluşumunun artmasını hızlandırır. Hipertiroidi ile ortaya çıkan oksidatif stres böbrek hasarına neden olur ayrıca, nadiren renal tübüler asidoz gelişebilir. Bu renal tübüler asidozun, tübüler zedelenmeye neden olduğu bilinmektedir (Basu ve Mohapatra, 2012).

**Endokrin sistem üzerine etkileri:** Tiroid hormonların artması diğer endokrin bezlerin çoğunun sekresyonunu artırır, fakat aynı zamanda dokuların bu hormonlara gereksinimlerini de beraberinde getirir. Tiroid hormon sekresyonunun artması, vücutta glikoz metabolizmasını da artırır bu duruma paralel olarak pankreastan buna uyan bir insülin sekresyonu olur. Tiroid hormonu kemik yapımı ile ilgili birçok metabolik etkiyi artırır ve sonuç olarak vücudun paratiroid hormon gereksinimi de artar. Hipertiroidi hipofiz ön bezinden ACTH salgılanmasını artırarak böbreküstü bezinden glikokortikoid sekresyonunu uyarır (Sanchezfranco ve ark., 1989).

**Sindirim sistemi üzerine etkileri:** Hipertiroidinin sindirim sistemi ile ilgili en yaygın komplikasyonu hipermotilitedir. Hipermotilite ile birlikte defekasyon artar ve ilerleyen dönemlerde bu durum diyare ile sonuçlanır. Metabolizma hızının artmasıyla artan kan akımı splanknik dolaşıma etki etmez. Karaciğer dokusunda, artan enerji ihtiyacı ile birlikte splanknik dolaşımda kan akım hızının artmaması dokuda nekroza neden olur.

Tiroid hormonları karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması üzerinde önemli role sahiptir. Tiroid hormonları, enerji depolaması ve harcamasını düzenleyerek enerji dengesini kontrol eden metabolik yolları etkilemektedir (Sinha ve ark., 2014). Hipertiroidizm kilo kaybı, düşük kolesterol düzeyleri, artan lipoliz ve glukoneogenesis ile karakterize olan hipermetabolik bir duruma neden olmaktadır (Mullur ve ark., 2014). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, tiroid hormonlarında meydana gelen değişikliklerin karaciğer metabolizmasında düzensizliklere yol açtığı ve bu durum da tip-2 diyabet ve

obezite gibi hastalıkları tetiklediği göstermektedir (Bellentani ve ark., 2010; Sinha ve ark., 2014).

### **2.3.2. Hipertiroidizmin İnfertilite Üzerine Etkileri**

Genel olarak infertilite bir yıllık düzenli cinsel ilişkiden sonra doğum kontrolü olmadan gebe kalamama olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda infertilite prevalansının %12 ile 14 arasında olduğu tahmin edilmektedir (Mosher ve Pratt, 1991; Hoxsey ve Rinehart, 1997). Yapılan araştırmalar infertilite problemlerini birincil infertilite (gebe kalmama) ve sekonder infertilite (istenen sayıda gebe kalamama) olmak üzere iki alt başlıkta incelemiştir. İnfertilite üzerine yapılan değerlendirmelerde genellikle erkek kaynaklı problemlerin %30, kadın kaynaklı problemlerin ise yaklaşık %35'ini (yumurtlama bozuklukları bunların yarısından fazlasını oluşturur) olduğu gözlemlenmiştir (Evers, 2002).

Tiroid bozuklukları otoimmün hastalıklardır ve yapılan çalışmalarda tiroid hormon bozukluğunun üreme dönemindeki kadınlarda en yaygın görülen endokrin hastalık olduğu saptanmıştır. Kadınların menstrual dönemlerinde ve gebelikte tiroid hastalıklarının çok erken bulgu vermesi erkeklerde ise bu bulguların çok daha geç fark edilmesi kadınlarda otoimmün hastalıkların daha çok görülmesine neden olur (Poppe ve Velkeniers, 2004). TAI, üreme çağındaki kadınların %5-20'sini etkileyen en yaygın endokrin bozukluktur. TAI, endometriozis, over yetmezliği ve polikistik over sendromu gibi diğer kısırlık nedenleriyle doğrudan bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Janssen ve ark., 2004; Carp ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda foliküler sıvıda tiroid antikörlerinin bulunması TAI'nin folikül sıvısında oosite zarar veren sitotoksik bir reaksiyona sahip olduğunu ve dolayısıyla daha oosit kalitesini düşürdüğü öne sürülmüştür (Vissenberg ve ark., 2015). Son yıllarda kısırlık merkezlerine gelen tiroid hastası kadınların prevalansında artış olduğu bildirilmiştir.

Ovaryum diğer endokrin organlarla sürekli etkileşim halindedir. Etkileşim, farklı seviyelerde meydana gelen kısırlığı açıklayabilir ve kısırlık tanısının konulmasında önemli belirteçler olabilir. Tiroid hormon bozuklukları, ovaryum dokusuyla çeşitli metabolik yollardan doğrudan etkileşime girerek fonksiyon bozukluklarına neden olmakla birlikte döllenme, implantasyon ve embriyoya da etki ettiğine dair birçok çalışma mevcuttur (Colicchia ve ark., 2014). Hipertiroidizimli

bireyler genel olarak siklik düzensizlikler, düşük üreme performansı, kısırlık, hamilelik sırasında artmış morbidite, kürtaj ve ölü doğumlar yaşarlar. Retrospektif çalışmalara göre infertil kadınların %2,1'sinin klinik ve subklinik hipertiroidizm kaynaklı olduğu görülürken, retrospektif çalışmalarda hipertiroidi olan kadınların %5,8'inde primer veya sekonder infertilite olduğu görülmüştür (Joshi ve ark., 1993; Healy ve ark., 1994).

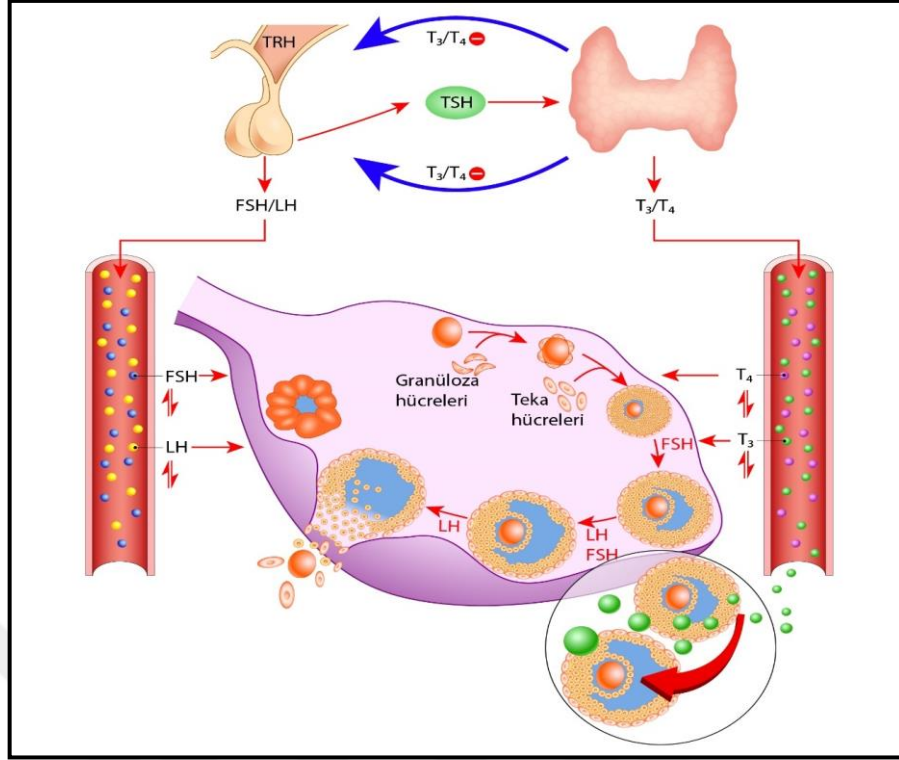
Hipertiroidizmin kadın infertilite üzerine en yaygın etkisi amenore, oligomenore ve hipomenore olmak üzere menstrüel düzensizliklerdir (Skjoldebrand Sparre ve ark., 2002; Fedail ve ark., 2014). Ergenlikten önce meydana gelen hipertiroidizmin adet başlangıcını geciktirdiği bildirilmiştir. Saxena ve ark. yaptıkları çalışmalarında hipertiroidli kadınlarda menarş ortalama yaşlarının tiroid hastalığı olmayan kadınlara göre daha ilerlemiş olduğunu göstermişlerdir. Farklı tip menstrüel anormalliklerin prevalansının, ötiroid kadınlardakine göre hipertiroid kadınlarda, yaklaşık %50 daha fazladır. Ayrıca hipertiroidli kadınlarda yapıla over ultrasonografi sonuçlarında polikistik, multisistik veya multifoliküler paternler gözlemlenmiştir (Skjoldebrand Sparre ve ark., 2002).

Hipertiroidili kadınlarda kısırlığın açıklanması için farklı patofizyolojik mekanizmalar önerilmiştir. Hipertiroid durumunda, hormonal profil değişir: serumdaki seks hormonu bağlayıcı globülinler (SHBG) ve östradiol (E2) seviyelerinin artmasına neden olur. SHBG ve E2 seviyelerindeki bu artış ile östrojen metabolizması değişir ve androjenlerin östrojenlere dönüşümü artar (Krassas ve ark., 2010; Weiss ve Clapauch, 2014). Hipertiroid kadınlarda androstenedion ile birlikte testosteronun da üretim hızı normal kadınlara kıyasla anlamlı derecede artar ve bununla birlikte hipertiroidili kadınlarda androstenedionun estronun yanı sıra testosteronun estradiole dönüşüm oranı artar (Southren ve ark., 1974).

Hipertiroidili kadınlarda serum LH ve FSH artış mekanizmaları belirsizdir. Akande ve Hockaday, adet döngüsünün hem foliküler hem de luteal fazlarındaki ortalama LH seviyelerinin, hipertiroid kadınlarda normal kadınlardan anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır (Akande ve Hockaday, 1972). Belirtilen hormonal değişiklikler, menstrüel rahatsızlıkları kısmen açıklayabilse hipertiroidi (pıhtılaşma faktörleri üzerindeki etkileri gibi) bir dizi başka mekanizmalar yoluyla da menstrüel bozukluklara neden olmaktadır (Mintziori ve ark., 2012). Bu değişikliklere bağlı olarak

infertilite hakkındaki veriler literatürde çok az olmakla birlikte ve yeni prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

İnsan ovaryum (oositler, kumulus hücreleri ve granüloza hücreleri) ve endometriyum dokularında TR ve TSH reseptörlerinin (TSHR) bulunması tiroid hormonlarının dişi üreme sistemi üzerindeki doğrudan etkilerini kanıtlar niteliktedir. Bu nedenle hipertiroidizmden en çok etkilenen doku ovayumlardır. Tiroid hormonları foliküler sıvıda ve TR (TRa1, TRa2, TRβ1 ve TRβ2)'nin primordial, primer ve sekonder foliküllerdeki granüloza hücrelerinde bulunur. Foliküler sıvının özellikleri oosit kalitesi ve gelişim potansiyelinde belirleyici bir rol oynayabilir. Aynı zamanda foliküler sıvı, gelişen oositler için çok önemli bir mikro ortam sağlar. Bu nedenle tiroid hormonlarında meydana gelen değişikliklerin foliküler gelişim üzerinde önemli rol oynayacağı gözlemlenmektedir. TR menstruel faz dönemlerinde farklı oranlarda seyretmektedir: TRa1 ve TRβ1 luteal fazın ortalarında eksprese edilir, salgılama fazı boyunca artar ve faz sonunda azalır (Wakim ve ark., 1993; Colicchia ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda granüloza hücrelerinin, T<sub>3</sub> reseptörlerine benzer özelliklere sahip nükleer bağlanma bölgelerinin olduğu, insan foliküler sıvısında T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> varlığı tespit edilmiştir (Wakim ve ark., 1994). Endometriumda olduğu gibi TSHR, foliküler gelişim sırasında granüloza hücrelerinde farklı şekillerde dağılım göstermektedir. Ayrıca, ovaryal stromal hücrelerin THR için mRNA'ya sahip olduklarını göstermiştir. Bu veriler, tiroid hormonlarının sadece folikogenez sürecinde değil, aynı zamanda stromal hücrelerin androjen üretme ve salgılama sürecinde de rol oynayabileceğini göstermektedir (Channing ve ark., 1976). Hayvan çalışmalarında tiroid hormonlarının FSH aromataz aktivitesini arttırdığı ve gonadotropinlerle sinerjistik etkiler göstererek insülin, kortizol, progesterin LH salınımını arttırdığı gözlenmiştir (Channing ve ark., 1976; Maruo ve ark., 1992a) (Şekil 1).



**Şekil 1.** Tiroid hormonlarının hipofiz-ovaryum eksenini ile ilişkisi. FSH: Folikül uyarıcı hormonun; LH: Luteinize edici hormon; TSH: Tiroid stimüle edici hormon (Wilkinson ve Imran, 2019'dan uyarlanmıştır)

## 2.4. Ovaryumun Anatomisi

Yumurtalıklar, uterusun her iki tarafında lateral pelvik duvara yakın olarak rektuma anteriorda bulunan pelvik organlardır. Nulliparalarda yaklaşık 3 cm uzunluğunda, 1,5 cm genişliğinde ve 1 cm kalınlığında bir çift badem şeklinde, pembemsi beyaz yapılardır. Ovaryum hilüstan mezovaryumun çift katıyla ligamentum latum'a tutunur. Ayrıca her ovaryum, orta kutbunda, ipsilateral uterin cornuya ve lateral kutbun üst kısmından, infundibulopelvik (veya süspansiyon) ligament tarafından lateral pelvik duvarına tutturulur. (Williams ve Erickson, 2000; Gartner, 2007).

### 2.4.1. Ovaryumun Histolojisi

Ovaryum korteks-medulla organizasyonuna sahip olup kalın bir sıkı bağ dokusu kapsülü olan tunica albuginea ile çevrilidir. Tunika albuginea'nın yüzeyi germinal epitelle çevrilidir. Tek katlı kübik olan bu epitel yaşın ilerlemesiyle birlikte boyu alçalır hatta yassı epitele dönüşebilir. Ergenlikten önce, yumurtalığın yüzeyi pürüzsüzdür, fakat üreme ömrü boyunca tekrarlanan yumurtlamalar nedeniyle aşamalı

olarak skar ve düzensiz hale gelir. Korteks, kollejen ve retiküler liflerce zengin olup düz kas hücreleri ve fibroblast benzeri hücrelerden oluşan stroma içine gömülü farklı gelişim ve gerileme safhalarındaki ovaryum foliküllerinden oluşur. Ovaryum korteksi daha çok fonksiyonel kısım olduğu için zona parenşimatoza olarak adlandırılır. Korteks ile çevrili ovaryum medullasında büyük damarlar, lenfatikler, gevşek bir kollajen ve matrikse gömülü sınırlar bulunur, vasküler yapısından dolayı bu tabaka zona vaskuloza olarak adlandırılır. Hilus'ta hilus hücreleri denilen hücreler bulunur ve bu hücrelerin Leydig hücreleri gibi androjen salgıladıklarını düşündürmektedir (Williams ve Erickson, 2000; Junqueira, 2005).

#### **2.4.2. Ovaryum Folikülleri ve Gelişimi**

Korteks stroması içinde gömülü olarak bulunan yumurtalık folikülleri, gelişen oosit için mikro ortam sağlar. Bir folikülün boyutu ve hücrel organizasyonu oositin gelişimi hakkında bilgi verir. Folikülogenez iki aşamadan oluşur. Preantral veya gonadotropinden bağımsız faz olarak adlandırılan birinci faz, oositin büyümesi ve farklılaşması ile karakterize edilir. Antral veya gonadotropin bağımlı olarak adlandırılan ikinci faz, folikülün kendisinin büyüklüğünün (yaklaşık 25-30 mm'ye kadar) muazzam artışı ile karakterize edilir. Preantral faz, esas olarak otokrin / parakrin mekanizmalar aracılığıyla üretilen büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir. İkinci faz, büyüme faktörleri yanında, FSH ve LH tarafından düzenlenir (Williams ve Erickson, 2000; Junqueira, 2005).

Gonadlardaki dişi germ hücrelerinin gelişerek olgun ovum haline dönüşmesi sürecine oogeneze denir. Fetal yaşamın erken dönemlerinde primer germ hücreleri mitoz bölünme ile çoğalarak oogonium denilen dişi ana germ hücresini yapar. Fetal yaşamın 5-6. ayına kadar mitoz bölünme devam eder. Her iki ovaryumdaki sayıları yaklaşık 7 milyona ulaşır. Mitozla çoğalma durduktan sonra hacimsel büyüme başlar. Bu hücelere primer oosit (oosit I) adı verilir. Ovaryum korteksinin en dış bölümlerinde tunika albugineanın hemen altında primordiyal foliküller yer alır (Williams ve Erickson, 2000). Bu foliküller tek katlı yassı foliküler hücreler ile çevrili Oosit I (primer oosit) içerir. Oosit I'ler birinci. mayoz bölünmenin profaz evresinin diploten aşamasında tutuklu kalır ve uzun yıllar sürebilecek bir dinlenme evresine girerler. Primordial foliküllerin bir kısmı büyüyüp gelişirken bazıları da dejenere olur ve ölürlür. Böylece

sayıları doğumda 2 milyon, ergenlikte ise 300 - 500 bin seviyelerine iner. Doğumla birlikte sayıları yaklaşık 400 bin olan foliküllerin çoğu olgunlaşmalarını tamamlayamaz ve atretiziye uğrayarak ölürlür. Bu süreç fetal dönemin beşinci ayında başlar ve puberteye kadar hızlanarak sürer ve üreme döneminde yavaşlayarak devam eder (Gartner, 2007).

Primordial foliküller, ovaryum korteksinin en dış bölümlerinde tunika albugineanın hemen altında yer alır. Tek katlı yassı foliküler hücreler ile çevrili primer oosit içerir. Gonad taslağının yüzeyindeki sölom epiteli (mezotel) kökenli hücreler birbirlerine desmozomlarla tutunurlar. Folikül stromadan bir bazal lamina ile ayrılır. Bazal lamina sayesinde, granüloza hücreleri ve oosit, diğer hücrelerle doğrudan temasın oluşmadığı bir mikro ortam içinde bulunur. Her ay primordial foliküllerden 5-15 tanesi hormonların gonadotrofinlerin etkisiyle gelişme aşamasına geçer ve mayoz bölünmeyi dolayısıyla olgunlaşmalarını tamamlarlar. Reprodüktif yaşam boyunca bir kadın her 28 günde bir ovulasyon olduğundan ortalama 400 kadar matür ovum üretir. Yumurtalık folikülünün gelişimi, FSH ve LH etkisiyle gerçekleşen sıralı bir işlemdir.

Folikülogenez ile birlikte oositin etrafındaki foliküler hücreler yassıdan kübik epitele dönüşür ve bu aşamadaki hücreler artık granüloza hücreleri (mebrana granüloza) olarak adlandırılırlar. İçerisinde primer oositi barındıran tek katlı kübik epitelle çevrili bu foliküllere unilaminar (tek tabakalı) primer folikül denir. Primer oositin salgılanan aktivin etkisi ile granüloza hücreleri mitoz bölünmeler geçirip sayılarını artırarak çok katlı bir hal alırlar bu aşamadaki folikül ise multilaminar (çok tabakalı) primer folikül adını alır. Henüz antrum gelişmediği için bu aşamadaki primer foliküllere preantral foliküller de denilmektedir. Primer folikülde meydana gelen ana gelişimsel olaylar FSH reseptörü ekspresyonu, oosit büyümesi ve farklılaşmasını içerir. Granüloza hücreleri primer folikül evresinde FSH reseptörlerini eksprese etmeye başlar. FSH reseptörü ekspresyonunun uyarıcıları arasında FSH'nin kendisi, aktivin, siklik AMP ve transformasyon büyüme faktörü (TGF) bulunur (Şekil 8). Her ne kadar folikül alımı ve folikül büyümesinin ilk aşamaları gonadotropinlerden bağımsız olsa da primer folikül gelişimi için preantral aşamada FSH gereklidir. Hayvanlarda, yüksek seviyelerde plazma FSH, primer folikül gelişimini hızlandırır. Primer oosit büyüklüğü 60-80 µm bir çapa ulaştığında ilk sıra granüloza hücrelerinden özel proteinler salgılanır. Bu proteinlerin (ZP-1, ZP2 ve ZP-3) bir araya gelmesiyle mukopolisakaritler ve



glikoprotein bakımından zengin, PAS pozitif, hücre dışı matris olan zona pellusida gelişir. Bu tabaka geç primer folikül evresinde daha belirginleşir ve varlığını geç blastokist evresine kadar sürdürür. Granüloza hücrelerin sitoplazmik uzantıları bu tabakayı geçerek oositin mikrovilluslarıyla oluklu bağlantılar ile bağlanırlar. Primer folikül içinde bu değişimler gerçekleşirken, folikülü çevreleyen stromada birtakım değişimler meydana gelir. Folikülü çevreleyen stromal hücreler, teka interna ve teka eksterna olmak üzere iki tabakalı teka kılıfını oluşturur. Folikülün bazal laminasına komşu olan teka interna hücreleri steroid hormon salgılayan hücre histokimyasal yapılarına sahiptir. Teka interna tabakası iğ biçimli hücrelerden ve kapillar damarlardan zengindir. Teka interna tabakasındaki hücreler androstenoidin hormonu sentezlerler. Ne teka interna hücreleri ne de granüloza hücreleri, kolesterolü östrojenlere dönüştürmek için gerekli tüm enzimleri içermez. Östrojen bu iki hücrenin ortaklaşa çalışmasıyla üretilmektedir. Teka interna hücrelerinin membranlarında LH reseptörleri vardır ve LH salınımıyla faaliyete geçer. Granüloza hücrelerinden salınan teka farklılaşma faktörleri, androjen biyosentezi için gereken steroidojenik enzimlerin (CYP11A, 3 $\beta$ -HSD ve CYP17) mRNA'larının ekspresyonunu uyarmaktadırlar. Her iki hücrede kolesterolü pregnenolon'a çevirir ve granüloza hücrelerinde üretilen pregnenolon teka hücrelerine geçer ve burada özellikle androstenedione olmak üzere androjenlere dönüştürülür. Bu androjenler de bazal laminadan tekrar granüloza hücrelerine geçerek, aromataz enziminin etkisi ile başlıcası E2 olmak üzere östrojenlere çevrilir. Teka eksterna ise teka interna tabakasını çevreleyen fibröz bağ dokusu yapısındadır. Ovaryum stromasından belli bir sınırla ayrılmayan teka eksterna tabakası düz kas hücreleri kollagen lif demetlerinden oluşur.

Folikülogenez devam ettikçe folikülün yapısındaki değişiklikler devam eder. Granüloza hücreleri sayıları artırarak çok sayıda katman oluşturur. Artışın sonrasında hücrelerin arasında yer yer erimeler oluşur ve sıvı dolu kaviteler meydana gelir. Sıvı dolu kaviteler kan plazmasının sızmasıyla gerçekleşir. Sonrasında bu sıvı dolu boşluklar birleşerek foliküler antrumları (likör folikülü; yüksek miktarda proteoglikanlar, GAGlar, büyüme faktörleri, progesteron, estradiol, inhibin, folliostatin ve aktivin, steroid hormonlar, FSH, LH ve OMI gibi steroid yapıda olmayan hormonlar içerir) oluşturur. Bu aşamadaki foliküllere sekonder folikül (antral folikül) denir.

Primer folikülden gelişen sekonder foliküller büyümeye devam eder ve 2 mm çapa kadar ulaşır. Sekonder foliküllerden birkaç tanesi graaf folikülüne dönüşür ve bunlardan sadece bir tanesi ovulasyona uğrar. Diğer foliküller ise atreziye uğrayarak atretik foliküllere dönüşürler. Graaf folikülünde antrumlar tek bir boşluk olacak şekilde birleşir ve meydana gelen geniş anturumun oluşmasıyla oosit kendisini saran zona pellusida ve birkaç granülosa hücre ile (kumulus ooforus) kenara itilir, oositin bitişiğinde yer alan kumulus ooforus hücrelerinin ilk hücre tabakası korona radiata olarak bilinir. FSH, foliküllerin hem büyüme ve olgunlaşmasını hem de FSH reseptörleri eksprese etmelerini uyarır. Primer ve sekonder foliküller FSH reseptörlerine sahiptir. Graaf folikül hücrelerinde FSH reseptörünün yanı sıra LH reseptörleri de belirlemeye başlar. Diğerlerinden daha fazla FSH reseptörü eksprese eden folikül gelişimini tamamlar. Ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce teka interna hücreleri gibi granüloza hücrelerinde de LH reseptörleri uyarılır, hipofizden salgılanan LH artışına bağlı olarak primer oosit, birinci mayoz bölünmesini tamamlar, böylece sekonder oosit (haploid) ve birinci. kutup hücresi meydana gelir. Sekonder oosit hemen ikinci mayoz bölünmesine başlar ve metafaz evresinde kalır. Folikül kortekse doğru hareket eder ve ovariumun üzerinde stigma adı verilen ufak bir kabartı meydana getirir ve folikül buradan yukarı doğru ilerleyerek içeriğini (sekonder oosit kendisini saran corona radiata hücreleriyle birlikte) tuba uterinaya boşaltır. Burada eğer dölleme olmazsa 24-48 saatte parçalanır ve menstruasyon ile dışarı atılır. Sekonder oosit tuba uterinada sperm ile karşılaşır, ikinci mayotik bölünme de tamamlanır ve olgun dişi eşey hücresi ovum ile ikinci. kutup hücresi oluşur. Ovum ile sperm birleşerek zigotu oluşturur.

Memelilerde, foliküllerin %99,9'u (oosit) atreziye uğrayarak ölür. Atrezinin temel bir özelliği, oosit ve granülosa hücrelerinde apoptozun aktivasyonudur (Danial ve Korsmeyer, 2004). Folikül atrezisi, hücre proliferasyonunu teşvik eden sağkalım faktörleri, folikül büyümesi ve farklılaşması ile hücre ölümünü destekleyen proapoptotik faktörler arasındaki bir denge ile kontrol edilir. Hem ekstrinsik hem de intrinsik hücre ölüm yolları, granüloza hücrelerinde apoptozu kontrol etmektedir. Yetişkinlerde folikül atrezisi ve oosit kaybı, granüloza hücrelerinde başlatılan apoptoz yoluyla gerçekleşmektedir (Williams ve Erickson, 2000; Gartner, 2007).

Ovumun salınmasından sonra, granüloza ve teka interna hücreleri değişime uğrayarak corpus luteum'u oluşturur. Ovulasyondan sonra boş folikül duvarları

büzüşerek ileri derecede katlantılar gösterir. Folikülün bazal membranı parçalanır ve kan damarları hücre kümesinin içine girer Antrum içinde kan birikmesiyle birlikte kan pıhtılaşır ve korpus hemorajikum oluşur. Granüloza ve teka hücreleri pıhtı etrafını sararlar ve granüloza lütein ve teka lütein (lipit damlacıklarının varlığını gösteren soluk sitoplazma ile birlikte steroid üreten hücrelerin bir görünümüne sahiptir) hücrelerine dönüşürler. Kan damarları, granüloza lütein hücrelerinin bölgesine nüfuz ederek, progesteronun sentezlenmesinde kullanılacak kolesterolü almalarını sağlar. FSH ve LH uyarısına yanıt olarak, granüloza lütein hücrelerine östrojen ve progesteron salgırlar; teka lütein hücreleri androstenedion ve progesteron üretirler. Ovum döllenir ve uterus duvarına implante edilirse, insan koryonik gonadotropin hormon (implante embriyonun trofoblast tabakasından salgılanan) korpus luteumdaki hücrelerin aktivitesini sürdürmek için LH'nin yerini alır. Korpus luteum gebeliğin altıncı ayına kadar varlığını sürdürür ve gebelik korpus luteumu adını alır. Fertilizasyon gerçekleşmezse ovulasyondan yaklaşık 14 gün sonra korpus luteum gerilemeye başlar ve buna menstruasyon korpus luteumu adı verilir. Gerileme devam eder, luteoliz adı verilen bir işlemle dejenere olur ve korpus albicans oluşur. Korpus albicans küçülür ve ovaryumda kalır (Williams ve Erickson, 2000; Junqueira, 2005).

## **2.5. E Vitamininin Moleküler Yapısı**

Tokoferol ve tokotanollerin bir karışımından oluşan E vitamini, birçok gıda ve bitkide bulunmaktadır. E vitamini içeren yiyecekler arasında buğday, pirinç kepeği, arpa, yulaf, hindistan cevizi ve hurma bulunur. Diğer kaynaklar arasında çavdar, amarant, ceviz, fındık, haşhaş, aspir, mısır ve üzüm ve kabak çekirdeği sayılabilir. E vitamini türevleri ayrıca insan sütünde ve palmyelerde tespit edilmiştir (Kobayashi ve ark., 1975; Dierenfeld ve ark., 1993; Kannappan ve ark., 2012).

E Vitamini, bitkiler tarafından sentezlenen bir tokoferol ve tokotrienol karışımından oluşur. Bu maddeler sekiz farklı homologda bulunur; dört tokoferol homologu ( $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ - tokoferol,  $\gamma$ - tokoferol,  $\delta$ - tokoferol) tam olarak doymuş bir 16-karbon izoprenoid zincirine sahipken, tokotanollerin homologları, üç çift bağ (doymamış bir yan zincir) içeren benzer bir izoprenoid zincirine sahiptir (Kobayashi ve ark., 1975). Tokoferol homologları fenol halkası üzerindeki metil gruplarının konumu ve sayısına göre adlandırılır. Alfa-,  $\beta$ -,  $\gamma$ - ve  $\delta$ -homologları sırasıyla üç, iki, iki ve bir

metil grubu içerir. Bu yapısal farklılıklar ve izomerizm biyolojik aktiviteyi belirler (Bieri ve Evarts, 1974). Yapılan çalışmalar  $\alpha$ -tokoferol doğal olarak mevcut olan en aktif form ve bilinen en güçlü antioksidan olduğunu göstermiştir. Alfa-tokoferol plazmadaki E vitamininin %80-90'ını oluşturmaktadır ve dokudaki major E vitamini formudur. Alfa-tokoferol önemli bir lipitte çözünen antioksidandır. Glutatyon peroksidaz yolağında antioksidan görevi görür ve lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunda üretilen lipit radikalleriyle reaksiyona girerek hücre zarlarını oksidasyondan korur. Antioksidan olarak, serbest radikal ara maddeleri uzaklaştırır ve oksidasyon reaksiyonunun devam etmesini önler. Bu işlemde üretilen okside olmuş  $\alpha$ -tokoheroksil radikalleri, askorbat, retinol veya ubikuinol gibi diğer antioksidanlar tarafından indirgenerek aktif indirgenmiş forma geri dönüştürülebilir (Brigelius-Flohe ve Traber, 1999). Diğer E vitamini formlarının kendine has özellikleri vardır; örneğin  $\gamma$ -tokoferol, elektrofilik mutajenlerle reaksiyona girebilen bir nükleofildir. Çalışmalarda tokoferollerin biyolojik zarların çok önemli bileşenleri olduğu gösterilmiştir ve membran stabilizasyonunda rol oynamaktadırlar. E vitamini güçlü antioksidan özelliği sayesinde hücre zarlarını, proteinleri ve DNA'yı oksidasyondan korur ve böylece hücre sel sağlığa katkıda bulunur (Wang ve Quinn, 1999; Herrera ve Barbas, 2001; Traber ve Atkinson, 2007).

### **2.5.1. Oksidatif Stres ve Dişi Üreme Sistemi Üzerine Etkileri**

Oksidatif stres, antioksidanların ve pro-oksidanların oranında dengesizlik meydana gelmesiyle ortaya çıkan patolojik bir durumdur. Aşırı ROS üretimi, vücudun antioksidan savunma sistemini yetersiz bırakarak oksidatif stresi indükler (Cindrova-Davies ve ark., 2007). Yüksek seviyedeki serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektronlar serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırarak DNA, lipid, protein, karbonhidrat gibi biyolojik açıdan önemli materyallere zarar verebilmektedir. Meydana gelen bu zincir reaksiyonlar hücre sel hasarı ve çeşitli hastalıkları beraberinde getirmektedir. ROS'un kontrolsüz bir artışı sonucu lipit peroksidasyonuna neden olarak, hücre zarlarının hızlı bir şekilde tahrip olma sürecini başlatır. Bu reaksiyona devamında lipit peroksitleri membranda birikir ve çoklu doymamış yağ asitlerini biyolojik aktif maddelere dönüştürür. Sonuç olarak

oksidatif stres, membranda yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, hücre zarı akışkanlığının bozulması, membran yapılarındaki protein reseptörlerinin zarar görmesi ve hücre zarı enzimlerinin aktivitesindeki değişiklikler gibi hücrelerde patolojik durumların ortaya çıkmasına neden olur (Burton ve Jauniaux, 2011). Bununla birlikte oksidatif stres iştahsızlık, diyabet, baş dönmesi, romatoid artrit, kardiyovasküler hastalık, bulantı, kısırlık ve inme gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde kilit rol oynamaktadır (Al-Gubory ve ark., 2010).

Normal hücre fonksiyonlarının ilerlemesi için (oksidasyon sonrasında her molekülün indirgenmiş durumuna geri dönmesi için) belirli bir miktarda ROS gereklidir. Foliküler sıvı mikro-ortamı, oositin kalitesine ve daha sonra üretilen embriyoya biyolojik bir penceredir. Fagositik makrofajlar, parankimal steroidojenik hücreler ve endotel hücreleri, yumurtalıklarda ROS üretmektedirler (Halliwell ve Gutteridge, 1988). Yapılan çalışmalar birlikte ovaryum dokusundaki oksidatif biyo-belirteçlerinin lokalizasyonu tespit edilmiştir. Granüloza hücreleri, lutein hücreleri ve hilus hücreleri gibi steroidojenezde yer alan hücreler daha güçlü oksidatif enzim aktivitesi gösterir (Scully ve Cohen, 1964). Dişi üreme kanalında ROS ve antioksidanların varlığı, hayvan ve insan çalışmalarında çeşitli yöntemler ile gösterilmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri, bakır-çinko SOD ve manganez SOD, büyüyen folikülün granüloz ve teka hücrelerinde lokalize edilmiştir. Selenyum bağımlı GPx aktivitesi, IVF uygulanan hastaların foliküler sıvısında ve serumunda gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda hem insan hem de fare yumurtalıklarında ve oositlerde süperoksit dismutaz, GPx ve gama-glutamilsistein sentetaz gibi antioksidan enzimlerinin profilleri gösterilmiştir (El Mouatassim ve ark., 1999).

Aşırı ROS üretimi hücre fonksiyonları ve hücre içi homeostazı bozarak ve hücre hasarlarına yol açmaktadır (Ruder ve ark., 2009). *In vitro*, hayvan modeli ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, oksidatif stresin hem kadınlarda hem de erkeklerde olumsuz üreme olaylarının etiyolojisinde rol oynadığını göstermektedir (Vural ve ark., 2000; Walsh ve ark., 2000; Acevedo ve ark., 2001; Sikka, 2001). Birbirini takip eden zincir reaksiyonlar dişilerde meydana gelen birçok fizyolojik reaksiyonları etkileyerek endometriozis, polikistik over sendromu ve açıklanamayan kısırlık gibi birçok üreme hastalığına yol açmaktadır (Modugno, 2004; Walsh ve ark., 2014).

Oksidatif stres ve kadın infertilitesi arasındaki sebep-sonuç ilişkisi henüz aydınlatılmış değildir. Oksidatif stresin kadınlarda çeşitli fizyolojik fonksiyonları (oosit olgunlaşması, yumurtalık steroidogenezi, yumurtlama, implantasyon, blastosist oluşumu, lutealiz ve luteal gebelikte) nasıl etkilediğine dair birçok çalışma yapılmıştır (Jozwik ve ark., 1999; Sugino ve ark., 2000; Ruder ve ark., 2009). ROS iki ucu keskin bir kılıç gibidir hem fizyolojik süreçlerde anahtar sinyal molekülleri olarak işlev görürken hem de antioksidanlarla arasında denge bozulduğunda patolojik süreçlerin modülatörü olarak da rol oynarlar. ROS, oosit olgunlaşması, yumurtalık steroidogenezi, korpus luteum fonksiyonu ve lutealiz gibi fizyolojik üreme fonksiyonlarının tümünün modülasyonunda görev almaktadır (Sabatini ve ark., 1999; Behrman ve ark., 2001) (Şekil 2). Ergenlikte hormonların etkisiyle her ay birçok primer oosit büyümeye başlar ve mayoz I tamamlanır. İlginç bir şekilde, mayoz I 'in başlatılması, ROS'taki bir artışla indüklenir (Kodaman ve Behrman, 2001) bu durum yumurtlama öncesi folikülün ROS üretiminin önemli bir promotörü olduğunu gösterir (Behrman ve ark., 2001).

Oksidatif stres over patofizyolojisinde önemli role sahiptir. Yüksek miktarda üretilen ROS yumurtalık foliküllerinin sayısında, oosit / folikül havuzunun büyüklüğünde ve foliküllerin kalitesinde kayba neden olmaktadır. Oosit / folikül havuzunun büyüklüğü teka hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini indükleyerek interstisyel hücreleri etkileyebilir. Yapılan bir çalışmada yüksek dozlarda üretilen ROS teka hücrelerinin çoğalmasını baskıladığı gözlenmiştir (Duleba ve ark., 2004). SOD gibi antioksidan enzimler steroid üreten hücrelerde siklik olarak eksprese edilir. ROS bu nedenle korpus luteum ve steroidogenez sürecinin oluşumunda rol oynar (Agarwal ve ark., 2005). Aynı zamanda aşırı ROS üretimi foliküler atreziye ve yumurtalıklardaki oosit yaşlanmasına neden olmaktadır (Agarwal ve ark., 2005). Oksidatif stres kaynaklı mitokondriyal disfonksiyonun neden olduğu telomer kısalmasının, kromozomal segregasyon bozukluklarının, olgunlaşma ve dölleme başarısızlıklarının veya oosit / embriyo fragmantasyonunun ana nedeni olarak kabul edilmektedir (Ishii ve ark., 2014).

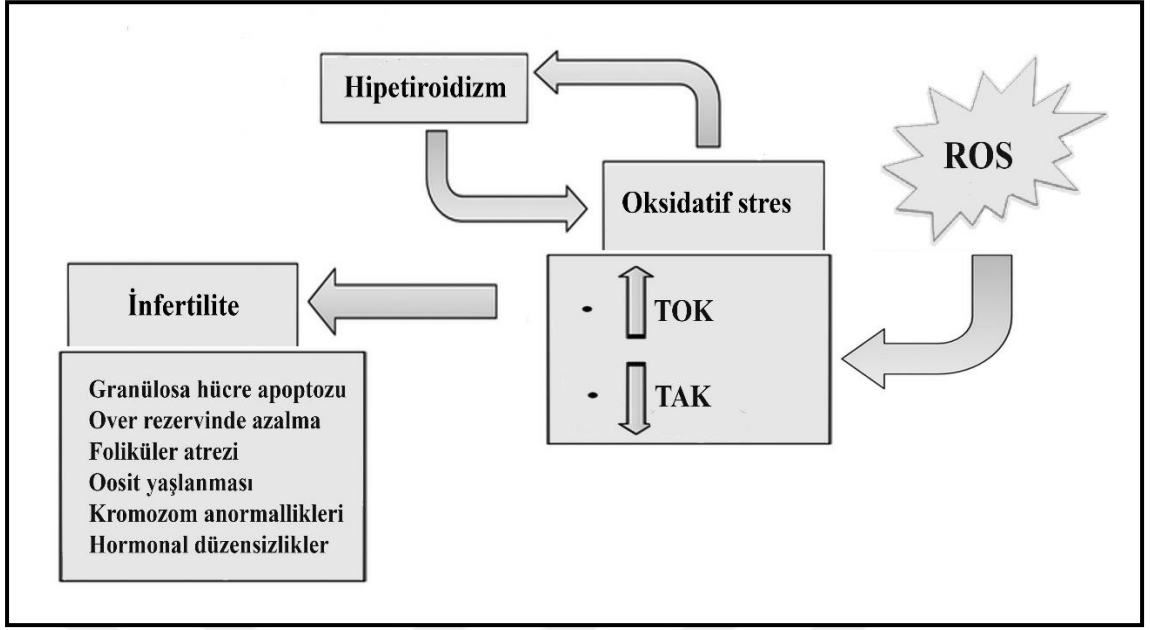
Yumurtalık epitel kanseri en sık görülen yumurtalık kanseri türüdür. Over epiteli kanserinde over epitelyal inflamasyonunun etiyojik bir faktör olduğu öne sürülmüştür (Attaran ve ark., 2000; Behrman ve ark., 2001; Ness, 2003). Foliküler rüptürü meydana getiren mekanizmalar, yumurtalık yüzey epitel hücrelerinin zararlı ajanlara (örn., serbest radikaller ve TNF-a) maruz kalmasıyla sonuçlanır (Murdoch ve Martinchick, 2004). Bu

nedenle, oksidatif stresin kompleks artikülasyonu, döngüsel olarak tekrarlanan inflamasyon ve sitokinler, over kanserinin etiyopatogenezinde rol oynayabilir (Modugno ve ark., 2004; Young ve ark., 2004).

Oksidatif stres etiyolojisine bakıldığında, yaşlanma ile bozulmuş foliküler vaskülarizasyona olası bir rol olarak atfedilebilir (Szafarowska ve Jerzak, 2013). Yumurtalık mikro-ortamının bozulmasına neden olan faktörler yumurtalık stroma damarlarını, foliküler büyümeyi, etkili bir antioksidan enzimatik savunma sistemini ve perifoliküler vaskülarizasyonun gelişimin engellemektedir (Tatone ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada ROS seviyelerinin IVF ile fertilizasyon oranını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Kültür ortamındaki yüksek ROS seviyeleri, gecikmiş embriyonik gelişim, parçalanma ve morfolojik olarak anormal blastosistlerin gelişimi gibi etkilere neden olmaktadır (Bedaiwy ve ark., 2004). Ek olarak, daha önceki çalışmalar, oksidatif stres ile indüklenen hücre zarı hasarlarının, DNA hasarı ve apoptozis nedeniyle kusurlu ve geciktirilmiş embriyonik gelişimde rol oynadığını bildirmiştir (Bedaiwy ve ark., 2004; Agarwal ve ark., 2005).

Aşırı ROS varlığı, gen ifadelerini değiştiren anahtar transkripsiyon faktörlerinin modifikasyonu yoluyla erken embriyonik gelişimi etkilemektedir (Cindrova-Davies ve ark., 2007). Kadın üreme sistemindeki yüksek ROS konsantrasyonları da oositlerin döllenenmesini olumsuz yönde etkileyebilir ve embriyonik implantasyonun inhibisyonuna neden olabilir. Ayrıca hamilelik sırasında kendiliğinden düşük, tekrarlayan gebelik kaybı, preeklampsi ve intrauterin büyüme kısıtlaması gibi komplikasyonlara neden olabilmektedir (Fujii ve ark., 2005; Chandra ve ark., 2009).



**Şekil 2.** Oksidatif stresin dişilerde üreme sistemi üzerine etkileri ROS: Reaktif oksijen türleri; TAK: Toplam antioksidan kapasitesi; TOK: Toplam oksidan kapasitesi (Mancini ve ark., 2016'dan uyarlanmıştır)

### 2.5.2. Dişi Üreme Sisteminde E Vitamininin Antioksidatif Rolü

E vitamini ilk olarak 1922'de Evans ve Bishop tarafından sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada üreme için gerekli bir diyet faktörü olarak keşfedilmiştir (Evans ve Bishop, 1922). 1940'larda E vitamini eksikliğinin kısırlılık problemlerine neden olduğu özellikle implantasyon sürecinde önemli etkilere sahip olduğu bulunmuştur (P'An ve ark., 1949). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda E vitamininin üreme fizyolojisindeki rolü üzerine araştırmalar devam etmiş ve oksidatif stres kaynaklı infertilite problemlerinde faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir (Mohd Mutalip ve ark., 2018).

Antioksidanlar (E ve C vitamini) ve antioksidan kofaktörler (selenyum, çinko ve bakır gibi), ROS oluşumunu bertaraf edebilen, temizleyen veya baskılayabilen bileşiklerdir. Antioksidan vitaminlerin yoğunluğu azaldığında, plazma ve dokularda lipid peroksidasyonu artar, hücre zarlarının bütünlüğünde hasara yol açar. Hücre zarı lipidlerinin peroksidasyonu yapısal hasarlara neden olarak zarların işlevini, geçirgenliğini olumsuz yönde etkiler ve sonuçta geri dönüşümsüz hücre ölümlerine neden olur. E vitamini, membran fosfolipidlerinde veya lipoproteinlerde çoklu doymamış yağ asidinden peroksil radikallerini temizler ve hücre zarlarındaki çoklu



doymamış yağ asitlerini koruyarak lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur (Sahin ve ark., 2009).

Tüm antioksidanlar vücut için önemli olsa da üreme için E vitamininin ayrı bir özelliği vardır. E vitamininin büyük kısmı  $\alpha$ -tokoferol yani Latincede üremek ve doğurganlık anlamına gelmektedir. E vitamini hücre zarının lipid kısmına katılarak hücre zarını kurşun, civa ve diğer ağır metaller dahil olmak üzere toksik bileşiklerden (ilaçlar; radyasyon ve serbest radikaller) korur. Serbest radikal ile indüklenen doku hasarının önlenmesinde  $\alpha$ -tokoferolün çoğu araştırmacı tarafından birincil serbest radikal temizleyicisinin olduğu ve memeli hücre zarındaki lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği kabul edilmektedir (Olson ve Seidel, 2000; Tareq ve ark., 2012).

A-tokoferol (E vitamini) *in vivo* ve *in vitro* koşullarda bir ROS tutucu olarak bilinir, aynı zamanda yumurtalık dokusu ve foliküler sıvıda bulunan en önemli antioksidandır. Çeşitli hastalıklar ve çevresel faktörler hücreler için stres ortamı oluşturarak mitokondri fonksiyon bozukluğuna neden olur. Mitokondride meydana gelen fonksiyon bozukluğu aşırı derecede ROS üretimine neden olur. Vitamin e takviyesi mitokondri disfonksiyonu ile artan ROS üretimini en aza indirmeye yardımcı olarak oksidatif stres riskini azaltır (Ahn ve ark., 2002). ROS'ların seviyelerinin aşırı üretilmesi granüloza hücrelerinde ve oosit zarında lipid peroksidasyonu oluşumunu tetikler ve bu durum da foliküler fonksiyonun bozulmasına neden olur (Abdelahi ve ark., 2010). Yapılan bir çalışmada kültür ortamında  $\alpha$ -tokoferol takviyesi yapıldıktan sonra yumurtalık foliküllerinin sayısının arttığı, preantral foliküllerinin sağkalımını koruduğu ve altı günlük *in vitro* kültürden sonra primordial foliküllerin etkinleşmesinin desteklediğini bildirilmiştir (Lisboa, 2009). Oosit, dölleme ve blastosist oranlarının başarılı şekilde olgunlaşması, over foliküllerinin büyümesi ve gelişimi arasındaki koordinasyona bağlıdır. Abdelahi ve ark. yaptıkları çalışmalarında E vitamininin takviyesinin, hormonların ve büyüme faktörlerinin etkinliğini artırarak mayoz II aşamasına ulaşan oositlerin yüzdesi, blastosist oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir (Abdelahi ve ark., 2010). Aynı zamanda vitamin E damar tıkanıklığı kaynaklı infertilite problemlerinde damar yüzeyini temizleyerek kısırlık problemlerinin çözümlenmesinde yardımcı olmaktadır. Vitamin e artan ROS seviyelerini normale indirgeyerek, hasara uğrayan ovaryum morfolojisini, yapısını ve folikül canlılığını iyileştirmektedir. Ayrıca, E vitamini oksidatif stres koşullarının oluşumunu

engelleyerek foliküler olgunlaşma ve embriyo gelişimini iyileştirir. (Kitagawa ve ark., 2004). Kitagawa ve ark. kültür ortamındaki artmış ROS seviyelerinin ve azalmış antioksidan konsantrasyonunun embriyonik fragmantasyondan sorumlu olduğunu göstermiştir (Kitagawa ve ark., 2004).

Yapılan çalışmalarda vitamin E eksikliğinin ovaryum ve uterus fizyolojisini olumsuz etkilediği gözlenmiştir. Ergenlik öncesi dişi sıçanlarda E vitamini eksikliği üreme organlarının normal gelişimini etkilemektedir (Das ve Chowdhury, 1999). Bu zararlı etkinin, serbest radikal temizleyici olan E vitamini eksikliğinden dolayı gonadal hipofiz eksenindeki bozulmaya bağlı olarak hormonal profilde meydana gelen değişiklikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca E vitamini eksikliği özellikle implantasyon sürecini olumsuz yönde etkilemektedir (Martin ve Moore, 1939; Das ve Chowdhury, 1999). Yapılan çalışmalarda E vitamini eksikliğinin uterus ağırlığında belirgin bir azalmaya neden olduğu, östrojen seviyesinde meydana gelen düşüşle birlikte östrus döngüsünün anormal hale geldiğini ve bu durumun hamile kalınması ihtimalini imkânsız hale getirdiği gözlemlenmiştir (Martin ve Moore, 1939; Lyttle ve DeSombre, 1977). Ayrıca Das and Chowdhury'un yaptıkları çalışmalarında vitamin E eksikliğinin neden olduğu yumurtalık disfonksiyonunu yakından incelemişlerdir. Çalışmalarının sonunda östrojen, LH, uterin enzimler olan alkalik fosfataz ve peroksidaz seviyelerinde düşüşler, dejenere olmuş graff foliküller tespit ettikleri en çarpıcı sonuçlardır (Das ve Chowdhury, 1999). Letur-Konirsch ve ark. çalışmalarında erken over yetmezliği olan hastalarda Vitamin E'nin endometriyum üzerindeki etkisi incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda E vitamininin endometriyum üzerindeki antikoagülan etkisi sayesinde endometriyum kalınlığının arttığı, subendotelyal fibröz dokudaki pozitif değişikliklerin meydana geldiği görülmüştür. Aynı zamanda antikoagülan aktivite, foliküllere ve proliferatif granülosa hücrelerine kan tedarikini artırarak sağlıklı bir endometriyuma sahip olma yollarından biri olan östrojen üretimini normal seviyelere ulaştırmıştır. Bu etki doğrudan endometrial gelişimi artırabilen endometrial kan akışını artırmaktadır (Letur-Konirsch ve Delanian, 2003).

Alfa-tokoferol' de ve TTPA adı verilen bir protein, hamilelik ve gelişimde çok önemli rol oynar. TTPA veya  $\alpha$ -tokoferol transfer proteini,  $\alpha$ -tokoferol hücre zarları boyunca taşır. Bu proteinin konsantrasyonunun insan plasentasında çok yüksek olduğu gösterilmiştir. Farelerde, TTPA geninin yokluğu dişi hayvanlarının kısırlaşmasına

neden olur (Muller-Schmehl ve ark., 2004). Over yetmezliği olan kadın hastalara günde en az dokuz ay boyunca günde 1000 IU tokoferol ve 800 pentoksifilin kombinasyonu verilmiş ve tedavi sonunda uterus duvarının kalınlığında neredeyse iki kat artışa neden olduğu ve hatta test grubunda üç canlı gebelikle sonuçlandığı görülmüştür (Letur-Konirsch ve Delanian, 2003). Hayvanların günlük diyetlerine % 5 E vitamini ilavesi ile günlük 15 mg / kg folik asit enjeksiyonun yapıldığı bir çalışmada gebe diyabetik sıçanlarda embriyolar için ölüm riskini azalttığı görülmüştür (Letur-Konirsch ve Delanian, 2003). Bu kombinasyon, hücre ölümüne neden olan proteinlerin artmasını önleyerek embriyoların hayatta kalmasını sağlamıştır. Literatürden, neden E vitamininin bir üreme faktörü olarak adlandırıldığı açıktır, çünkü erken gelişim üzerinde derin bir etkiye sahiptir: yeni döllenmiş yumurtanın implantasyonuna yardımcı olur ve geliştirmekte olan embriyoları hatta bebekleri hasardan korur.

## **2.6. Stereoloji**

Morfologlar geleneksel olarak makro, micro, mikroskobik ve ultra strüktürel seviyelerde yapıların şekli ve bileşimi ile ilgilenirler. Son zamanlarda, dokuların, hücrelerin veya hücreyel organellerin (bir organizmanın adaptasyonu veya patolojisinde sıkça görülen) niceliksel değişikliklerinin yanı sıra morfoloji ve fonksiyon arasında daha iyi bir korelasyonun iyi anlaşılması için nicel bir yaklaşıma ihtiyaç vardır, (Roberts ve ark., 2000; Andersen ve Pakkenberg, 2003). Stereoloji, iki boyutlu histolojik kesitlerden üç boyutlu veri elde etmek için kullanılan bir morfometri dalıdır. Stereoloji, hücre popülasyonunu tahmin etmek, hücre boyutunu, bölgesel hacmi, alan fraksiyonunu ve yüzey alanını belirlemek için uygulanmaktadır. Ayrıca boyut, şekil ve nesne sayısının titiz kantitatif analizini sağlamak için kullanılan bir dizi yöntemdir olarak da adlandırılmaktadır (Sterio, 1984; Gundersen, 1986; Gundersen ve ark., 1999). Diğer özel nicel analizlere göre tarafsız, verimli ve daha güvenilir sonuçlar üretir. Stereolojik yöntemlerle elde edilen kantitatif sonuçlar, laboratuvarında üretilen ve bilimsel yayınlarda bildirilen nicel analitik sonuçların tutarlılığını ve güvenilirliğini artırarak biyolojik araştırmalardaki ilerlemeye önemli bir katkı sağlar.

Stereolojik metotlar kurallarına uygun bir biçimde uygulandığında sistematik hatadan bağımsız sonuçlar elde edilmesini sağlar ve maksimum düzeyde en doğru tarafsız nicel verilere ulaşılmalarını sağlar (Gundersen ve Jensen, 1987; West, 2012).

Stereolojinin tarafsız olmasını sağlayan en önemli yapıtaşlarından biri “Sistematik Rasgele Örnekleme” (SRÖ) stratejisi oluşturmaktadır. SRÖ stratejisi sayesinde, analizlerde istatistiksel olarak en gerçek ve tarafsız verilere ulaşılmasını sağlar. Bu sistemde, dokunun veya yapının her noktasına eşit örnekleme şansı verilerek; ilgili dokudan alınan kesitlerin ya da bir kesitteki incelenen alanlarının önceden yapılan çalışmalarda belirlenmiş aralıklarla, sistematik ve rastgele olarak örnekleme yapılmasını ifade eder (Gundersen ve Jensen, 1987; Turgut ve ark., 2007). Bu stratejideki “sistematiklik” belirlenen bir aralıkla örnekleme yapılmasını, “rastgelelik” ifadesi ise belirlenen örnekleme aralığında rastgele bir başlangıçla örnekleme yapılmasını ifade eder (Gundersen ve ark., 1999; Garcia-Finana ve ark., 2003).

### **2.6.1. Tarafsız Sayım Çerçevesi**

Stereolojide, kesitlere denk gelen partikül izdüşümlerinin sayımı gerçekleştirmek için; kesit üzerinde partiküllerin belli bir alanla sınırlandırılarak sayılmaları gerekmektedir. Bu sınırlandırmanın hangi kurallara göre yapılacağı 1977 yılında Gundersen tarafından geliştirilen “tarafsız sayım çerçevesi” olarak adlandırılan bir sayım çerçeve stratejisi ile belirlenmiştir. Tarafsız sayım çerçevesi günümüzde kullanılan en güvenilir ve en etkin sayım çerçevesi modelidir. Sayım çerçevesi kare veya dikdörtgen yapıda olup bir kalın, devamlı ve düz, (“hariç” veya “yasak” kenarlar) bir de ince ve kesikli (“dahil” kenarlar) çizgilerden oluşmaktadır. Genel olarak sayım kuralları; kesikli kenarlara rastlayan partiküller sayılırken, devamlı kenarlara denk gelen partiküller sayılmazlar. Bu çerçevenin en önemli özelliği, çerçevenin yerleştirildiği görüntü alanının tamamını kaplayacak şekilde olan kalın yasak kenarların uzantıdır ve herhangi bir şekilde kesişen partikül ya da tanecikler de sayıma dahil edilmezler (Mayhew ve Gundersen, 1996). Kesit üzerine yerleştirilen analizde sayım çerçevesinin alanı daha önceden yapılan pilot çalışmalarla belirlenerek uygulanmaktadır (Gundersen ve ark., 1988).

### **2.6.2. Optik Parçalama Yöntemi**

Optik parçalama yöntemi, uygulama kolaylığı sebebiyle, en çok tercih edilen, en pratik ve basit olan yöntemdir. Optik parçalama dokulardan elde edilen kalın kesitlerden toplam partikül veya tanecik sayısının hesaplanmasını sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntemde sadece tanecik sayımında değil, tanecik çapı, yüzey alanı ve

hacim hesaplamaları yapılmaktadır. Rutin histolojik işlemlerden sonra dokuda meydana gelen şişme, büzüşme gibi yapısal ve şekilsel hiçbir şekil değişiminden ve taneciklerin kesit içindeki yöneliminden, büyüklüğünden etkilenmemesi açısından oldukça etkin bir yöntemdir. Yöntemin uygulanmasındaki esas optik disektör ve SRÖ kuralı birlikte uyarlanarak yapılmasıdır. Mantık olarak fiziksel parçalama yönteminden yola çıkarak oluşturulan optik parçalama metodu, fiziksel disektörde ardışık disektör çifti kesitlerinin karşılaştırılması zahmetinden kurtararak tek bir kalın kesit bütünlüğü içinde art arda gelen belli bir örnekleme ölçüsüyle tanecik sayımının yapılmasını sağlar. Kısaca, optik parçalamanın mantığı, basamaklı örneklemeyle elde edilen ve tüm yapıya olan oranı bilinen örnekler üzerinde, optik disektörler ile tanecikleri örneklemeye dayanmaktadır. Optik parçalama yönteminde taneciklerin hesaplanmasında kullanılan formül;

$$N = \sum Q \cdot \frac{1}{ssf} \cdot \frac{1}{asf} \cdot \frac{1}{tsf}$$

“N”, toplam tanecik sayısı, “ΣQ” toplam disektör tanecik sayısını, “ssf” kesit örnekleme oranını, “asf” alan örnekleme oranı, “tsf” kalınlık örnekleme oranını ifade etmektedir.

### 2.6.3. Cavalieri Yöntemi

Hacim değerleri biyolojik çalışmalarda geniş bir yelpazede tutan stereolojik bir yöntemdir. Hacimsel ölçütler birim hacme düşen tanaecik hacmi veya sayısı gibi değerlerin hesaplanması için gerekli olurken, doku büzüşme oranının veya organın toplam hacminin hesaplanması gibi durumlarda da bilinmesi gereken parametredir. Ayrıca cavalieri, organ ya da dokuların hacim değerlerinin hesaplanması veya bu yapıların toplam yapının kaçta kaçını oluşturduğunu anlamak amacıyla kullanılan bir yöntemdir. İlk olarak Cavalieri yöntemi 300 yıl kadar önce İtalyan matematikçi Bonaventura Cavalieri tarafından geliştirilmiştir. Cavalieri yöntemi herhangi bir dokudan belirli örnekleme aralığıyla alınmış paralel iki boyutlu kesitlerden üç boyutlu yapıların hacimlerinin hesaplanması temeline dayanır. Hacim hesabı için öncelikle ilgili yapıların yüzey alanlarının ölçülmesi gerekmektedir. Kesitteki yapıların yüzey alanlarını hesaplamak için bilgisayar destekli görüntü analiz sistemlerinden alınan resimlere ihtiyaç vardır. Hesaplama yapılırken, daha önceki pilot çalışmalarda analizi

yapılacak olan yapıya uygun olarak belirlenmiş ve eşit aralıklarla noktalar bulunan alan ölçüm cetveli kullanılır. Noktalı alan ölçüm cetvelinde eşit aralıklarla bulunan noktanın her biri bir birim alanı temsil eder. Yüzey alanı hesaplanmak istenen kesit görüntüsünün üzerine bu alan ölçüm cetveli rastgele atılarak ya da yansıtılarak alanın üzerine denk düşen noktalar sayılır. Sonrasında kesit görüntüsünün üzerine düşen nokta sayısı birim alan değeri ile çarpılarak yüzey alanı hesaplanmış olur. Bu hesaplama belli bir hata payına sahiptir. Ölçüm cetveline bulunan noktaların sıklığını artırılması ve örnekleme aralığını daraltılması bu hata payı azaltılabilir aynı zamanda gerçek değere daha çok yaklaşılmasını sağlar. Hacmi hesaplanmak istenen yapının aynı yöne bakan her bir kesit yüzeyindeki alanları hesaplandıktan sonra elde edilen değerle kesit kalınlığı ile çarpılır. Son olarak her bir kesitin hacim değerlerinin toplanmasıyla sonuçlar hesaplanır. Bu işlem matematiksel olarak ise şu şekilde ifade edilir;

$$V_{ref} = \sum P_i \times t$$
$$P_i = P(a)$$
$$\sum V = V_1 + V_2 + V_3 + \dots$$

“ $V_{ref}$ ”; İlgili yapının toplam ya da referans hacmini; “ $\sum P_i$ ”, kesit yüzey alanına isabet eden toplam sayısı; “ $P(a)$ ”, noktalı alan cetvelinde bir noktanın temsil ettiği alanı; “ $t$ ” kesit kalınlığını; “ $V$ ” bir ovaryum kesitine ait hacim değerini temsil etmektedir (Gundersen ve Jensen, 1987).

### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamızda sağlıklı 250-300 gr ağırlığında, 12 haftalık 40 adet dişi *Wistar albino* cins sıçanlar kullanıldı. Bu çalışmayı gerçekleştirmek için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (24.11.2017 tarih ve 2017/52 sayılı) onay alındı. Sıçanlar, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve deney süresi boyunca hayvanlar bu merkezde, her kafeste en fazla 8 adet sıçan olacak şekilde barındırıldı. Araştırma süresi boyunca sıçanlar,  $22\pm 2$  °C oda sıcaklığı,  $50\pm 10$  nisbi nem ve 12/12 gece gündüz ışık periyodunda yaşatıldı. Sıçanlar, standart sıçan yemi (Bil-Yem) ile *ad libitum* olarak beslendi ve günlük olarak suları (~50 mL/gün/sıçan) tazelendi.

#### 3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her grupta sekizer hayvan olacak şekilde gruplar oluşturulmuş ve hayvan sayısı power analiz testi yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

##### 1. Grup: Kontrol grubu (Kont) (n=8)

Bu gruptaki hayvanlar herhangi bir işleme tabi tutulmadı. Deney süresi boyunca standart sıçan yemi (Bil-Yem) ile *ad libitum* olarak beslendi ve suları (~50 mL/gün/sıçan) günlük olarak tazelendi.

##### 2. Grup: Sham (n=8)

Bu gruptaki hayvanlara 21 gün boyunca her gün aynı saatte (09:30 – 10:30) oral yoldan gavajla 1 mL mısır yağı verildi. Hayvanlarda gavaj uygulamasının oluşturduğu stres faktörünü ölçmek için bu grup oluşturulmuştur. Deney süresi boyunca hayvanlar standart sıçan yemi (Bil-Yem) ile *ad libitum* olarak beslendi ve suları (~50 mL/gün/sıçan) günlük olarak tazelendi.

##### 3. Grup: Hipertiroidi grubu (Hipert) (n=8)

Bu gruptaki hayvanlara 21 gün boyunca her gün aynı saatte (09:30-10:30) 0,3 mg/kg/gün i.p. L-tiroksin (Sigma Chemical Co., Dorset, UK) verildi (n:8) (Atici ve ark., 2017). Deney süresi boyunca hayvanlar standart sıçan yemi (Bil-Yem) ile *ad libitum* olarak beslendi ve suları (~50 mL/gün/sıçan) günlük olarak tazelendi.

#### **4. Grup: Hipertiroidi+vitamin E grubu (Hipert+Vit E) (n=8)**

Bu gruptaki hayvanlara 21 gün boyunca her gün aynı saatte (09:30-10:30) 0,3 mg/kg/gün i.p. L-tiroksin (Sigma Chemical Co., Dorset, UK) ve oral yoldan gavajla mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg/gün/1 mL E vitamini (Sigma-258024) verildi (Kaya, 2014). Deney süresi boyunca hayvanlar standart sıçan yemi (Bil-Yem) ile *ad libitum* olarak beslendi ve suları (~50 ml/gün/sıçan) günlük olarak tazelendi.

#### **5. Grup: E vitamin grubu (Vit E) (n=8)**

Bu gruptaki hayvanlara 21 gün boyunca her gün aynı saatte (09:30-10:30) gavajla mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg/gün/ 1mL E vitamini verildi. Deney süresi boyunca hayvanlar standart sıçan yemi (Bil-Yem) ile *ad libitum* olarak beslendi ve suları (~50 ml/gün/sıçan) günlük olarak tazelendi.

Deneye başlamadan önce tüm hayvanların ağırlıkları ölçüldü. Yirmibir günlük deney sonunda tüm hayvanların ağırlıkları yeniden ölçüldü. Deneyin 16. gününde Hipert grubundan iki hayvan, 18. gününde ise Hipert+Vit E grubundan bir hayvan öldü. Yirmibir gün süren deney sonunda bir gece önceden aç bırakılan sıçanların kuyruk veninden alınan kan örnekleri glikometre (G1 300 Plus MED) striptine damlatılarak açlık kan glikoz değerleri ölçüldü (Ali ve Agha, 2009). Deneysel işlemlerin ardından sıçanlar ketamin ve ksilazin (90/10 mg/kg) anestezisi altında transkardiak yolla perfüzyon yapıldıktan sonra ovaryum dokuları çıkarıldı. Çıkarılan ovaryum dokularının ağırlıkları hiçbir işleme tabi tutulmadan önce hassas terazi ile ölçüldü.

#### **Hipertiroid Modelinin Oluşturulması**

Hipertiroid modelinin oluşturulması için L-tiroksin (Sigma Chemical Co., Dorset, UK) öncelikle 0,01 N NaOH'de, sonrasında %0,9 NaCl içerisinde çözdürülerek 0,3 mg/kg/gün dozunda çözeltisi elde edildi. Hazırlanan stok solüsyon +4°C'de muhafaza edildi (Baltacı ve Mogulkoc, 2017).

### **3.2. Histolojik Yöntemler**

#### **3.2.1. Perfüzyon**

Yirmi birinci günün sonunda, çalışmadaki tüm hayvanlar perfüzyondan 12 saat önce aç bırakıldı ve perfüzyon işlemi için tüm hayvanlar intraperitoneal yolla ketamin



(Ketalar®, Pfizer, İstanbul) ve ksilazin (90/10 mg/kg) (Citanest®, Astra Zeneca, İstanbul) uygulaması ile genel anestezi altına alındı.

Anestezikler uygulandıktan sonra ucu çengelli bir pensle hayvanların kol, bacak ve kuyruk refleksleri kontrol edildi. Sıçanların derin anesteziye girdiklerinden emin olduktan sonra perfüzyon işlemine başlandı. Sırt üstü yatırılarak ızgara üzerine sabitlenen hayvanların sternumun alt kısmından önce deri, daha sonra kas tabakasından girilerek göğüs kafesi açıldı. Kalp kanı pompalamaya devam ederken biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere sağ atriyumdan yaklaşık 1 mL kan alındı. Sonrasında plastik kanül ile sol ventrikül apeksinden girildi ve bir mikro makas yardımı ile sağ atriyum çapraz bir şekilde kesildi. Plastik kanülle kanın vücuttan uzaklaşmasını sağlamak için %0,9'lük serum fizyolojik verildi. Vücuttan kan tamamen uzaklaştıktan sonra tamponlanmış %4 lük paraformaldehit ve %2 lik glutraldehit karışımı verilerek dokuların tespiti sağlandı. Bu uygulamaya hayvanların vücutu sertleşip, alt ve üst ekstremiteler beyazlaşıp, ekstremitelerdeki tetanik kasılmalar tamamlana kadar devam edildi. Tüm gruptaki sıçanlardan alınan ovaryum dokularına kod numaraları verildi, daha sonra dokular içinde %4'lük paraformaldehit ve %2 lik glutraldehit bulunan şişelere konuldu. 15 günlük post-fiksasyon işleminden sonra sırası ile aşağıda belirtilen doku takip işlemleri uygulandı.

### **3.2.2. Işık Mikroskopik İşlemler**

#### **3.2.2.1. Doku Takip İşlemi**

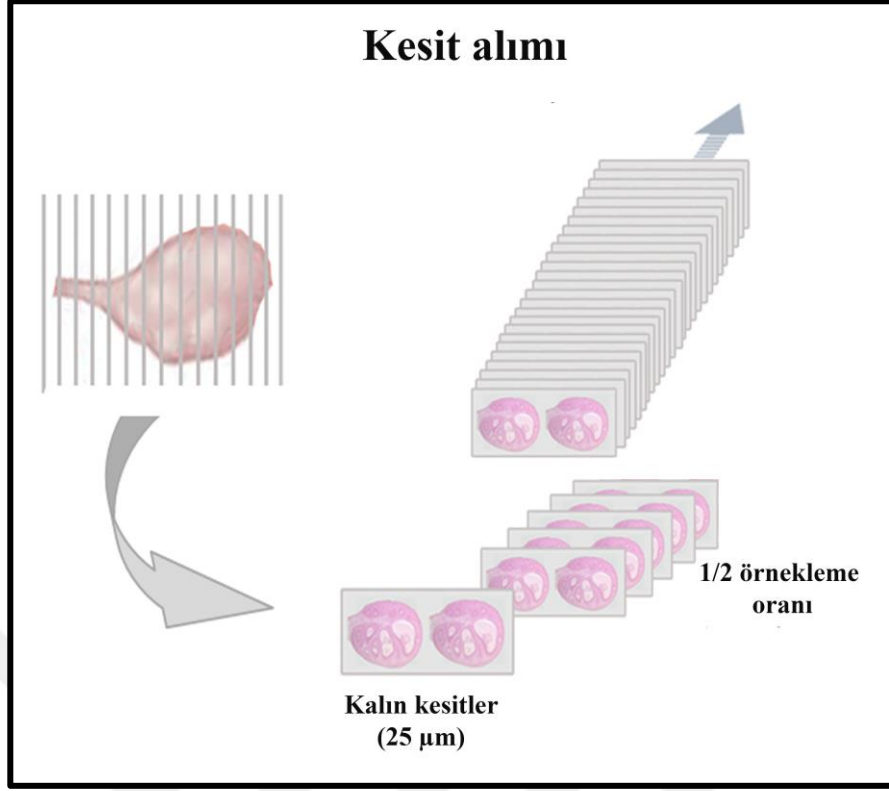
Tüm gruptaki sıçanlardan alınan ovaryum dokuları bir haftalık post-fiksasyon işleminden sonra sırası ile aşağıda belirtilen doku takip işlemlerine tabi tutuldu. (Tablo 2). Post-fiksasyon işleminden sonra ovaryumlar küçük kasetlere konuldu, paraformaldehit-glutraldehit karışımını uzaklaştırmak için dokular 12 saat boyunca akarsuda yıkandı. Sonrasında ışık mikroskopik analizleri gerçekleştirmek için rutin doku takip işlemleri yapıldı. Takip işleminde kullanılan kimyasallar [(alkol (Merck), ksilen (Merck) ve boncuk parafin (Merck)] ve bekleme süreleri Tablo 2'de verilmiştir. Takip işleminin ardından L biçimli bloklama demirleri kullanılarak ovaryumların parafin blokları hazırlandı. Analizlerin kör olarak yapılabilmesi için dokuların her birine kod numaraları verildi.

**Tablo 2.** Ovaryum dokularının takibinde kullanılan kimyasallar ve süreleri

<b>Kimyasallar</b>	<b>Bekleme Süreleri</b>
%70'lik alkol	1 saat
%80'lik alkol	1 saat
%96'lik alkol	1 saat
%96'lik alkol	1 saat
%100'lük alkol	1 saat
%100'lük alkol	1 saat
Ksilen	10 dakika
Ksilen	10 dakika
Ksilen+boncuk parafin	10 dakika
Boncuk parafin	1 saat
Boncuk parafin	1 saat

### **3.2.2.2. Kesit Alımı**

Rutin doku takibi yapılarak parafine gömülen ovaryum bloklarından çelik bıçaklar kullanılarak rotary mikrotom (Leica RM2125RT) ile 25 µm kalınlığında kesitler 1/2 örnekleme oranı ile alındı. Lam üzerinde 25 µm kalınlığında kesitler alındıktan sonra rastgele ilk kesit seçildikten sonra kesitler ½ oranında örnekleme yapılarak ortalama 20-30 kesit elde edildi. Kesitlerin boyama işlemi sırasında lam üzerinden dökülmemesi için ayrı bir beherde sıcak suya %5'lik toz jelatin (100 ml saf suda 5 gr jelatinin çözündürülmesi ile) ilave edilerek sıcak su havuzunda karıştırıldı. Kesitlerdeki parafinin uzaklaştırılması ve lama daha sıkı yapışmasını sağlamak amacıyla kesitler daha önceden ısısı 60 °C'ye ayarlanmış etüve konuldu. Elde edilen kalın kesitler (25 µm) stereolojik analizlerin yapılması için hematoksilin-eozin metodu ile boyandı (Tablo 3) (Şekil 3).



**Şekil 3.** Sistematik rastgele örnekleme kuralına göre kesitlerin alımı (Yurt ve ark., 2018' den uyarlanmıştır)

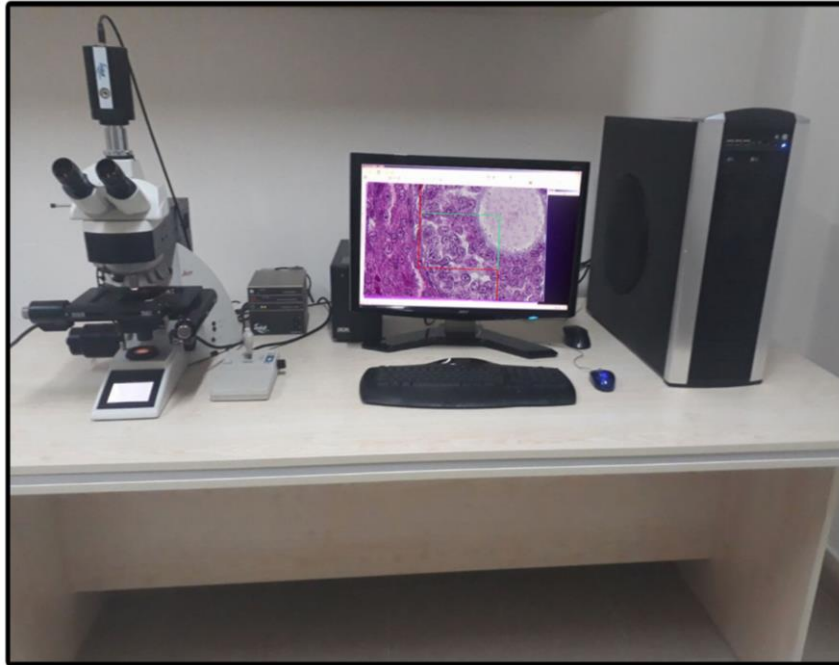
**Tablo 3.** Kesitlerin boyanmasında kullanılan kimyasallar ve süreleri

<b>Kullanılan Kimyasallar</b>	<b>Süreleri</b>
Ksilen (x4)	30 dakika
%100'lük alkol (x2)	10 dakika
%96'lık alkol	10 dakika
%80'lik alkol	10 dakika
%70'lik alkol	10 dakika
Akarsuda yıkama	5 dakika
Hemotoksilen	45 saniye
Akarsuda yıkama	5 dakika
Eozin	10 saniye
%70'lik alkol	5 dakika
%80'lik alkol	5 dakika
%100'lük alkol	5 dakika
Ksilen (x2)	30 dakika
Entellan (Sigma)	Kapama

### 3.3. Stereolojik Analizler

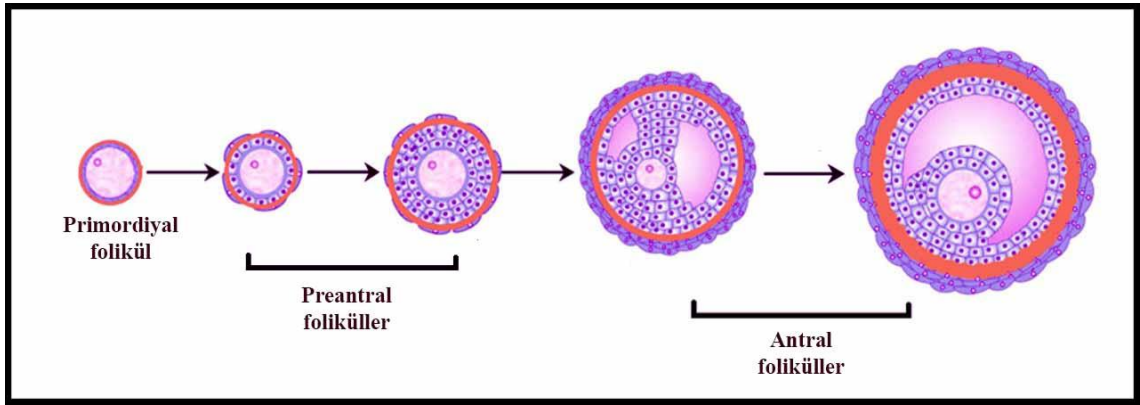
#### 3.3.1. Optik Parçalama Yöntemi ile Folikül Sayılarının Hesaplanması

Stereolojik analizlerin folikül sayımı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Stereoinvestigator 9.0 (Microbrightfield Biosciences, Williston, VT, USA) yazılımı ile donatılmış stereoloji çalışma istasyonunda gerçekleştirildi (Şekil 4). Diğer analizler ise Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yer alan dijital renkli kamera eklentili (Leica Digital Microscope 4000, Wetzlar; Almanya) ışık mikroskopunda çekilen görüntüler üzerinde gerçekleştirildi. Analiz sırasında ovaryum foliküllerinin sınıflandırılması klasik folikül sınıflandırılması göz önüne alınarak yapıldı (Pedersen ve Peters, 1968). Bu sınıflandırmada, granüloza hücrelerinin şekli ve hücre katman sayısı göz önüne alınmıştır. Buna göre tek katlı yassı folikül hücreleriyle çevrili oosit primordiyal folikül olarak; tek veya çok katlı granüloza hücreleriyle çevrili olan oosit preantral folikül olarak; oositi çok katlı kübik granüloza hücreleriyle çevrili, granülozum hücreleri arasında yer yer boşlukların oluşmaya başladığı ve antrumu olan, etrafında belirgin bir teka tabakası bulunan yapı ise antral folikül olarak kabul edilmiştir (Şekil 5).

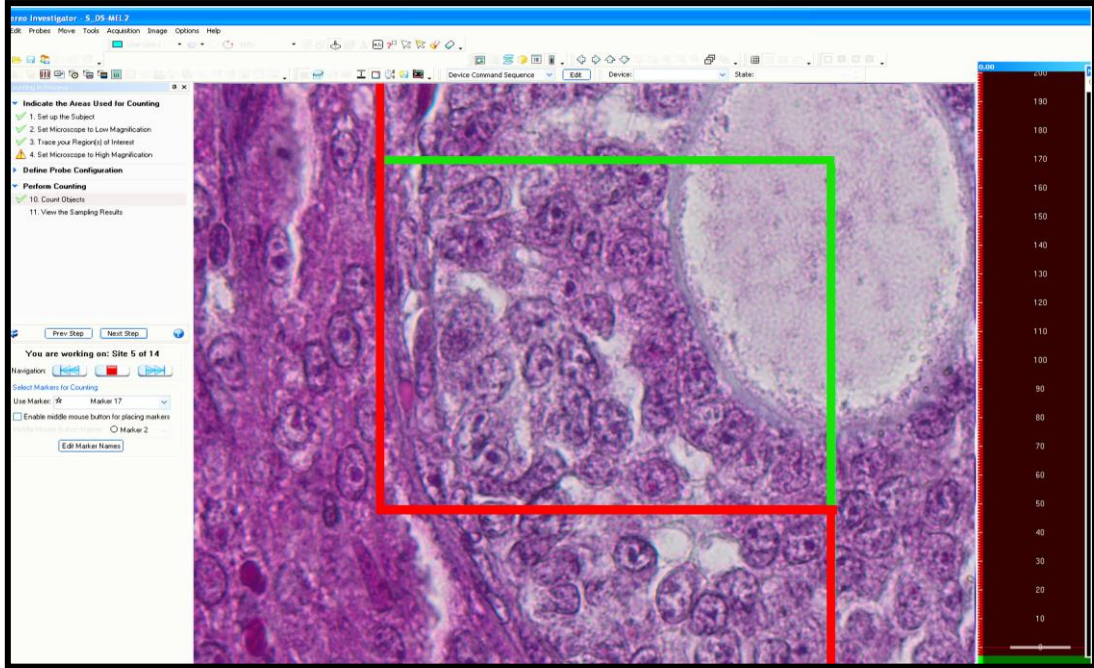


Şekil 4. Stereoloji analiz sistemi

Ovaryum foliküllerinin sayımı stereoloji analiz sisteminde, optik parçalama yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Burada sayım oositin içerisindeki çekirdekçik esas alınmıştır. Ovaryum kesitlerinde foliküllerin sayımında kullanılacak parametreler ve örnekleme aralığı, daha öncesinde yapılan bir pilot çalışma ile belirlendi. Pilot çalışma doğrultusunda, sayım çerçevesi alanı  $6400 \mu\text{m}^2$ , adım aralığı  $40,000 \mu\text{m}^2$  ve alan örnekleme oranı  $6400 \mu\text{m}^2/40,000 \mu\text{m}^2$ , güvenlik aralığı ise üst  $3 \mu\text{m}$ , disektör yüksekliği  $10 \mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 5. Ovaryum foliküllerinin sınıflandırılması (Salustri ve ark., 2018'dan uyarlanmıştır)



Şekil 6. Ovaryumda folikül sayısı analizlerinde kullanılan optik parçalama yöntemi

### **3.3.2. Hacim Hesabı**

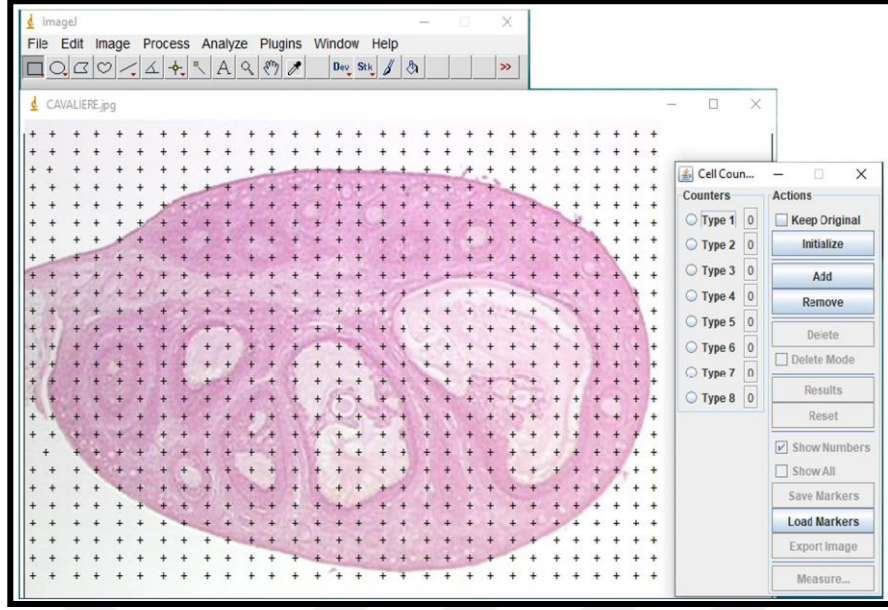
Tüm gruplara ait ovaryum dokularından  $\frac{1}{2}$  oranında SRÖ kuralına göre alınan kesitlerden  $\frac{1}{4}$  oranında tekrar bir kesit örnekleme ile yapıldı. Kesitler üzerinde Cavalieri yöntemine uygun olarak; korteks, medulla, preantral follikül, antral folikül, korpus luteum, bağ doku ve damar hacimleri hesaplandı.

#### **Korteks ve Medulla Hacim Hesaplanması**

Korteks ve medulla hacim hesaplamaları için kesitlere ait tüm görüntüler, 4'lük objektifte dijital renkli kamera eklentili (Leica Digital Microscope 4000, Wetzlar; Almanya) ışık mikroskobu ile bilgisayar ekranına yansıtılarak fotoğraflandı. Önceden yapılan bir pilot çalışma ile noktalı alan cetvelinde her bir noktanın birim alanı  $10,000 \mu\text{m}^2$  olacak şekilde belirlendi. Image J (Image Processing and Analysis in JAVA, NIH, USA) programında kesit görüntüleri üzerine noktalı alan ölçüm cetveli yerleştirildi. Korteks ve medulla bölgelerine denk gelen nokta sayısı sayılarak hacim değerleri hesaplandı.

#### **Preantral Folikül, Antral Folikül, Korpus Luteum, Bağ Doku, Damar Hacim Hesaplamaları**

SRÖ kuralına uygun olarak alınan kesitlere ait tüm görüntüler 20'lik objektifte dijital renkli kamera eklentili (Leica Digital Microscope 4000, Wetzlar; Almanya) ışık mikroskobu ile bilgisayar ekranına yansıtılarak fotoğraflandı. Resimler çekilirken  $\frac{1}{5}$  oranında alan örnekleme yapıldı. Nokta sayım yöntemi ile dokulardan alınan kesit görüntüleri üzerine rastgele yerleştirilen noktalı alan ölçüm cetvelindeki nokta sayısı Image J (Image Processing and Analysis in JAVA, NIH, USA) programında sayılmıştır. Her bir noktanın birim alanı  $9000 \mu\text{m}^2$ 'yi ifade edecek şekilde ayarlandı (Şekil 7).



Şekil 7. Hacimsel analizlerde kullanılan Image J programı

Nokta sayım cetvelindeki nokta yoğunluğu, uygun bir hata katsayısı (HK) ve değişim katsayısı (DK) elde edilecek şekilde tasarlandı (Deniz ve ark., 2017) Kesitlere ait ekran görüntüleri üzerine yerleştirilen noktalı alan ölçüm cetvelinde, ilgili alanlara denk gelen toplam grid test noktaları sayıldıktan sonra hacim değerlerini hesaplamak için aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

$$V_{ref} = \sum P_i \times t$$

$$P_i = P(a)$$

$$\sum V = V_1 + V_2 + V_3 + \dots$$

“ $V_{ref}$ ”; ilgili yapının toplam ya da referans hacmi; “ $\sum P_i$ ”, kesit yüzey alanına isabet eden toplam nokta sayısını; “ $P(a)$ ”, noktalı alan cetvelinde bir noktanın temsil ettiği alanı; “ $t$ ” ortalama kesit kalınlığını; “ $V$ ” bir ovaryum kesitine ait hacim değerini temsil etmektedir (Gundersen ve Jensen, 1987). Tüm kesitler için aynı formül uygulandıktan sonra hacim değerleri toplanarak tek bir ovaryuma ait toplam hacim değeri hesaplandı.



### **3.4. Elektron Mikroskopik İşlemler**

Yirmibir günlük deney aşamasının sonunda çıkarılan sol ovaryum dokularına kod numaraları verilerek içinde %2'lik gluteraldehit bulunan şişelere konuldu. On beş günlük post-fiksasyon işleminden sonra elektron mikroskopik incelemeler için ovaryum dokularının diseksiyonları binoküler stereo mikroskop altında yapıldı ve sonrasında aşağıda belirtilen doku takip işlemleri uygulandı.

#### **3.4.1. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) Analizler için Doku**

##### **Takibi**

##### **Takip Öncesi Hazırlanması Gereken Solüsyonlar**

##### **Osmiyum Tetraoksit Solusyonun Hazırlanması**

Osmiyum tetraoksitin ( $\text{OsO}_4$ ), 100 mg'lık kapsülünün sıvı hale gelmesi için sıcak su dolu behere koyuldu. Çepere yayma işlemi tamamlandıktan sonra bu kapsül koyu renkli cam şişe içerisine atıldı ve cam şişe içinde çalkalanarak kırıldı. Sonrasında üzerine 5 mL distile su ve 5 mL 0,2 M'lik fosfat tamponu eklenerek sonuçta 100 mg'lık kapsülden 10 cc %1'lik  $\text{OsO}_4$  elde edildi.

##### **Araldit Hazırlama**

Araldit CY 212'den 10 mL, DDSA'dan 10 mL, BDMA'dan 0,4 mL ve dibutilfolat'dan 0,8 mL steril bir kaba eklenerek 15 dk boyunca hiç durmadan sürekli karıştırıldı ve karıştırma işlemi bittikten sonra karanlıkta muhafaza edildi.

##### **Takip Prosedürü**

Tamponlu gluteraldehit içinde  $1 \text{ mm}^3$  boyutunda hazırlanmış ovaryum doku parçaları buzdolabında fikse edildikten sonra 0,1 M fosfat tamponu ile 4 kez 15'er dk yıkandı. Tamponlu solüsyon ile yıkamanın ardından %1'lik  $\text{OsO}_4$  içerisinde 1,5 saat karanlık ortamda bekletildi. Ardından tekrar 0,1 M fosfat tamponu ile 4 kez 15'er dk yıkandıktan sonra dehidratasyon işlemine geçildi. Dehidratasyon için %50, %75, %95 aseton serilerinde 15'er dk, %100'lük astetonda ise 40 dk bekletildi. İnfiltrasyon aşamasında öncelikle 2 kez 20'şer dk propilen oksitte, sonrasında 1 kısım propilen oksit ve 1 kısım hazırlanmış araldit karışımında 1 saat bekletildi. Ardından saf aralditte 1 saat bekletilerek dokular araldit dolu kapsüllere alındı. Santralizasyon (desikatörde bir gece bekletme) işleminden sonra dokular sırasıyla 45-50-55-60 °C'lik etüvde 30'ar dk



bekletildi. 62-63°C’de 48 saat bekletildikten sonra dokular etüvden çıkarıldı. Takip işlemi sonrasında histopatolojik değerlendirmeler için dokulardan ultramikrotom (Leica EM, UC7) ile 500 nm kalınlığında yarı ince kesitler lamlara alınarak toluidin mavisi ile boyandı. Aynı zamanda 70 nm kalınlığında ince kesitler ise 300 mesh’lik gridlere alındı ve uranil asetat/kurşun sitrat ile kontrastlama yapılarak boyandı. Elde edilen ince kesitlerden geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile elektron mikroskobik görüntüler çekildi (Jeol JSM-7001F).

### **3.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobik (SEM) Analizler için Doku Takibi**

Gluteraldehitte (%2’lik) 15 günlük post-fiksasyon işleminden sonra dokular 4 kez 15’er dk fosfat tamponlu solüsyon ile yıkandı. Sonrasında sırasıyla %25-50-75’lik aseton serilerinde 10’ar dk, %100’lük asetonda ise 30 dk bekletildi. Dokularda bulunan aseton ve etanol gibi sıvıların yerinin sıvı CO<sub>2</sub> ile değiştirilmesini sağlamak amacıyla kurutma işlemi yapıldı. Kurutma işlemi, Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde (TAUM) gerçekleştirildi. Daha sonra ovaryum doku yüzeylerinin görüntülenebilmesi için elektron yansıtıcı bir madde olan altın-paladyum ile kaplandı. Elde edilen dokulardan SEM elektron mikroskobik görüntüleri çekildi (Jeol JSM-7001F). Elektron mikroskobik takip ve görüntüleme işlemleri için gerekli olan aletler Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde (KİTAM) bulunmaktadır.

### **3.5. Biyokimyasal Analizler**

Her bir hayvana ait 1 mL kan örnekleri, sağ atriyumdan enjektör yardımıyla alınarak EDTA’lı tüplere konuldu. Sonrasında kan örnekleri 2000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilerek -20 °C’de buzdolabında muhafaza edildi. Tüm biyokimyasal analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda yapılmıştır.

#### **3.5.1. TSH ve ST4 Hormon Analizi**

T4 ve T3 hormonları kanda proteinlere (tiroksin bağlayan globülin, tiroksin bağlayan prealbumin ve albümin) bağlanarak dolaşırlar ve bu hormonlara “total T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> (TT<sub>3</sub> ve TT<sub>4</sub>)” hormonları denir. Kanda daha düşük oranda bulunan ve hiçbir proteine bağlanmadan serbest olarak dolaşan tiroid hormonlarına ise “serbest T<sub>3</sub>ve T<sub>4</sub> (ST<sub>3</sub> ve ST<sub>4</sub>)” hormonları denir (Oppenheimer, 1968). Çeşitli hastalıklar, ilaçlar, gebelik

gibi fizyolojik durumlar tiroid hormonlarını bağlayan proteinlerin miktarlarını değiştirebilir veya bu hormonların proteinlere bağlanmalarını önleyebilirler. Bu nedenle kan örneklerinde TT<sub>3</sub> ve TT<sub>4</sub> düzeylerini ölçmek yanıltıcı olabilir ve bunun yerine ST<sub>4</sub> ve ST<sub>3</sub> hormon düzeylerini ölçmek daha güvenilir sonuçların elde edilmesini sağlar (Sapin ve Schlienger, 2003). Hipertiroidi durumunda kanda ST<sub>3</sub> ve ST<sub>4</sub> hormonları yüksek miktarda bulunurken, TSH hormon miktarı normal değer altına iner (Brabant ve ark., 2006). Tiroid fonksiyon değerlendirmesi için genellikle ilk önce TSH test edilir, TSH'nin referans aralığının dışında kalması durumunda ST<sub>4</sub>'ün değerlendirilmesi de yapılır, ancak çoğu araştırmacı başlangıçta hem TSH hem de ST<sub>4</sub>'ün analiz edilmesini önerir (Schneider ve ark., 2018). Bu nedenle çalışmamızda kullanılan hayvanlarda hipertiroidi durumunu göstermek için TSH (Katalog no:201-11-0181) ve ST<sub>4</sub> Sunredbio (Katalog no: 201-11-0736) ölçüm kitlerini kullandık. Bunun için deneye başlamadan önce kitin içinde yer alan solüsyonlar hazırlandı. Serum örneklerinin absorbans değerlerinin ölçümleri 450 nm'de spektrofotometre cihazı (Sunrise<sup>TM</sup>, Tecan Trading AG, Mannedorf, İsviçre) kullanılarak hesaplandı.

### **3.5.2. FSH ve LH Hormon Analizi**

FSH ve LH hormonları hipofiz ön bezinden salgılanan glikoprotein yapısındaki hormonlardır. FSH ve LH hormonları kadınlarda yumurtalıkları uyararak cinsel fonksiyonların ve üremenin devamını sağlamaktadırlar (Ross, 2006). Çalışmamızda, hipertiroidinin dışı genital sisteminde infertilite doğrudan değil de hipofiz-ovaryum aksı üzerinden etki ederek gerçekleştirildiğini göstermek için FSH (Katalog no:201-11-0449) ve LH (Katalog no:201-11-0180) ELISA Sunredbio ölçüm kitlerini kullandık. Bunun için deneye başlamadan önce kitin içinde yer alan solüsyonlar hazırlandı. Bunun için deneye başlamadan önce kitin içinde yer alan solüsyonlar hazırlandı. Serum örneklerinin absorbans değerlerinin ölçümleri 450 nm'de spektrofotometre cihazı (Sunrise<sup>TM</sup>, Tecan Trading AG, Mannedorf, İsviçre) kullanılarak hesaplandı.

### **3.5.3. Katalaz**

Diğer antioksidan enzimler gibi CAT da eritrositler, böbrek hücreleri ve hepatosit gibi hücrelerde ve bitkilerde bulunur. CAT, fakültatif anaerobların ve aerobik bakterilerin çoğunda keşfedilen ancak anaeroblarda bulunmayan hücre içi bir enzimdir. CAT; yaşlanma, katarakt, kanser, beslenme yetersizliği, ateroskleroz gibi patolojik

bozukluklara eşlik eden ROS düzeylerini azaltmaktadır. CAT, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren reaksiyonu katalize eder (Day ve ark., 2000; Olson ve ark., 2017). Bu enzim peroksidaz aktivitesini *in vivo* olarak katalizler ve ROS'un neden olduğu oksidatif hasara karşı hücrenin korunmasında çok önemli bir enzimdir. Ayrıca formaldehit, formik asit, fenoller, asetaldehit ve alkoller hariç olmak üzere birçok peroksit ve toksinlerin hidrojen peroksitle oksidasyon reaksiyonunu katalize edebilir (Lanir ve Schejter, 1975; Van Lente ve Pepoy, 1990). Çeşitli gıdalarda mikrobiyal popülasyonların yayılması nedeniyle, klinik patoloji, biyoteknoloji ve uygulamalı mikrobiyoloji alanlarında katalaz aktivitesini değerlendirmek için etkin yöntemlerin geliştirilmesinde önemli ilerleme kaydedilmiştir (Switala ve Loewen, 2002). Biz de çalışmamızda CAT enzim aktivitesini göstermek için CAT (Cayman, Chemical Company, ABD) ölçüm kitini kullandık. Bunun için deneye başlamadan önce kitin içinde yer alan solüsyonlar hazırlandı. Serum örneklerinin absorbans değerlerinin ölçümleri 450 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazı (Sunrise™, Tecan Trading AG, Mannedorf, İsviçre) kullanılarak hesaplandı.

#### **3.5.4. Süperoksit Dismutaz**

SOD enzimleri, süperoksit radikalının  $H_2O_2$  ve  $O_2$  ayrışmasını katalize eder ve sonuç olarak süperoksit radikal toksisitesine karşı önemli bir savunma mekanizması sunar. SOD tüm canlı hücrelerde bulunan bir enzimdir ve ayrıca vücuttaki bazı kimyasal reaksiyonları hızlandırmaktadır (Giese ve ark., 2000; Fang ve ark., 2002). Süperoksit,  $O_2$  metabolizmasının bir sonucu olarak yan ürün olarak üretilir ve bu da hücrelerde çok çeşitli hasara yol açar. İnsanlarda üç adet SOD formu görülebilir; sitoplazmada SOD1, mitokondride SOD2 ve hücre dışı ortamada SOD3 bulunur. SOD, mevcut süperoksit radikallerini etkisiz hale getirir, ayrıca hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden korur (Fang ve ark., 2002). SOD birçok patolojik bozukluklardan kaynaklanan ROS seviyelerini azaltan ve en fazla bulunan enzimatik antioksidandır (Vendemiale ve ark., 1999). Çalışmamızda SOD enzim düzeyini göstermek için SOD (Bioassay, Shanghai, China Kat.No: E0168Ra) ölçüm kiti kullanıldı. Bunun için deneye başlamadan önce kitin içinde yer alan solüsyonlar hazırlandı. Serum örneklerinin absorbans değerlerinin ölçümleri 540 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazı (Sunrise™, Tecan Trading AG, Mannedorf, İsviçre) kullanılarak hesaplandı.

### **Gonadosomatik İndeksin Hesaplanması**

Gonadosomatik indeks (GSI), hayvanların ovaryumlarındaki Graafian folikülün üretim ve olgunlaşma durumunu gösteren bir indekstir. Deney sonunda hayvanlar sakrifiye edildikten sonra ovaryum dokuları çevresindeki yağ dokusu uzaklaştırılarak elektronik hassas terazide tartıldı. GSI değeri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Nath ve ark., 2015).

$$GSI = \frac{GA}{TA} \times 100$$

“GA”; sağ ve sol ovaryum ağırlığı toplamı, “TA”; toplam vücut ağırlığı

### **3.7. İstatistiksel Analiz**

Çalışmada gruplara ait elde ettiğimiz sayısal veriler SPSS programı (SPSS sürüm 21,0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Kullanılan veriler, ortalama±standart hata olarak ifade edildi. Gruplara ait verilerin normallik (Shapiro-Wilk) ve homojenlik testleri sonucunda tüm grupların normal dağılım gösterdiği saptandı. Gruplar arasındaki farklılıklar One-Way ANOVA, Tukey testleri ile değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmamızda deneysel olarak indüklenen hipertiroidi modelinin, dişi bireylerde meydana getirdiği infertiliteyi ve aynı zamanda hipertiroidinin olası olumsuz etkilerine karşı güçlü bir antioksidan olduğu bilinen E vitamininin koruyucu etkisini araştırmak amacıyla biyokimyasal, stereolojik ve histopatolojik değerlendirmeler yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

### 4.1. Stereolojik Bulgular

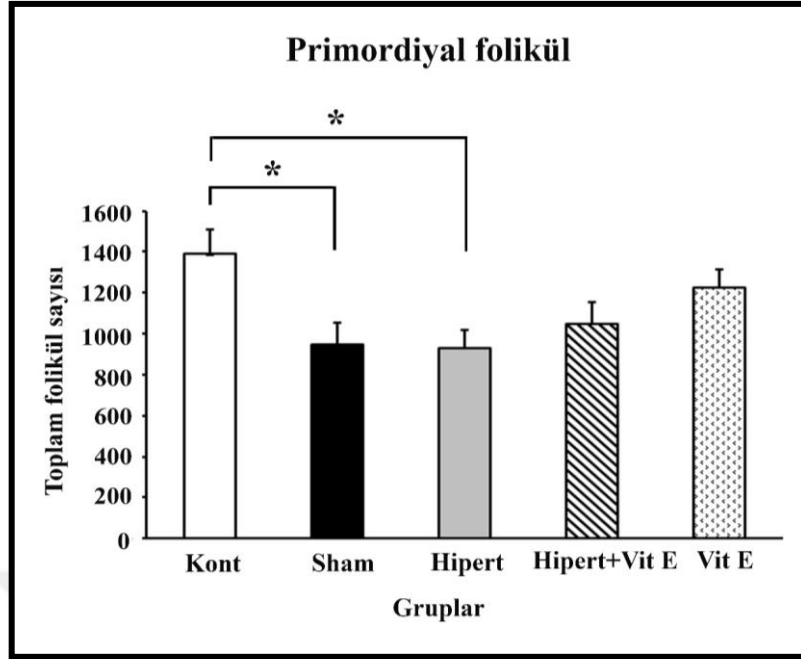
#### 4.1.1. Optik Parçalama Yöntemi ile Elde Edilen Bulgular

##### Primordiyal Folikül Sayım Sonuçları

Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam primordiyal folikül sayılarının optik parçalama yöntemiyle değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, hata katsayısı (HK) ve değişim katsayısı (DK) değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 4; Şekil 8).

**Tablo 4.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam primordiyal folikül sayısı (Ortalama  $\pm$  standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Primordiyal folikül sayısı (Ortalama $\pm$ standart hata)	HK	DK
Kont	1375,37 $\pm$ 99,88	0,17	0,21
Sham	944,81 $\pm$ 112,42	0,24	0,33
Hipert	930,76 $\pm$ 86,54	0,19	0,20
Hipert+Vit E	955,28 $\pm$ 128,76	0,21	0,24
Vit E	1224,97 $\pm$ 87,09	0,21	0,18



**Şekil 8.** Deney modeli oluşturulduktan sonra toplam primordiyal folikül sayısının gruplar arasındaki farklılıkları grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile gösterilmiştir

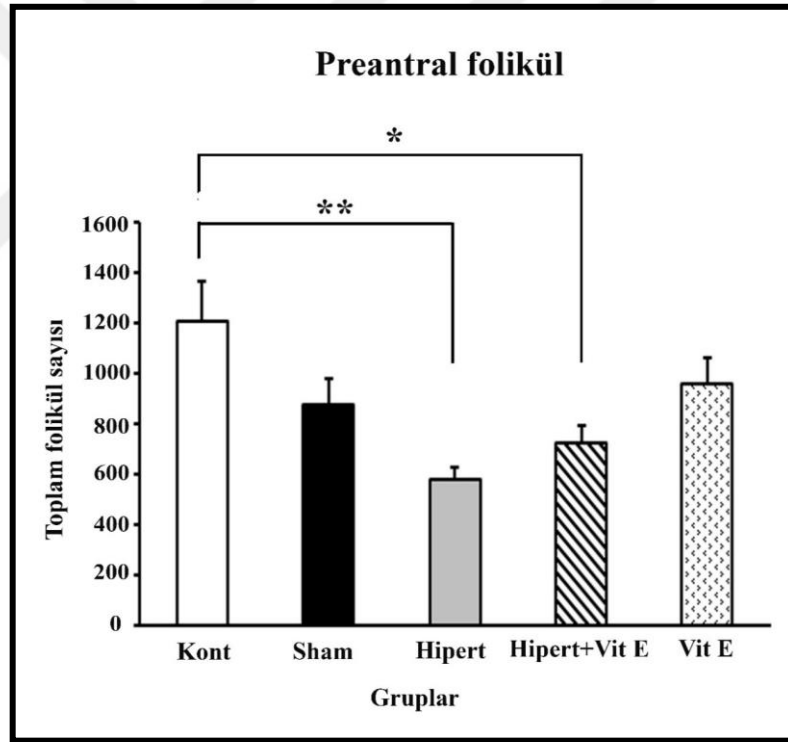
Tüm gruplardaki toplam primordiyal folikül sayılarının stereolojik analizlerinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; Kont grubuna göre Hipert ve Sham gruplarında primordiyal folikül sayısının anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Hipert grubuna göre Hipert+Vit E grubunda primordiyal folikül sayısı arasında anlamlı bir artışın olmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ). Hipert+Vit E, Vit E gruplarındaki primordiyal folikül sayıları Kont grubuna göre fark göstermemiştir ( $p > 0,05$ ).

### **Preantral Folikül Sayım Sonuçları**

Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam preantral folikül sayılarının optik parçalama yöntemiyle değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 5; Şekil 9).

**Tablo 5.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam preantral folikül sayısı (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Preantral folikül sayısı (Ortalama±standart hata)	HK	DK
Kont	1205,07 ± 160,43	0,17	0,32
Sham	874,82 ± 102,06	0,24	0,30
Hipert	578,84 ± 47,64	0,22	0,18
Hipert+Vit E	726,63 ± 68,86	0,21	0,18
Vit E	963,05 ± 97,02	0,25	0,26



**Şekil 9.** Deney modeli oluşturulduktan sonra toplam preantral folikül sayısının gruplar arasındaki farklılıkları grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

Tüm gruplardaki toplam preantral folikül sayılarının stereolojik analizlerinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucu; Kont grubuna göre Hipert

grubunda preantral folikül sayısının önemli derecede azaldığı gözlenmiştir ( $p<0,01$ ). Benzer şekilde, Hipert+Vit E grubundaki preantral folikül sayısının Kont grubuna göre anlamlı derece azaldığı saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Hipert+Vit E grubundaki preantral folikül sayısı Hipert grubunun aynı tip folikül sayısı ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farkın olmadığı gözlendi ( $p>0,05$ ). Benzer durum, Kont ile Sham grubu toplam preantral folikül sayıları bakımından karşılaştırıldığında farkın olmadığı gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Vit E grubu diğer tüm gruplarla kıyaslandığında toplam preantral folikül sayısı bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

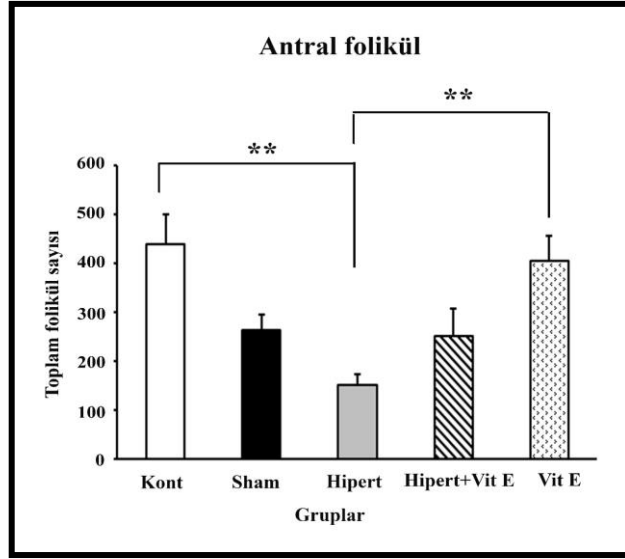
### Antral Folikül Sayım Sonuçları

Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam antral folikül sayılarının optik parçalama yöntemiyle değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 6; Şekil 10).

**Tablo 6.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam antral folikül sayısı (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Antral folikül sayısı (Ortalama±standart hata)	HK	DK
<b>Kont</b>	437,94 ± 61,47	0,26	0,34
<b>Sham</b>	262,62 ± 32,25	0,42	0,32
<b>Hipert</b>	152,55 ± 19,88	0,42	0,28
<b>Hipert+Vit E</b>	252,80 ± 53,89	0,36	0,33
<b>Vit E</b>	405,39 ± 51,13	0,25	0,26





**Şekil 10.** Deney modeli oluşturulduktan sonra toplam antral folikül sayısının gruplar arasındaki farklılıkları grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*\*” ile gösterilmiştir

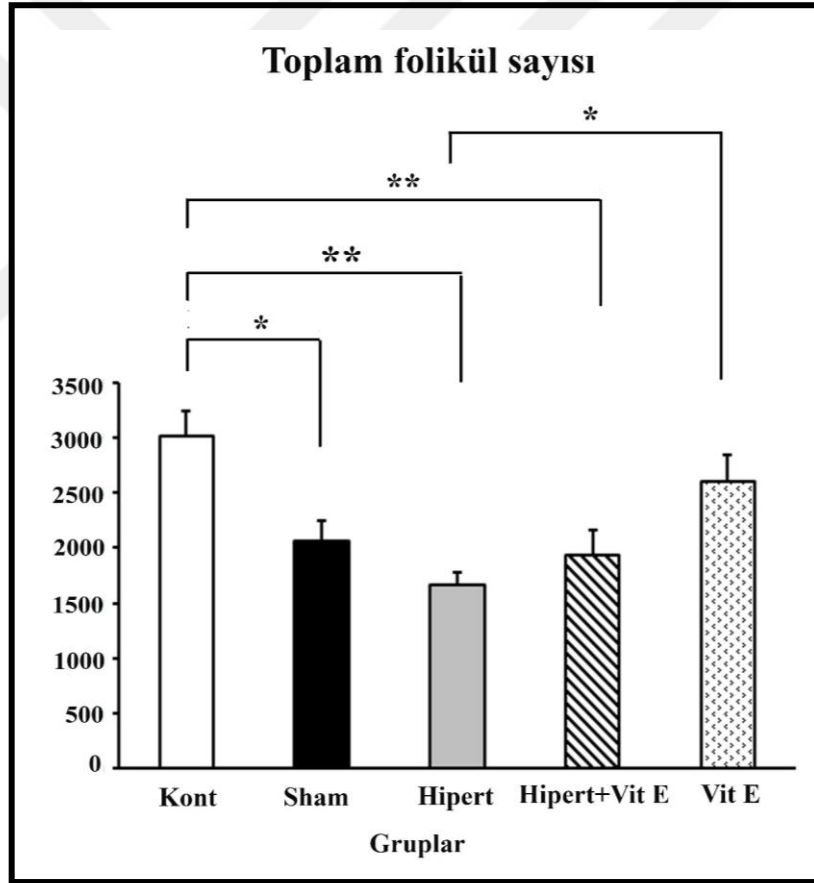
Tüm gruplardaki toplam antral folikül sayılarının stereolojik analizlerinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucu; Hipert grubunda Kont ve Vit E gruplarına göre antral folikül sayısının önemli derece azaldığı gözlenmiştir ( $p < 0,01$ ). Ayrıca, Sham grubundaki antral folikül sayısı Kont grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ). Hipert+Vit E grubu diğer gruplarla kıyaslandığında antral folikül sayılarında anlamlı derecede değişiklik saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ). Benzer şekilde, Kont grubu ile Sham grubundaki antral folikül sayıları karşılaştırıldığında anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ).

### **Toplam Folikül Sayım Sonuçları**

Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki primordiyal, preantral ve antral folikül sayılarının toplanmasıyla elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 7; Şekil 11).

**Tablo 7.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki toplam antral folikül sayısı (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Toplam folikül sayısı (Ortalama ± standart hata)	HK	DK
Kont	3018,39 ± 226,64	0,11	0,18
Sham	2056,23 ± 193,93	0,15	0,24
Hipert	1662,16 ± 109,36	0,14	0,14
Hipert+Vit E	1934,72 ± 223,99	0,13	0,21
Vit E	2606,20 ± 234,36	0,32	0,33



**Şekil 11.** Deney modeli oluşturulduktan sonra toplam folikül sayısının gruplar arasındaki farklılıkları grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

Tüm gruplardaki toplam folikül sayılarının stereolojik analizlerinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucu; Kont grubuna göre Sham grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Toplam folikül sayısı hem Hipert grubu hem de Hipert+Vit E grubunda Kont grubuna göre istatistiksel olarak ileri derece azaldığı gözlenmiştir ( $p<0,01$ ). Aynı zamanda, Vit E grubu ile Hipert grubu kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak ileri düzeyde farklılık saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Vit E grubu diğer gruplarla (Kont, Sham ve Hipert+Vit E) kıyaslandığında toplam folikül sayılarında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir değişiklik bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

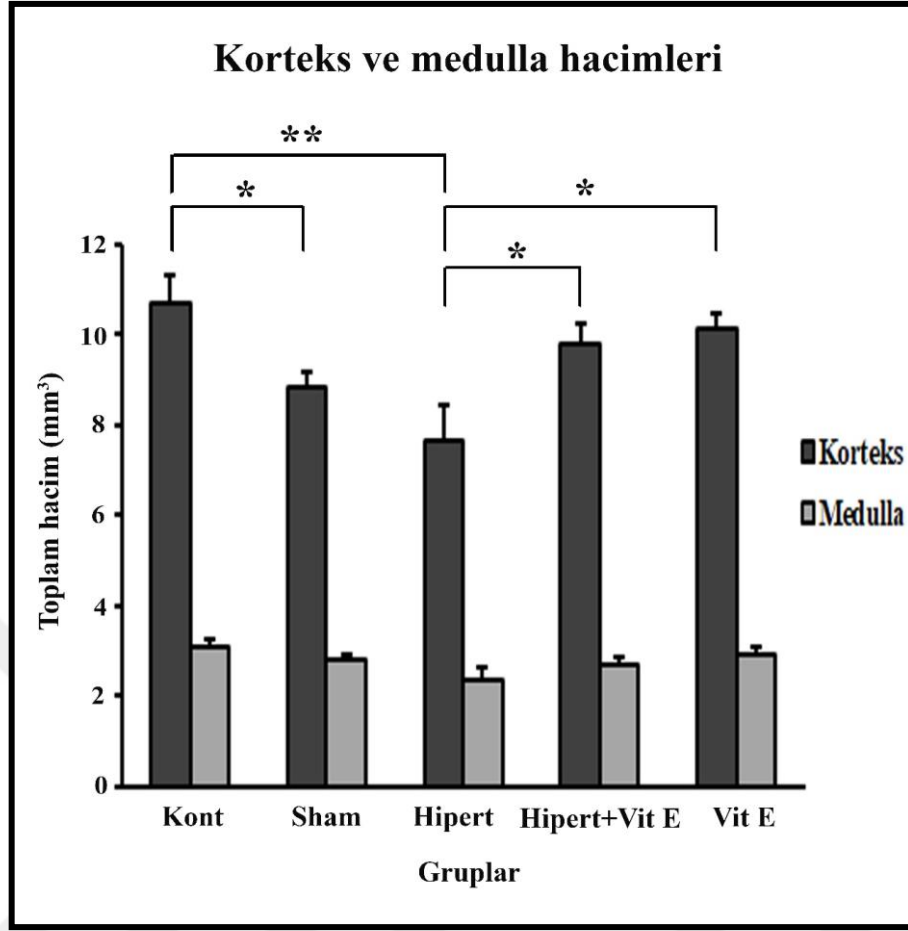
#### 4.1.2. Hacimsel Sonuçlar

##### Korteks ve Medulla Hacim Sonuçları

Tüm gruplara ait ovaryum dokularında korteks ve medulla hacimlerinin Cavalieri yöntemiyle değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 8; Şekil 12).

**Tablo 8.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularında korteks ve medulla hacim (Ortalama  $\pm$  standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Korteks hacmi (mm <sup>3</sup> ) (Ortalama $\pm$ standart hata)	HK	DK	Medulla hacmi (mm <sup>3</sup> ) (Ortalama $\pm$ standart hata)	HK	DK
<b>Kont</b>	10,71 $\pm$ 0,57	0,007	0,13	3,08 $\pm$ 0,16	0,011	0,13
<b>Sham</b>	8,85 $\pm$ 0,32	0,006	0,09	2,83 $\pm$ 0,08	0,013	0,09
<b>Hipert</b>	7,66 $\pm$ 0,80	0,006	0,23	2,34 $\pm$ 0,28	0,011	0,22
<b>Hipert+Vit E</b>	9,81 $\pm$ 0,46	0,005	0,11	2,69 $\pm$ 0,18	0,012	0,11
<b>Vit E</b>	10,15 $\pm$ 0,33	0,005	0,06	2,91 $\pm$ 0,18	0,011	0,06



**Şekil 12.** Tüm gruplara ait korteks ve medulla hacim değerleri grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

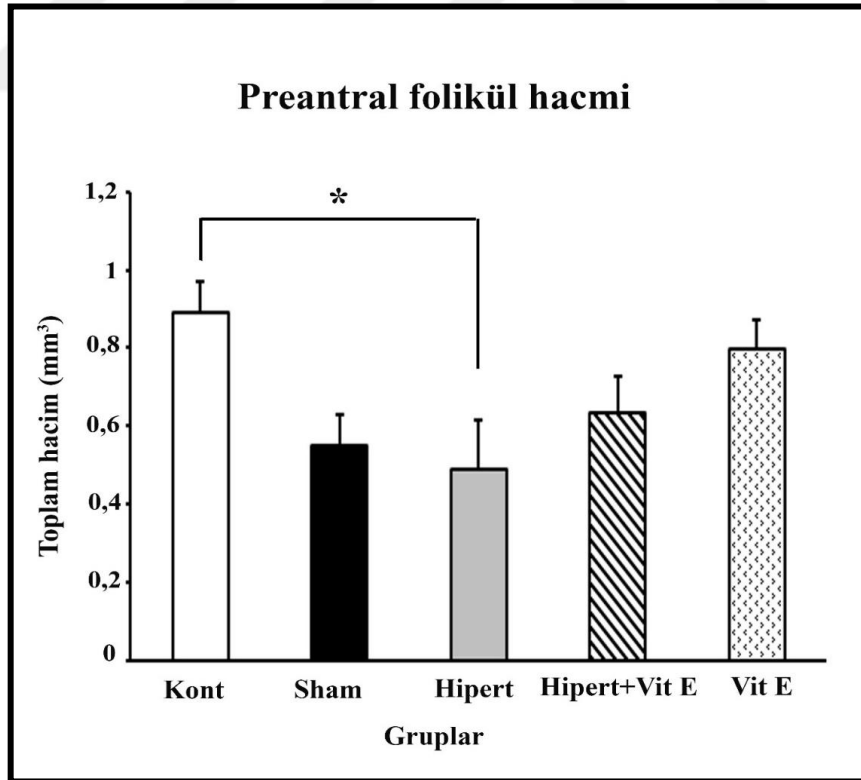
Çalışmamıza ait tüm gruplardaki ovaryum dokularında Cavalieri yöntemiyle hesaplanan korteks hacimlerinin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; korteks hacmi bakımından Hipert grubunda Kont grubuna göre istatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde azalma gözlenirken; benzer şekilde, Sham grubunda Kont grubuna göre istatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde azalma saptanmıştır. Hipert+Vit E grubunda Hipert grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Benzer şekilde, Hipert grubunda korteks hacminin Vit E grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Vit E grubu, Kont ve Sham gruplarıyla kıyaslandığında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ). Tüm gruplar medulla hacim değerleri bakımından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı düzeyde bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

### Preantral Folikül Hacim Sonuçları

Tüm gruplara ait ovaryum dokularında preantral folikül hacimlerinin Cavalieri yöntemiyle değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 9; Şekil 13).

**Tablo 9.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularında preantral folikül hacim (Ortalama  $\pm$  standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Preantral folikül hacim değerleri (mm <sup>3</sup> ) (Ortalama $\pm$ standart hata)	HK	DK
Kont	0,89 $\pm$ 0,079	0,02	0,15
Sham	0,54 $\pm$ 0,080	0,03	0,25
Hipert	0,49 $\pm$ 0,123	0,04	0,32
Hipert+Vit E	0,63 $\pm$ 0,093	0,02	0,21
Vit E	0,79 $\pm$ 0,075	0,03	0,23



**Şekil 13.** Tüm gruplara ait preantral folikül hacim değerleri grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile gösterilmiştir

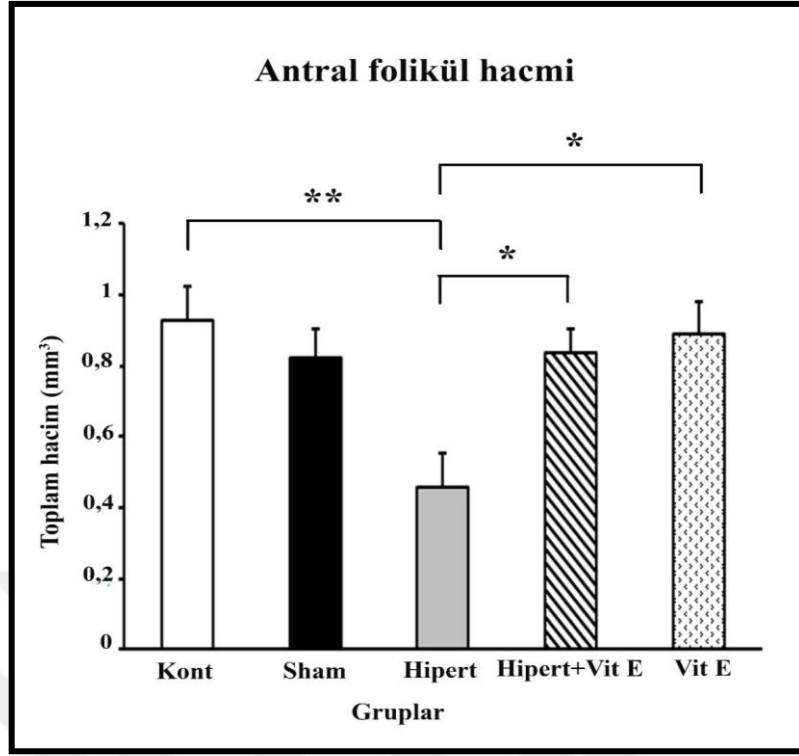
Çalışmamıza ait tüm gruplarda Cavalieri yöntemiyle hesaplanan preantral foliküllerin hacimsel analizlerinin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; Kont grubuna göre Hipert grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). Kont grubu ile diğer gruplar (Sham ve Hipert+Vit E) kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Preantral folikül hacimleri bakımından karşılaştırıldığında Hipert+Vit E grubu ile Hipert grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Vit E grubu diğer tüm gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

### Antral Folikül Hacim Sonuçları

Gruplara ait ovaryum dokularında antral folikül hacimlerinin Cavalieri yöntemi ile değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 10; Şekil 14).

**Tablo 10.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki antral folikül hacim (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Antral folikül hacim değerleri (mm <sup>3</sup> ) (Ortalama±standart hata)	HK	DK
Kont	0,92 ± 0,094	0,03	0,18
Sham	0,82 ± 0,079	0,03	0,20
Hipert	0,45 ± 0,095	0,04	0,31
Hipert+Vit E	0,83 ± 0,068	0,03	0,22
Vit E	0,88 ± 0,093	0,02	0,21



**Şekil 14.** Tüm gruplara ait antral folikül hacim değerleri grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

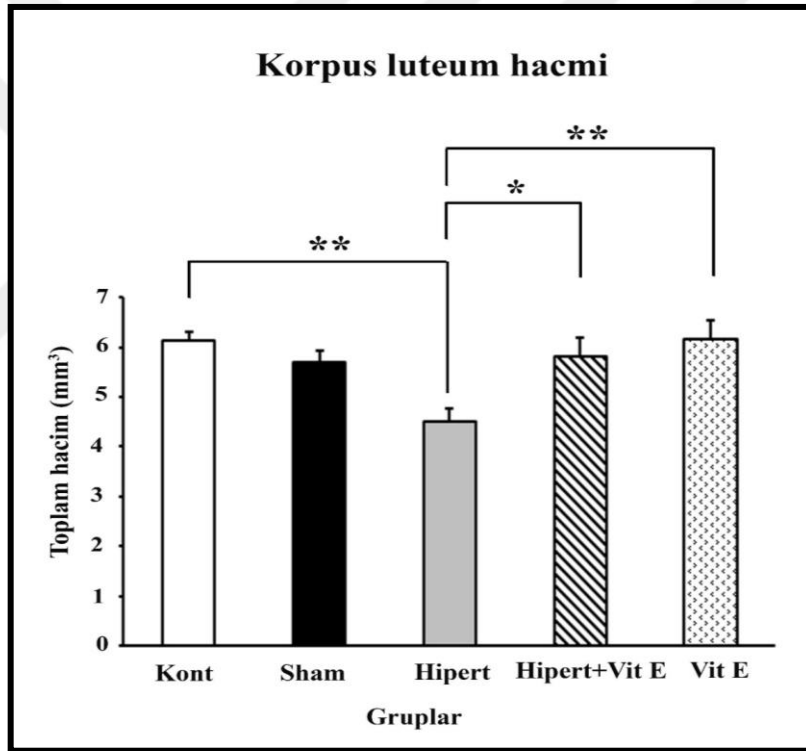
Çalışmamıza ait tüm gruplardaki ovaryum dokuları üzerinde Cavalieri yöntemiyle hesaplanan antral foliküllerin hacimsel analizlerinin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; Hipert grubunda Kont grubuna göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir azalma görülmüştür ( $p < 0,01$ ). Benzer durum, Hipert grubu ile Vit E grubu karşılaştırıldığında gözlenmektedir ( $p < 0,05$ ). Hipert+Vit E grubu, Hipert grubu ile kıyaslandığında antral folikül hacimlerinin istatistiksel olarak arttığı saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Kont ve Sham grupları, Vit E grubuyla kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

### **Korpus Luteum Hacim Sonuçları**

Gruplara ait ovaryum dokularında korpus luteum hacimlerinin Cavalieri yöntemiyle değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 11; Şekil 15).

**Tablo 11.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki korpus luteum hacim (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Korpus luteum hacim değerleri (mm <sup>3</sup> ) (Ortalama±standart hata)	HK	DK
Kont	6,14 ± 0,162	0,008	0,06
Sham	5,63 ± 0,230	0,009	0,11
Hipert	4,51 ± 0,267	0,011	0,11
Hipert+Vit E	5,84 ± 0,359	0,013	0,16
Vit E	6,18 ± 0,357	0,009	0,15



**Şekil 15.** Tüm gruplara ait korpus luteum hacim değerleri grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak p<0,05 düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile; p<0,01 düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

Çalışmamıza ait tüm gruplardaki ovaryum dokularında Cavalieri yöntemiyle hesaplanan korpus luteumların hacimsel analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; Hipert grubunun, Kont ve Vit E gruplarına göre istatistiksel olarak p<0,01 düzeyinde azalma gösterdiği, ayrıca Hipert grubunun korpus luteum



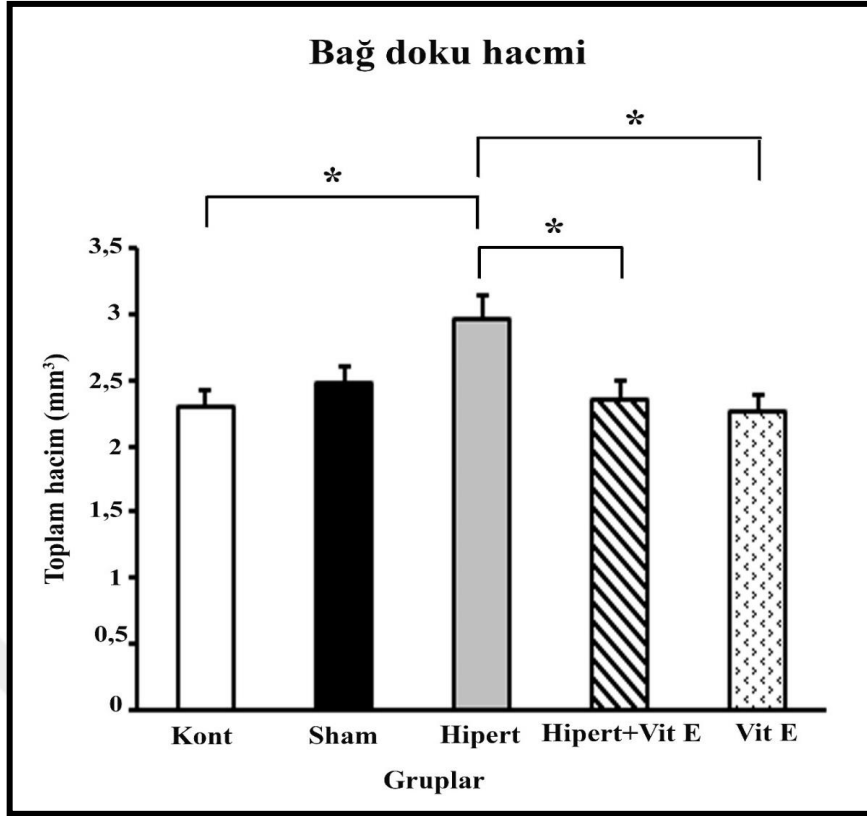
hacmi Hipert+Vit E grubuna göre önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Kont ve Sham grupları, Vit E grubuyla kıyaslandığında ise korpus luteum hacimleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

### **Bağ Doku Hacim Sonuçları**

Gruplara ait ovaryum dokularında bağ doku hacimlerinin Cavalieri yöntemiyle değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 12; Şekil 16).

**Tablo 12.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularında bağ doku hacim (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>Bağ doku hacim değerleri (mm<sup>3</sup>) (Ortalama±standart hata)</b>	<b>HK</b>	<b>DK</b>
<b>Kont</b>	2,30 ± 0,122	0,01	0,13
<b>Sham</b>	2,46 ± 0,128	0,01	0,15
<b>Hipert</b>	2,96 ± 0,178	0,02	0,13
<b>Hipert+Vit E</b>	2,35 ± 0,142	0,01	0,15
<b>Vit E</b>	2,26 ± 0,127	0,01	0,16



**Şekil 16.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki bağ doku hacim değerleri grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar "\*" ile gösterilmiştir

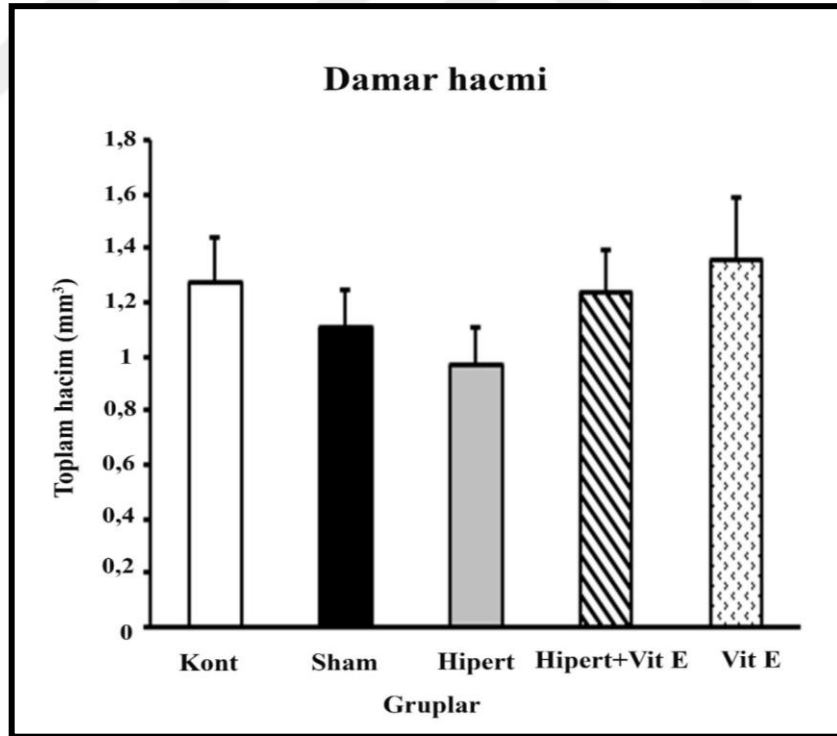
Çalışmamıza ait tüm gruplardaki ovaryum dokularının Cavalieri yöntemiyle hesaplanan bağ dokusu hacim analizleri değerlendirildiğinde; Hipert grubunda Kont, Hipert + Vit E ve Vit E gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Kont ve Sham grupları, Vit E grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

### Damar Hacim Sonuçları

Gruplara ait ovaryum dokularında damar hacimlerinin Cavalieri yöntemiyle değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 13; Şekil 17).

**Tablo 13.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularında damar hacmi (Ortalama±standart hata), HK ve DK değerleri

Gruplar	Damar hacim değerleri (mm <sup>3</sup> ) (Ortalama±standart hata)	HK	DK
Kont	1,27 ± 0,17	0,02	0,30
Sham	1,10 ± 0,14	0,02	0,35
Hipert	0,96 ± 0,14	0,04	0,30
Hipert+Vit E	1,24 ± 0,15	0,02	0,27
Vit E	1,36 ± 0,22	0,02	0,27



**Şekil 17.** Tüm gruplara ait ovaryum dokularındaki damar hacimleri grafikte verilmiştir

Çalışmamıza ait tüm gruplardaki ovaryum dokuları üzerinde Cavalieri yöntemiyle hesaplanan damar hacmi analizlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda gruplar arasında bir fark olmadığı gözlenmiştir ( $p>0,05$ ).

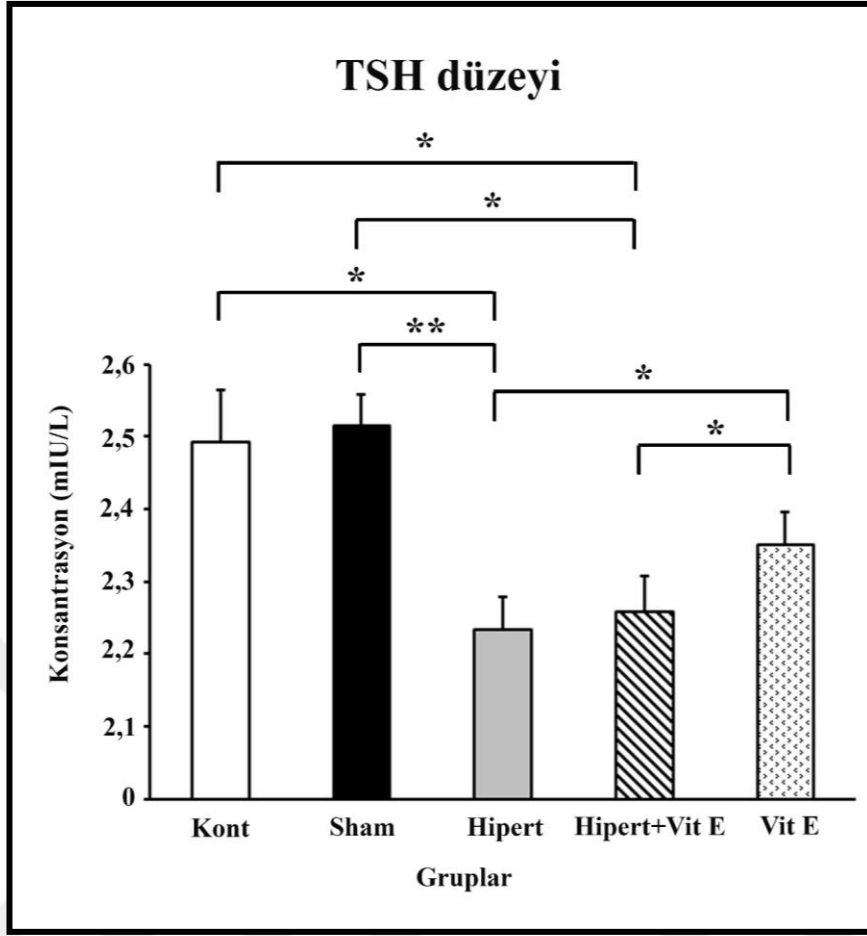
## 4.2. Biyokimya Sonuçları

### 4.2.1. TSH Hormon Tayini

Çalışmamızda tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde TSH hormon değerleri ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 14, Şekil 18).

**Tablo 14.** Tüm gruplara ait TSH hormon miktarı (mIU/L (450 nm)); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	TSH hormon miktarı (mIU/L) (Ortalama±standart hata)
Kont	2,42 ± 0,07
Sham	2,51 ± 0,04
Hipert	2,23 ± 0,04
Hipert+Vit E	2,25 ± 0,04
Vit E	2,35 ± 0,35



**Şekil 18.** Tüm gruplara ait TSH değerlerinin gösterildiği grafik. İstatistiksel olarak  $p<0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

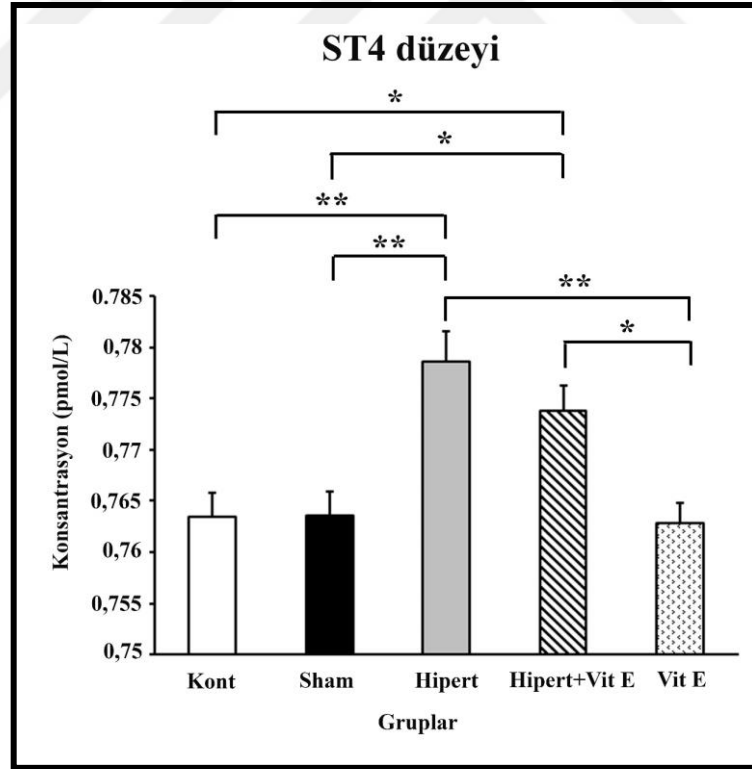
Gruplara ait hayvanlardan alınan kan serum örneklerinde TSH hormon düzeyleri karşılaştırıldığında; Hipert grubunda, TSH düzeyinin Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ( $p<0,01$ ). Benzer şekilde, Hipert grubuna ait TSH değerlerinin Kont ve Vit E gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptandı ( $p<0,05$ ). Buna karşın Kont grubu, Sham ve Vit E gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan herhangi bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ). TSH değerlerinin Hipert+Vit E grubunda, Kont, Sham ve Vit E gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı bulundu ( $p<0,05$ ). Ayrıca, Hipert grubu ile Hipert+Vit E grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

#### 4.2.2. ST4 Hormon Tayini

Çalışmamızda tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde ST4 hormon düzeyleri ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 15, Şekil 19).

**Tablo 15.** Tüm gruplara ait ST4 hormon miktarı (pmol/L (450 nm)); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	ST4 hormon miktarı (pmol/L) (Ortalama±standart hata)
Kont	0,763± 0,002
Sham	0,763±0,002
Hipert	0,778± 0,003
Hipert+Vit E	0,773± 0,002
Vit E	0,764± 0,001



**Şekil 19.** Tüm gruplara ait ST4 hormon değerlerinin gösterildiği grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*\*\*” ile gösterilmiştir

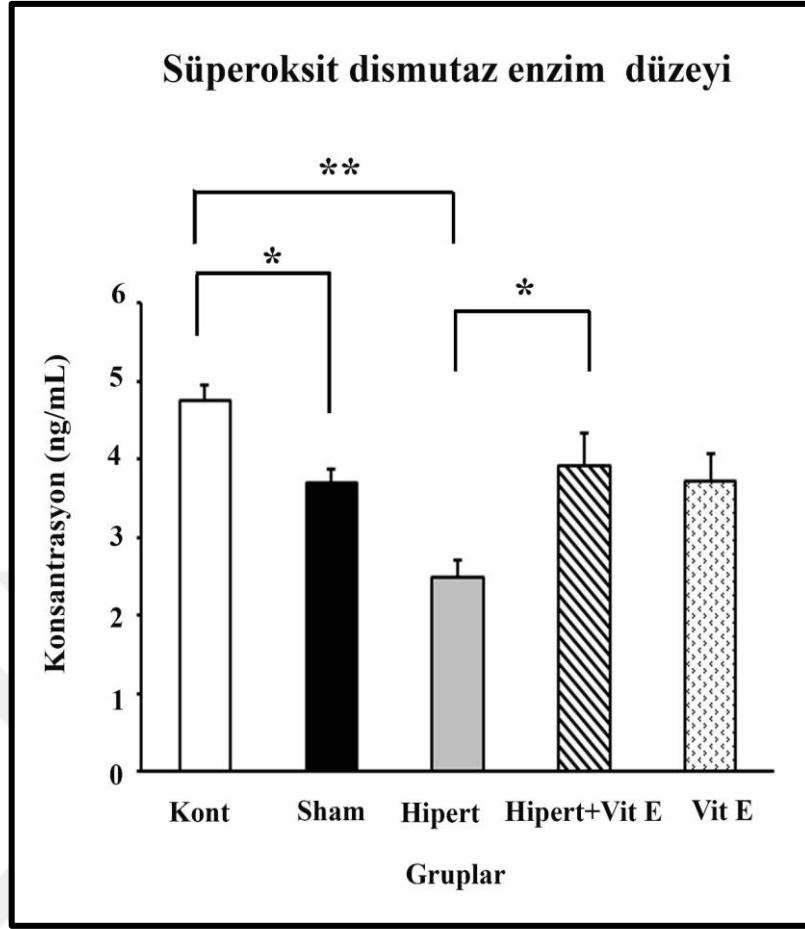
Gruplara ait ST4 hormon değerleri karşılaştırıldığında; Hipert grubunda ST4 hormon düzeyinin Kont, Sham ve Vit E gruplarına kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı artış gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Bunun aksine Kont grubu, Sham ve Vit E gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan herhangi bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Hipert+Vit E grubunun ST4 değerleri, Kont, Sham ve Vit E gruplarının değerleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir artış gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Buna karşın, Hipert grubunun ST4 değerleri ile Hipert+Vit E grubunun değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

#### 4.2.3. Grupların Ortalama Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyi

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde SOD enzimi düzeyleri llmştr. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 16, Şekil 20).

**Tablo 16.** Tüm gruplara ait SOD enzim düzeyi (ng/mL (540 nm)); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	SOD enzim düzeyi (ng/mL) (Ortalama±standart hata)
Kont	4,75 ± 0,19
Sham	3,70 ± 0,18
Hipert	2,48 ± 0,22
Hipert+Vit E	3,91 ± 0,42
Vit E	3,71 ± 0,35



**Şekil 20.** Tüm gruplara ait SOD enzim düzeylerinin gösterildiği grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

Gruplara ait SOD enzim düzeyleri değerlendirildiğinde; Hipert grubunun SOD enzim düzeyi ile Kont grubunun SOD enzim düzeyi karşılaştırıldığında ileri derecede azalma gösterdiği tespit edilmiştir ( $p < 0,01$ ). Kont grubuna göre Sham grubunda SOD enzim düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Hipert+Vit E grubunun SOD enzim düzeyi, Hipert grubunun SOD enzim düzeyi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdiği saptandı ( $p < 0,05$ ). Buna karşın, Kont ve Sham grubu SOD enzim düzeyleri, Vit E grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ( $p > 0,05$ ).

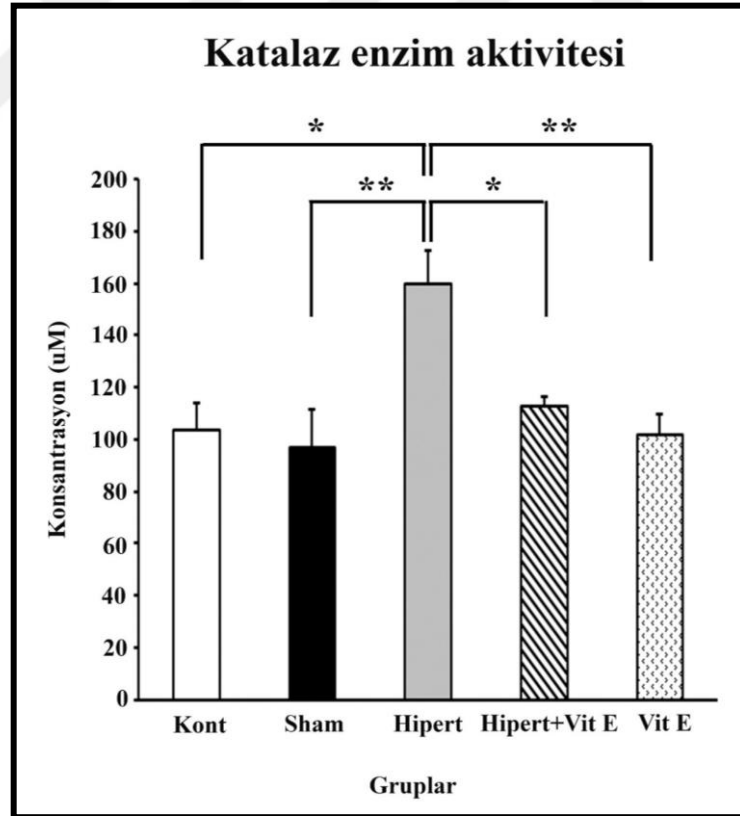


#### 4.2.4. Grupların Ortalama Katalaz Enzim Aktivitesi

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde CAT enzim aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 17, Şekil 21).

**Tablo 17.** Tüm gruplara ait CAT enzim aktivite (uM (450 nm)); Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	CAT enzim aktivitesi (uM) (Ortalama±standart hata)
Kont	103,64 ± 10,60
Sham	96,67 ± 15,06
Hipert	159,72 ± 12,64
Hipert+Vit E	112,56 ± 3,90
Vit E	102,10 ± 7,79



**Şekil 21.** Tüm gruplara ait CAT enzim aktivitesi gösterildiği grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar "\*" ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise "\*\*\*" ile gösterilmiştir

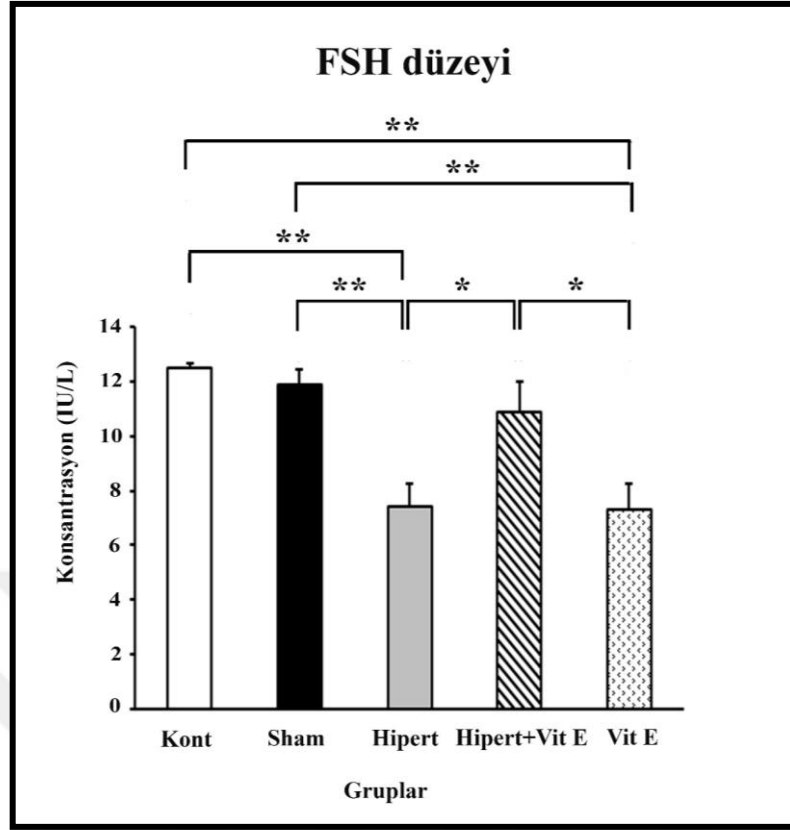
Gruplara ait CAT enzim aktivitesi değerlendirildiğinde; Hipert grubunun CAT enzim aktivitesi ile Kont grubunun enzim aktivitesi karşılaştırıldığında anlamlı derecede artış gösterdiği saptandı ( $p<0,05$ ). Benzer şekilde, Hipert grubuna ait değerlerin Hipert+Vit E grubuna göre önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edildi ( $p<0,05$ ). Ayrıca, Hipert grubunun CAT enzim aktivitesi, Sham ve Vit E gruplarına göre ileri derecede artış gösterdiği saptandı ( $p\leq 0,01$ ).

#### 4.2.5. Grupların Ortalama FSH Hormon Düzeyleri

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde FSH hormon miktarları ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tabloda ve grafikte sunulmuştur (Tablo 18, Şekil 22).

**Tablo 18.** Tüm gruplara ait FSH hormon (IU/L (450 nm)); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	FSH hormon değerleri (IU/L) (Ortalama±standart hata)
Kont	103,64 ± 0,19
Sham	96,67 ± 0,54
Hipert	159,72 ± 0,84
Hipert+Vit E	112,56 ± 1,13
Vit E	102,10 ± 0,92



**Şekil 22.** Tüm gruplara ait FSH değerlerinin gösterildiği grafik. İstatistiksel olarak  $p<0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

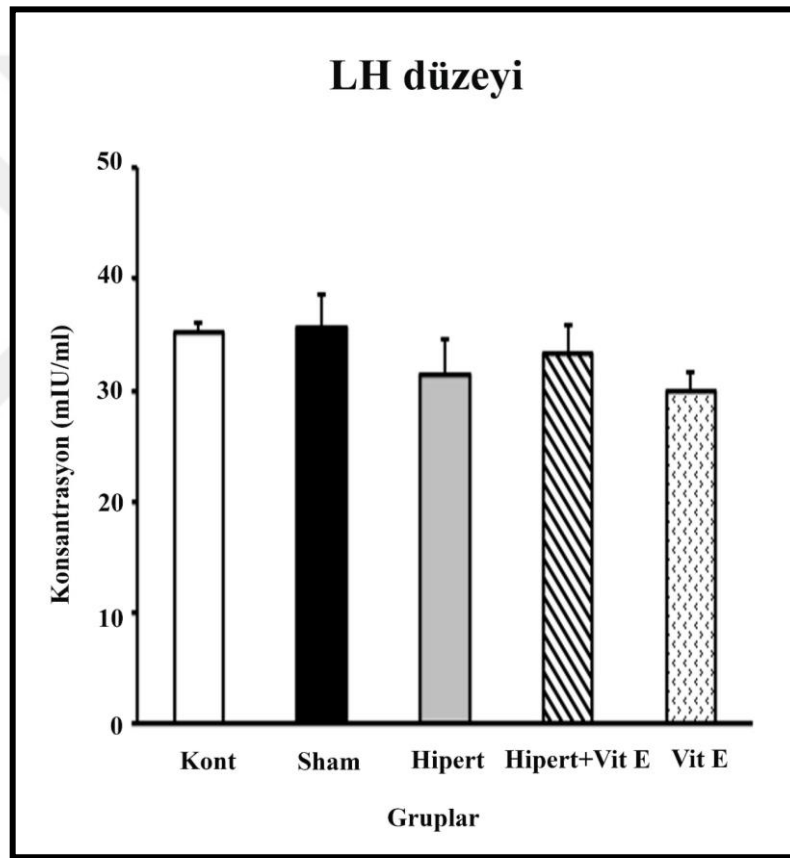
Gruplara ait kan serum örneklerinden elde edilen FSH hormon düzeyleri değerlendirildiğinde; Hipert ve Vit E gruplarında FSH düzeyinin, Kont ve Sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir ( $p<0,01$ ). Hipert+Vit E grubu Kont ve Sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmezken ( $p>0,05$ ); Hipert ve Vit E gruplarıyla karşılaştırıldığında ise FSH düzeyinde anlamlı derecede bir artış olduğu saptandı ( $p<0,05$ ).

#### 4.2.6. Grupların Ortalama LH Hormon Düzeyleri

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde LH hormon değerleri ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tabloda ve grafikte sunulmuştur (Tablo 19, Şekil 23).

**Tablo 19.** Tüm gruplara ait LH hormon (mIU/ml (450 nm)); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	LH hormon değerleri (mIU/mL) (Ortalama±standart sapma)
Kont	35,23 ± 0,90
Sham	35,68± 2,83
Hipert	31,37± 3,16
Hipert+Vit E	33,25± 2,67
Vit E	29,89± 1,74



**Şekil 23.** Tüm gruplara ait LH değerlerinin gösterildiği grafik

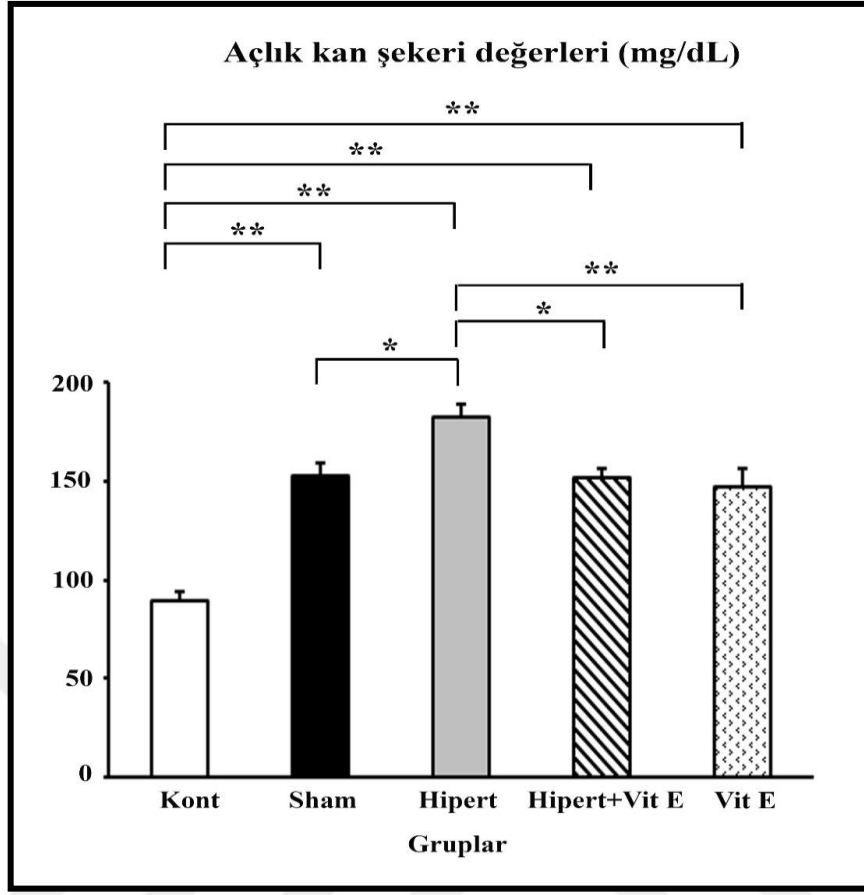
Gruplara ait kan serum örneklerinden elde edilen LH hormon düzeyleri değerlendirildiğinde; Hipert grubunun LH düzeyi ile diğer gruplar (Kont, Sham ve Hipert+Vit E) arasında anlamlı bir farkın olmadığı gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Kısaca, LH hormon düzeyi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ( $p>0,05$ ).

### 4.3. Açlık Kan Şekeri Testi

Deney sonunda gruplara ait hayvanlardan elde edilen kan örneklerinde açlık kan şekerleri ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tabloda ve grafikte sunulmuştur (Tablo 20, Şekil 24).

**Tablo 20.** Tüm gruplara ait açlık kan şekeri (mg/dL); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	Açlık kan şekeri (mg/dL) (Ortalama±standart hata)
Kont	89,25 ± 4,47
Sham	152,5 ± 6,88
Hipert	182,5 ± 5,91
Hipert+Vit E	151,42 ± 4,86
Vit E	147,12 ± 8,72



**Şekil 24.** Tüm gruplara ait açlık kan şekeri değerleri grafikte gösterilmiştir İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*\*” ile gösterilmiştir

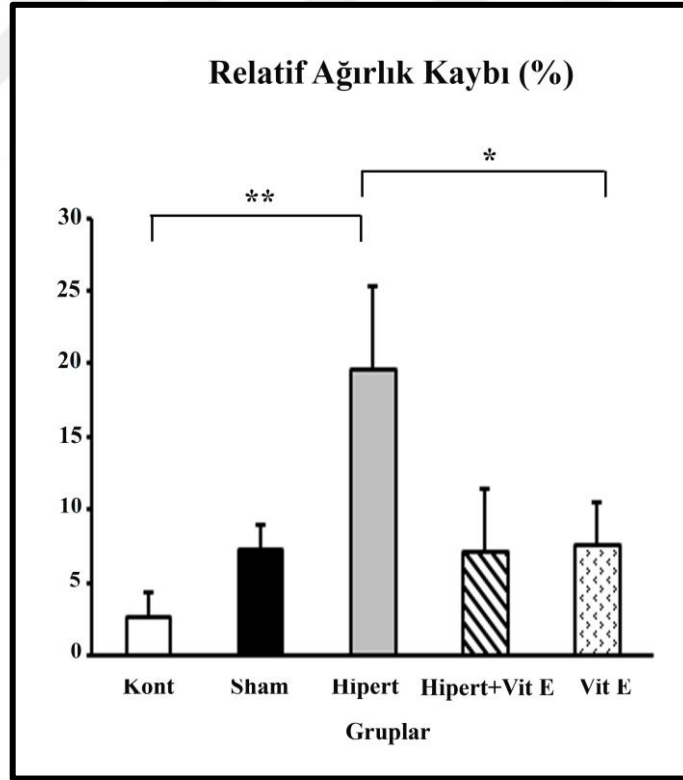
Deney sonunda gruplara ait kan örneklerinde yapılan açlık kan şekeri analiz sonuçları değerlendirildiğinde; Sham, Hipert, Hipert+Vit E ve Vit E gruplarında ortalama açlık kan şekerlerinin Kont grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ( $p < 0,01$ ). Benzer şekilde, Hipert grubunun açlık kan şekeri, Vit E ve Sham grupları ile karşılaştırıldığında kan şeker düzeyinin Hipert grubunda daha yüksek olduğu gözlemlendi ( $p < 0,01$ ). Hipert+Vit E grubu Vit E grubu ile kıyaslandığında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ).

#### 4.4. Relatif Ağırlık Kaybı

Deneye başlamadan önce (DÖ) ve deney sonunda (DS) elde edilen vücut ağırlıklarından gruplara ait hayvanların relatif ağırlık kayıpları hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular aşağıdaki tabloda ve grafikte sunulmuştur (Tablo 21, Şekil 25).

**Tablo 21.** Relatif ağırlık kaybı (%); (Ortalama±standart hata) değerleri

Gruplar	Relatif ağırlık kaybı (%) Ortalama±standart hata)
Kont	2,72 ± 1,72
Sham	7,27 ± 1,68
Hipert	19,57 ± 5,68
Hipert+Vit E	7,20 ± 4,29
Vit E	7,62 ± 2,92



**Şekil 25.** Tüm gruplara ait relatif ağırlık kaybı grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile;  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar ise “\*\*” ile gösterilmiştir

Hayvanların DÖ ve DS vücut ağırlıklarının ölçülmesiyle elde edilen relatif ağırlık kaybı değerlendirildiğinde; ağırlık kaybının Hipert grubunda, Kont grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu gözlemlendi ( $p<0,01$ ). Benzer şekilde, Hipert grubundaki relatif ağırlık kaybı Vit E grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Buna karşın, diğer gruplar arasında relatif ağırlık kaybı bakımından bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ).

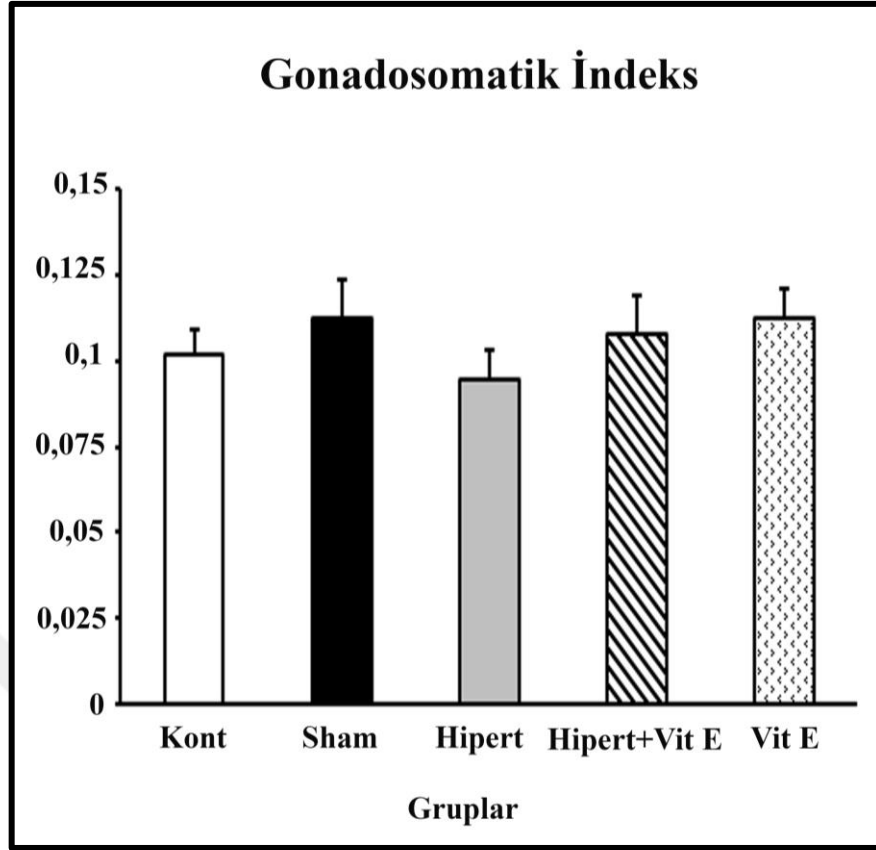
#### 4.5. Deney Sonunda Elde Edilen Gonadosomatik İndeks Değerleri

Deney sonunda gruplara ait hayvanların ovaryum ve vücut ağırlık ölçüleri kullanılarak gonadosomatik indeks değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular aşağıdaki tabloda ve grafikte sunulmuştur (Tablo 22, Şekil 26).

**Tablo 22.** Tüm gruplara ait gonadosomatik indeks (%); (Ortalama±standart hata) değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>Gonadosomatik indeks (%)</b> <b>(Ortalama±standart hata)</b>
<b>Kont</b>	0,10 ± 0,009
<b>Sham</b>	0,11 ± 0,011
<b>Hipert</b>	0,09 ± 0,007
<b>Hipert+Vit E</b>	0,11 ± 0,012
<b>Vit E</b>	0,11 ± 0,008





Şekil 26. Tüm gruplara ait gonadosomatik indeksi gösteren grafik

Deney sonumda gruplara ait gonadosomatik indeks sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

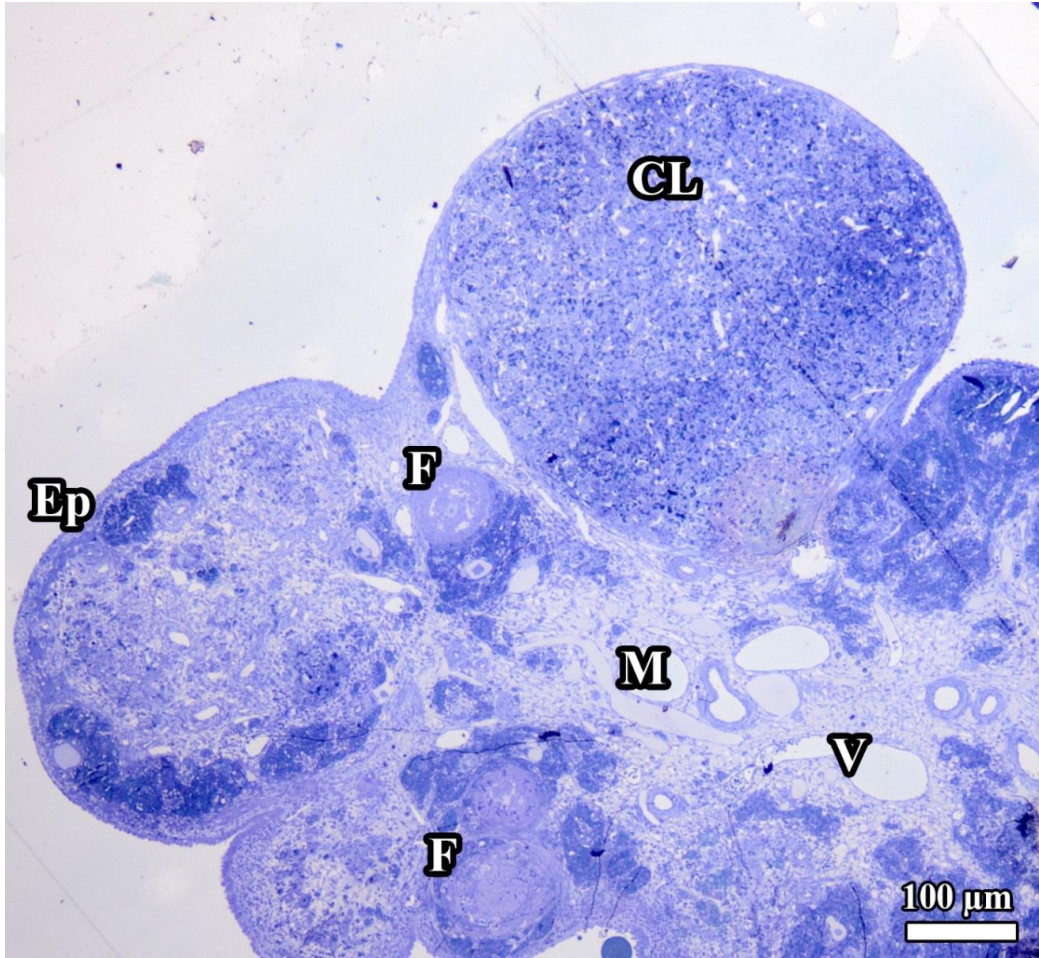
#### 4.6. Histopatolojik Bulgular

##### 4.6.1. Yarı-İnce Kesitlerden Elde Edilen Işık Mikroskopik Bulgular

###### Kontrol Grubuna Ait Bulgular

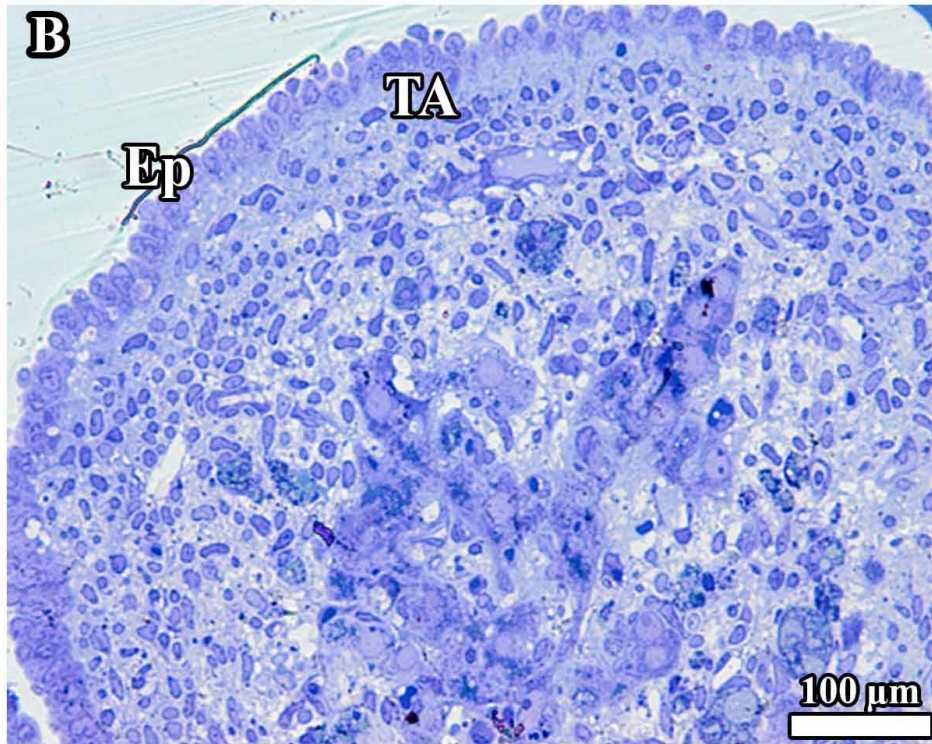
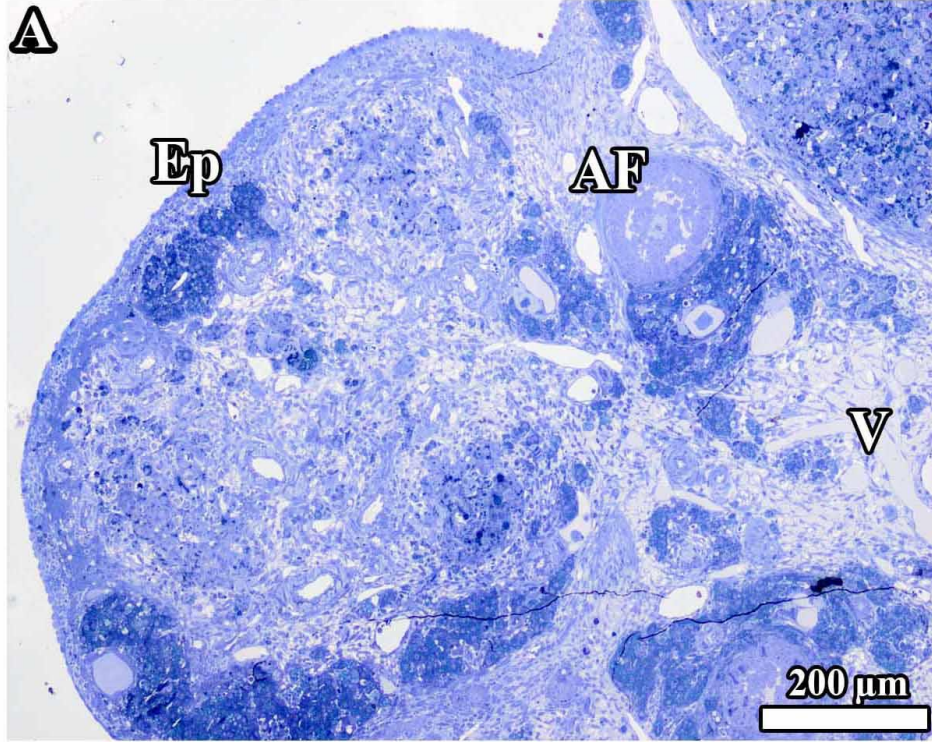
Kontrol grubu ovaryum dokularına ait yarı-ince kesitler incelendiğinde; ovaryumun dış yüzünün çok iyi korunmuş tek katlı kübik epitel ile çevrelendiği, epitel hücrelerinin normal yapıda ve altındaki tunika albugineanın belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil 27, 28). Medullanın merkezinde çok sayıda hilus hücresinin varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 28). Ovaryum korteksinde gelişimin farklı dönemlerinde olan normal histolojik yapıya sahip foliküller bulunmaktaydı (Şekil 29, 30). Folikülün yapısındaki granüloza hücrelerinin arasında yer yer antrumların oluştuğu görüldü (Şekil 30). Preantral foliküllerin normal görünümüne sahip olduğu ve çevre dokularında yaygın

kan damar ağı fark edildi (Şekil 29). Folikül merkezindeki oositin sınırlarının ve etrafını çevreleyen zona pellusidasının belirgin bir yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Ovulasyon sonrası oluşan korpus luteumun etrafında teka folikülünün iyi geliştiği ve lütein hücrelerinin normal morfolojik yapıda olduğu fark edildi (Şekil 30). Gevşek bağ dokusu özelliğinde olan ovaryum medullasında farklı boyutlarda kan damarları bulunmaktaydı. Ayrıca geniş çaplı lenf damarlarının bulunduğu ve bu damarların büyük çaplı olmalarına rağmen lümenlerinin açık kaldığı gözlemlendi (Şekil 31).



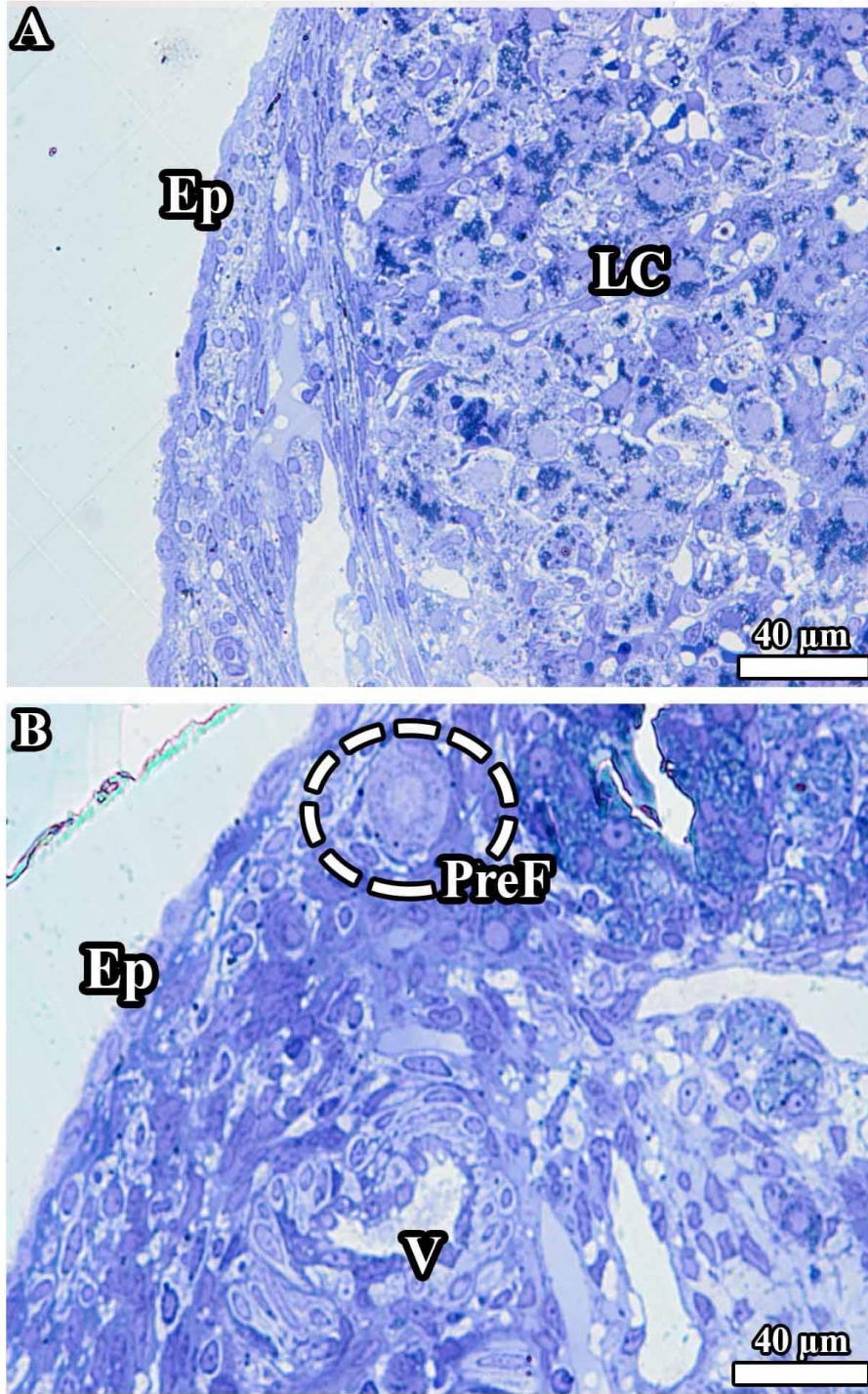
Şekil 27. Kontrol grubuna ait ovaryum dokusunun genel görüntüsü. İyi korunmuş bir örtü epiteli, gelişimin farklı dönemlerinde olan foliküller, ovaryumun büyük bir kısmını kaplayan normal yapıdaki korpus luteum ve gevşek bağ dokusu içerisinde çok sayıda farklı çapta kan damarının varlığı dikkat çekmektedir. Damar (V); folikül (F); korpus luteum (CL); medulla (M); örtü epiteli (Ep)





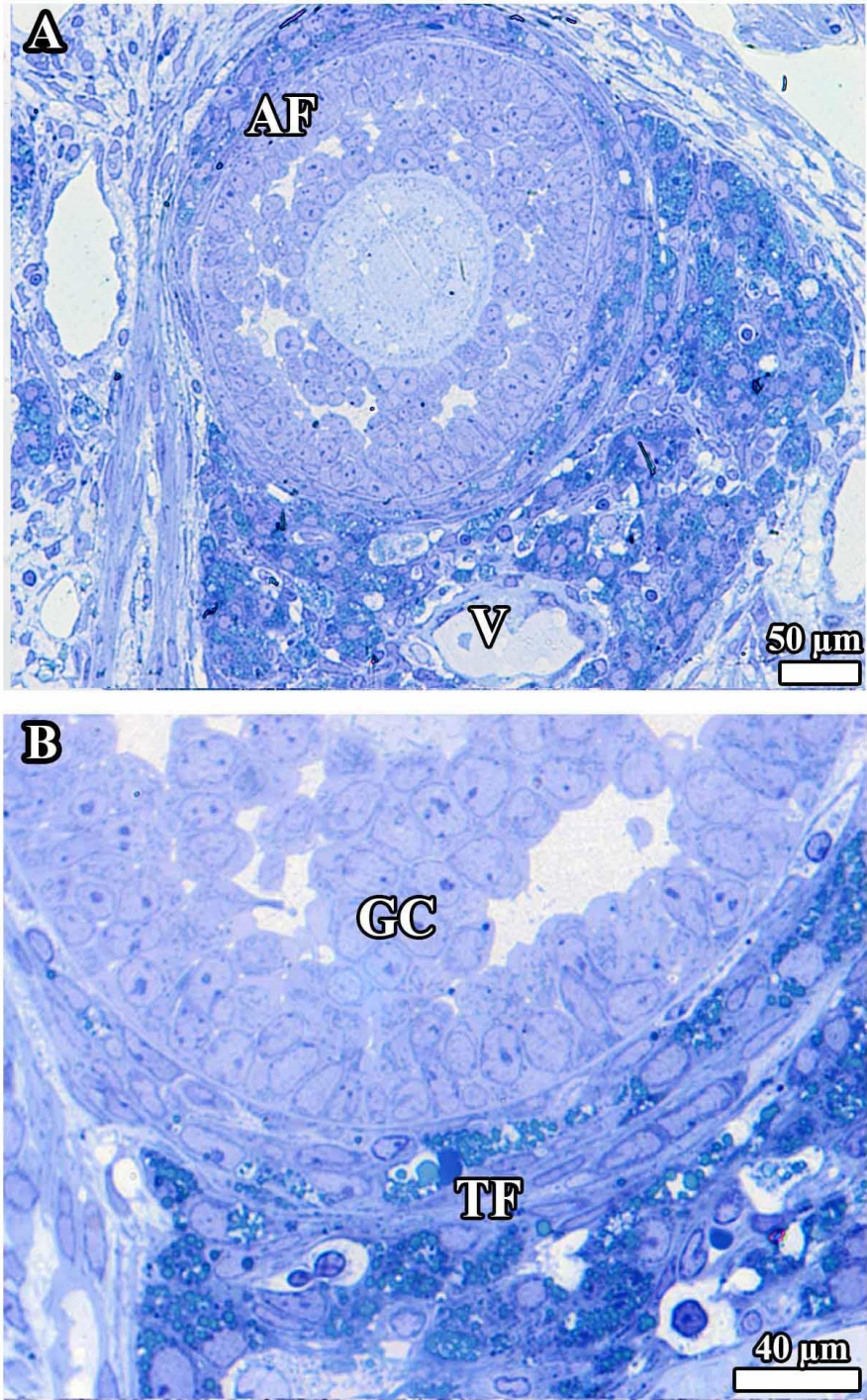
**Şekil 28.** (A) Kontrol grubuna ait ovaryumun sağ üst tarafında preantral bir folikül görülmektedir. (B) İyi korunmuş bir örtü epiteli ve hemen altında tunika albugineası ve daha altta ise gevşek bağ dokusu özelliğindeki doku gözlenmektedir. Mikrografın merkezi alanında çok sayıda hilus hücresinin varlığı dikkat çekmektedir. Antral folikül (AF); damar (V); örtü epiteli (Ep); tunika albuginea (TA)





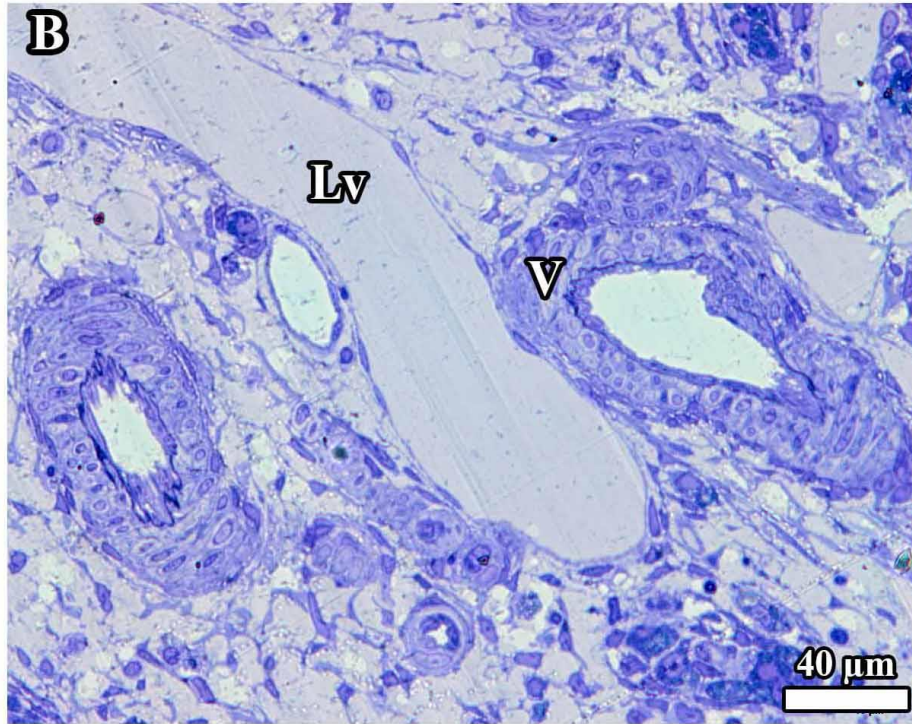
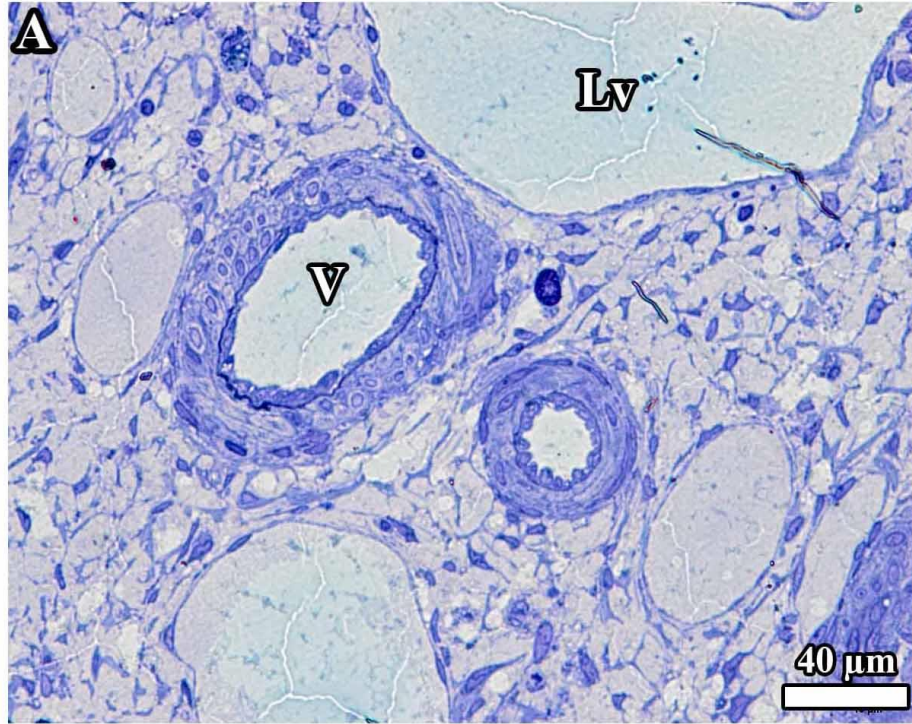
**Şekil 29.** (A, B) Kontrol grubuna ait ovaryumun korteksi görülmektedir. Organın dış yüzeyinin tek katlı kübik epitel ile çevrelendiği, epitel hücrelerinin normal yapıda olduğu ve altındaki tunika albugineanın belirginliği fark edilmektedir. (A) Normal bir histolojik yapıya ait olan korpus luteum, (B) tunika albugineanın hemen altında yerleşen bir preantral folikül ve çevre dokularında yaygın kan damarları ağı gözlenmektedir. Damar (V); lütein hücreleri (LC); örtü epiteli (Ep); preantral folikül (PreF)





**Şekil 30.** (A, B) Kontrol grubuna ait ovaryum korteksinde iyi gelişmiş bir preantral folikül gözlenmektedir. Folikülün etrafında dejenerasyona giden korpus luteuma ait yapılar bulunmaktadır. Antral folikülün yapısındaki granülozum hücreleri arasında yer yer antrumların oluştuğu görülmektedir. (A) Folikül merkezinde bulunan oositin belirgin bir zona pellusida ile çevrelendiği, çekirdek sınırlarının belirgin olmadığı fark edilmektedir. (B) Folikülün etrafında teka folikülünün iyi geliştiği görülmektedir. Antral folikül (AF); damar (V); granüloza hücreleri (GC); teka folikülü (TF)

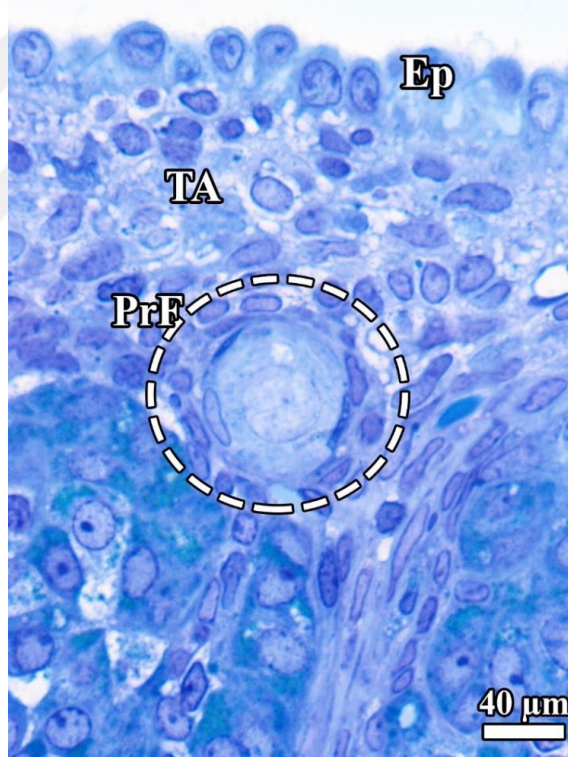




**Şekil 31.** (A, B) Kontrol grubuna ait ovaryum medullası görüntüleri. Gevşek bağ dokusu özelliğinde olan dokunun yapısında farklı boyutlarda olan kan damarları gözlenmektedir. Ayrıca geniş çaplı lenf damarlarının varlığı dikkat çekmektedir. Lenf damarları büyük çaplı olmalarına rağmen lümenleri açıktır. Damar (V); lenf damarı (Lv)

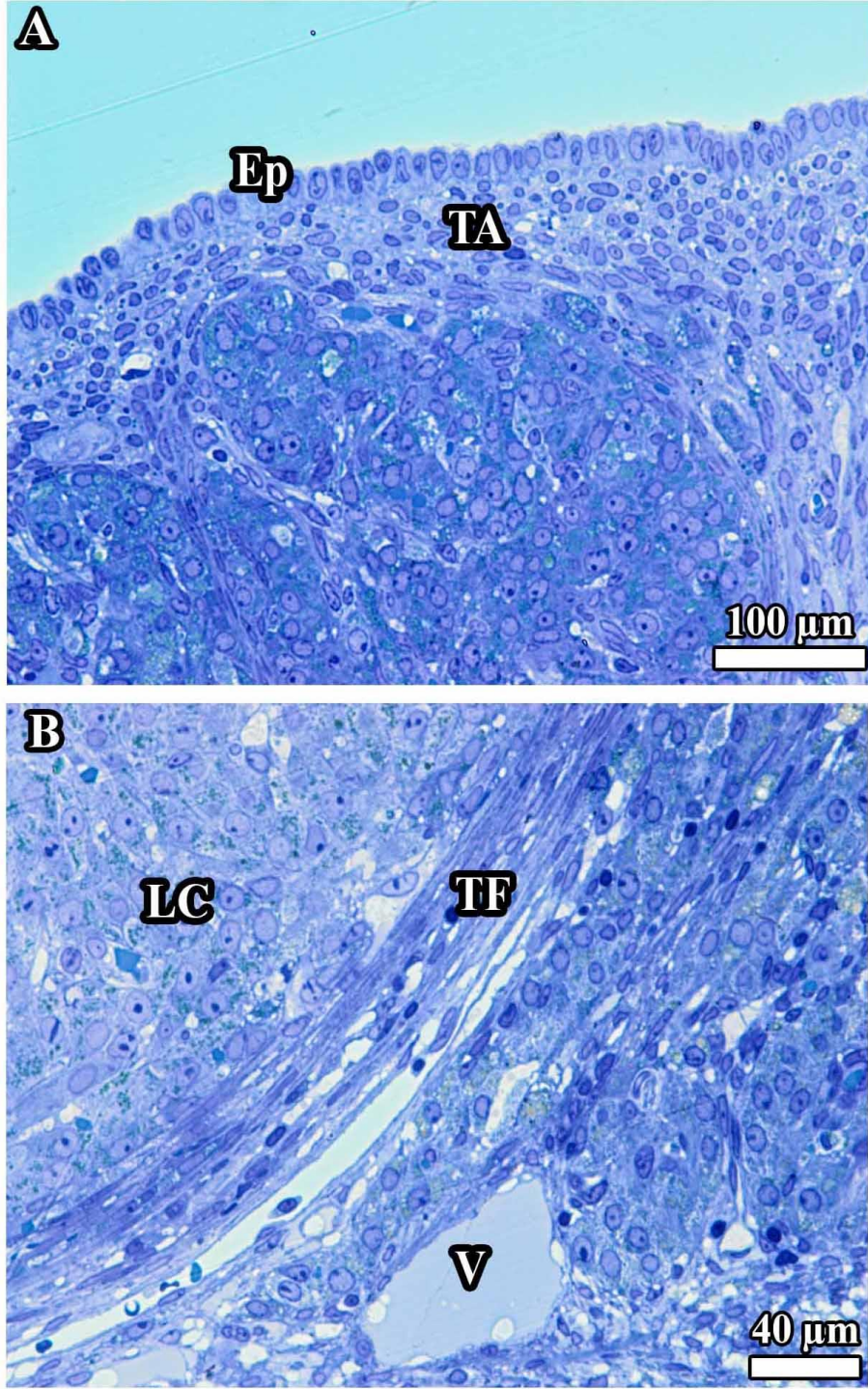
### Sham Grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

Sham grubu ovaryum dokularına ait yarı-ince kesitler incelendiğinde; ovaryum dış yüzeyinin tek katlı kübik epitel ile çevrelediği, epitel hücrelerinin normal yapıda ve epitel altındaki tunika albugineanın belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil 32, 33). Ovaryum korteksinde yer alan primordiyal foliküllerin oosit sınırlarının belirgin olduğu ve çekirdeklerinin net olarak ayırt edildiği fark edildi (Şekil 32). Antral foliküllerin merkezinde bulunan oositin etrafında belirgin bir zona pellusida ve korona radiata hücrelerinin varlığı gözlemlendi. Granülozum hücreleri arasında yer yer apoptoza gittiğini düşündüğümüz koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 34). Ovaryum korteksinde korpus luteumu saran teka folikülü ve lütein hücrelerinin normal morfolojik görünümüne sahip olduğu gözlemlendi. Korpus luteumun lüteal hücreleri arasındaki kapillerler normal yapıdaydı (Şekil 35). Sham grubunun ovaryum medullasında normal görünümüne sahip farklı çapta kan damarları gözlemlendi (Şekil 36).



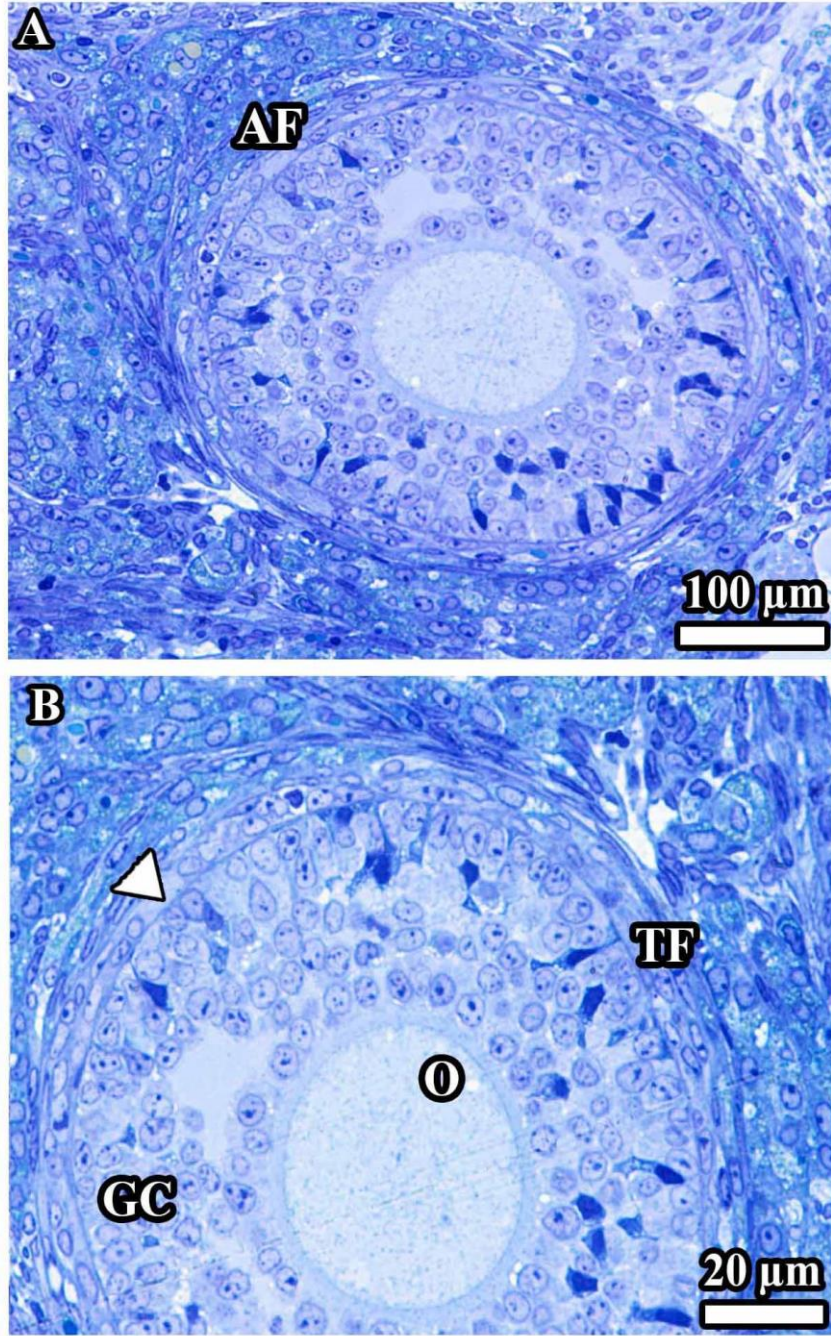
**Şekil 32.** Sham grubuna ait ovaryumun dış yüzeyinin tek katlı kübik epitel ile çevrelediği, epitel hücrelerinin normal yapıda olduğu ve epitel altındaki tunika albugineanın belirgin yapısı fark edilmektedir. Tunika albuginenin hemen altında bir primordiyal folikül gözlenmektedir. Foliküle ait oositin sınırları belirgin olup, çekirdek net olarak ayırt edilmektedir. Örtü epiteli (Ep); primordiyal folikül (PrF); tunika albuginea (TA)



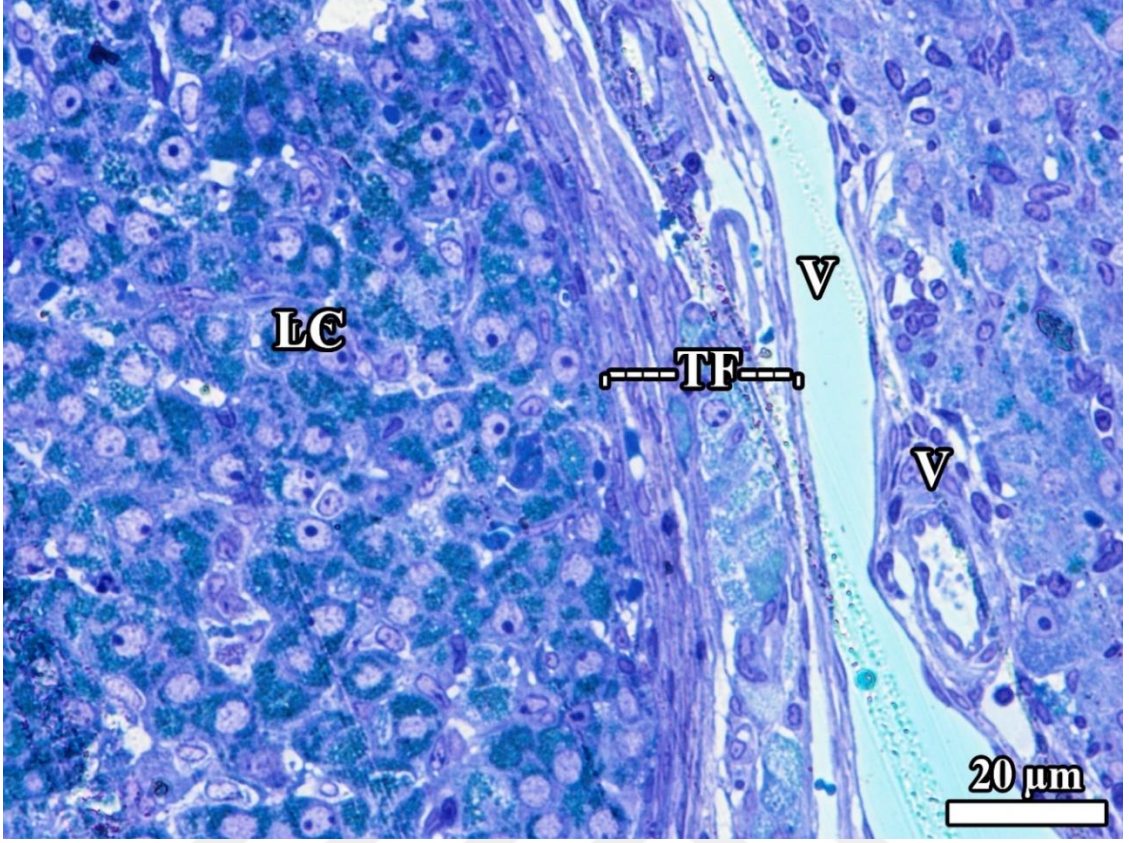


**Şekil 33.** (A) Ovaryum dış yüzeyini saran tek katlı kübik epitel ve epitelin altında belirgin yapıda olan tunika albuginea tabakası gözlenmektedir. (B) Ovaryum korteksinde bulunan korpus luteumu saran bağ dokusu ve belirgin olarak ayırt edilebilen lütein hücreleri gözlenmektedir. Damar (V); lütein hücreleri (LC); örtü epiteli (Ep); teka folikülü (TF); tunika albuginea (TA)



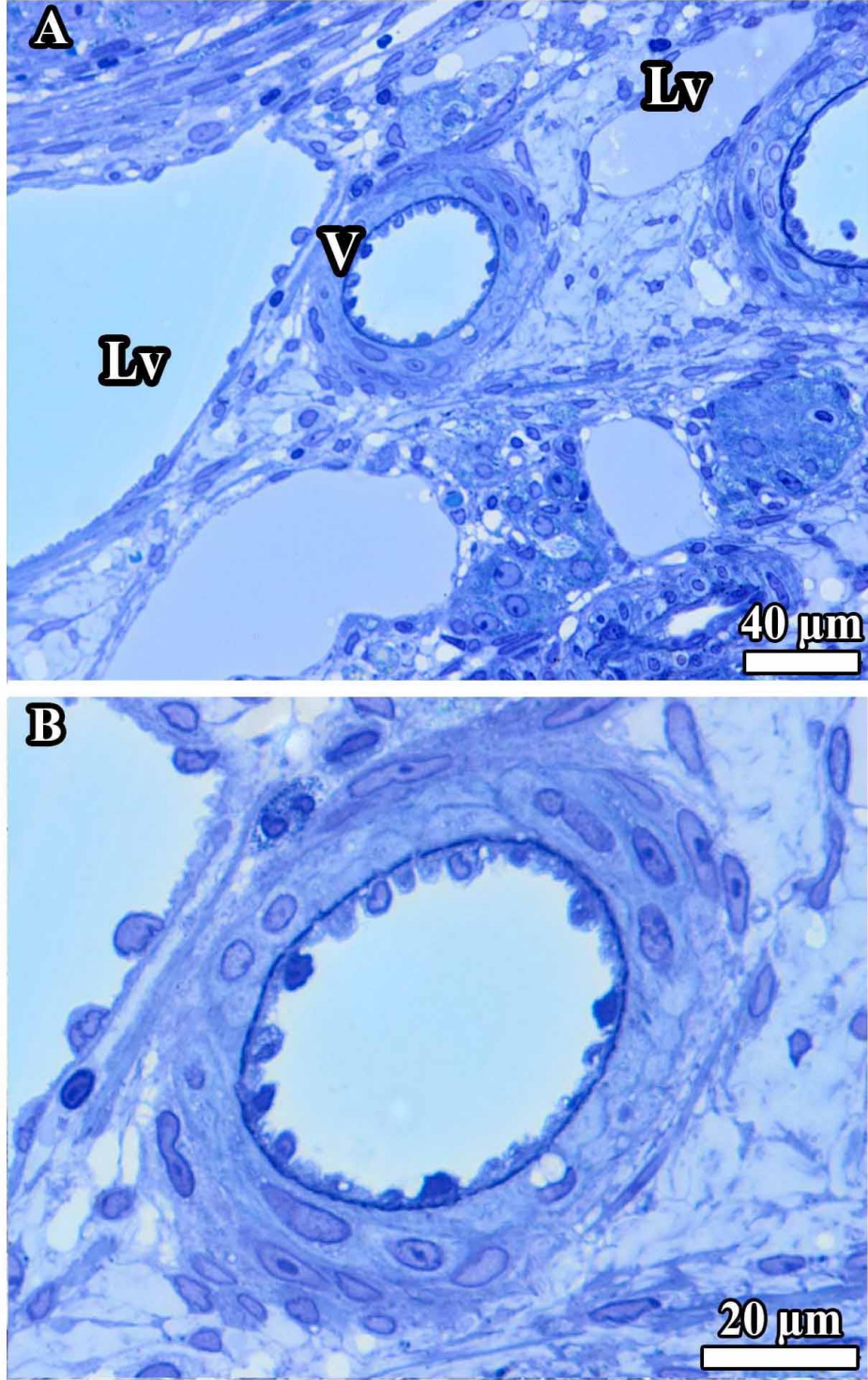


**Şekil 34.** (A, B) Sham grubuna ait ovaryum korteksinde iyi gelişmiş antral folikül gözlenmektedir. (B) Daha büyük büyütmede antral folikülün yapısındaki granulozum hücreleri arasında yer yer antrumların oluştuğu görülmektedir. Antral folikülün merkezinde bulunan oositin etrafında belirgin bir zona pellusida ve korona radiata hücreleri fark edilmektedir. Granulozum hücreleri arasında yer yer apoptoza gittiğini düşündüğümüz koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkat çekmektedir. Folikülün etrafını çevreleyen belirgin bazal membran ve iyi gelişmiş bir teka folikülü ayırt edilmektedir. Antral folikül (AF); bazal membran (ok başı); granuloza hücreleri (GC); oosit (O); teka folikülü (TF)



**Şekil 35.** Sham grubuna ait ovaryum dokusunda korpus luteum görülmektedir. Korpus luteumun etrafını çevreleyen iyi gelişmiş teka folikülü ve lütein hücreleri ayırt edilmektedir. Korpus luteum çevresinde farklı büyüklükte kan damarları gözlenmektedir. Lüteal hücreler arasındaki kapillerler normal yapıdaydı. Damar (V); lütein hücreleri (LC); teka folikülü (TF)

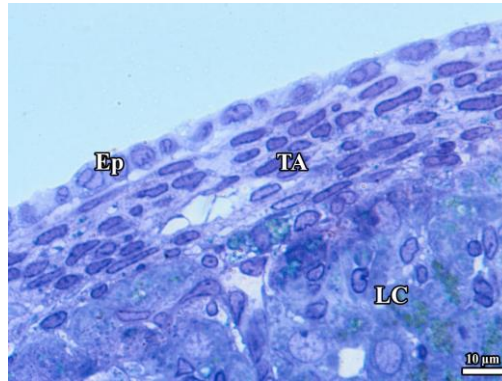




**Şekil 36.** (A, B) Sham grubu ovaryum medullasına ait görüntüler, gevşek bağ dokusu özelliğinde olan doku, yapısında farklı boyutlarda olan kan damarları bulundurmaktadır. Ayrıca geniş çaplı lenf damarı olduğunu düşündüğümüz yapılar da gözlenmektedir. Lenf damarları büyük çaplı olmalarına rağmen lümenleri açıktır. Damar (V); Lenf damarı (Lv)

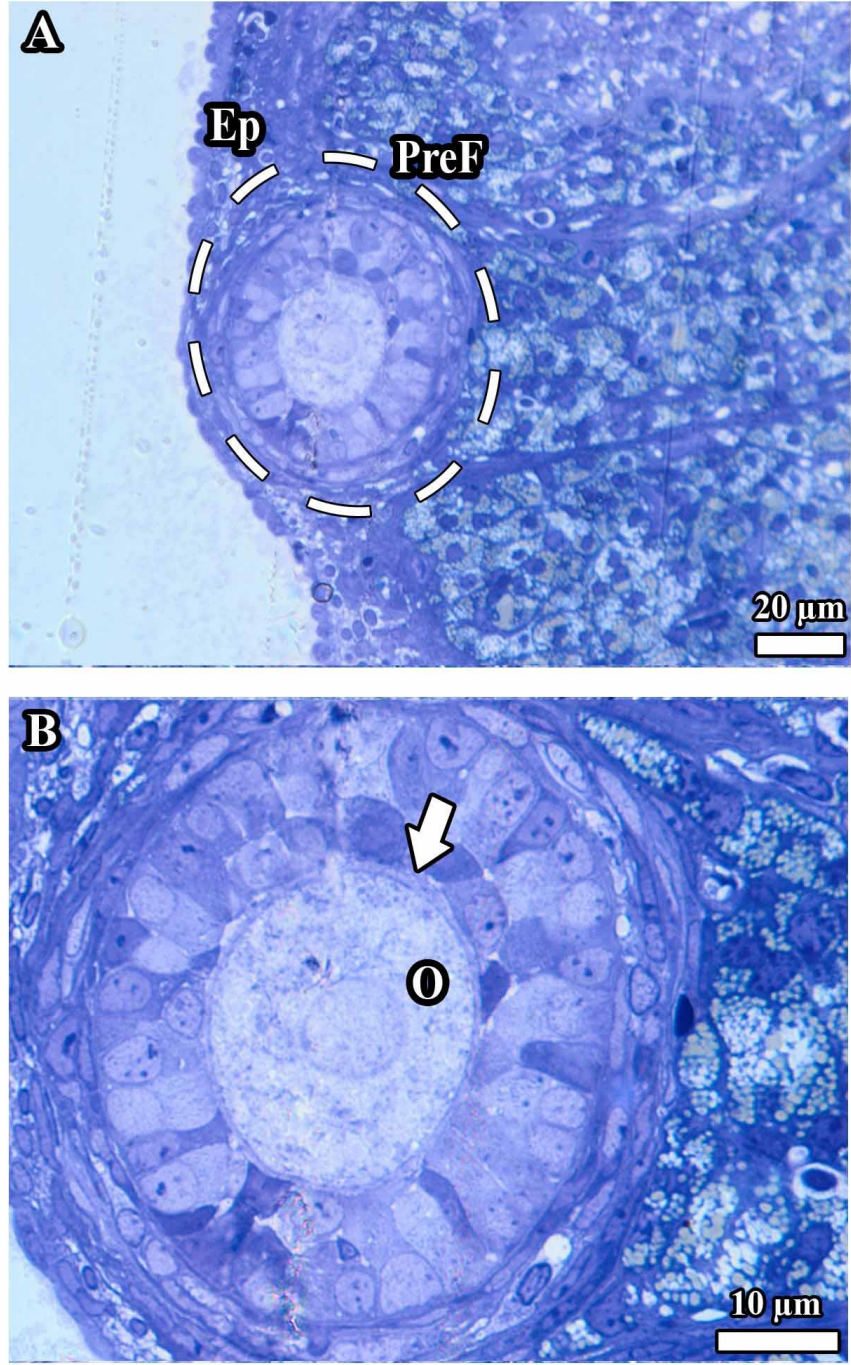
## Hipertiroidi Grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

Hipertiroidi grubu ovaryum dokularına ait yarı-ince kesitler incelendiğinde; ovaryumun dış yüzeyini saran tek katlı epitelin bazı alanlarda kübik, bazı yerlerde ise yassılaştığı ve aynı zamanda epitel hücreleri arasında çok sayıda koyu boyanan hücrelerin olduğu gözlemlendi. Epitel altındaki tunika albugineada bulunan hücrelerin yassı biçimli çekirdeklere sahip oldukları, ayrıca hücreler arası aralıkta yer yer boşlukların varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 37, 41). Preantral folikülün duvarında koyu boyanan ve apoptoza gittiğini düşündüğümüz granülozum hücreleri gözlemlendi. Bu hücrelerin sınırları kolay ayırt edilemiyordu (Şekil 38, 39, 40). Preantral folikül merkezinde bulunan oositi çevreleyen zona pellusidanın çok ince yapısı dikkat çekmekteydi (Şekil 39). Hücreler arasında çok sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı buradaki dejenerasyonun şiddetli olduğunu düşündürmektedir. Tunika albugineadan sonra gelen alanlarda çok sayıda büyük çaplı makrofaj toplulukları bulunmaktaydı (Şekil 41). Teka folikülünün düzensizliği, yapısındaki kapillerlerin lümenlerinin dilate olduğu gözlemlendi. Folikülün granülozum hücre tabakasını teka folikülünden ayıran glassy membranın (bazal membran) iyi gelişmediği fark edildi (Şekil 39). Korpus luteuma ait görüntüde lütein hücrelerinin sınırlarının belirsiz olduğu, hücre çekirdeklerinin nispeten küçüldüğü ve kapiller lümenlerinin genişlediği gözlemlendi (Şekil 41). Ovaryum korteksinde çok sayıda atretik foliküller görülmekteydi. Atretik folikülün yapısında dejenere olan oosit nedeniyle foliküllerin merkezinde boşluk gözlenmekteydi (Şekil 42). Korpus luteumun etrafını çevreleyen dokuda yer alan damar içinde morfolojisi bozulmuş çok sayıda eritrosit gözlemlendi (Şekil 43).

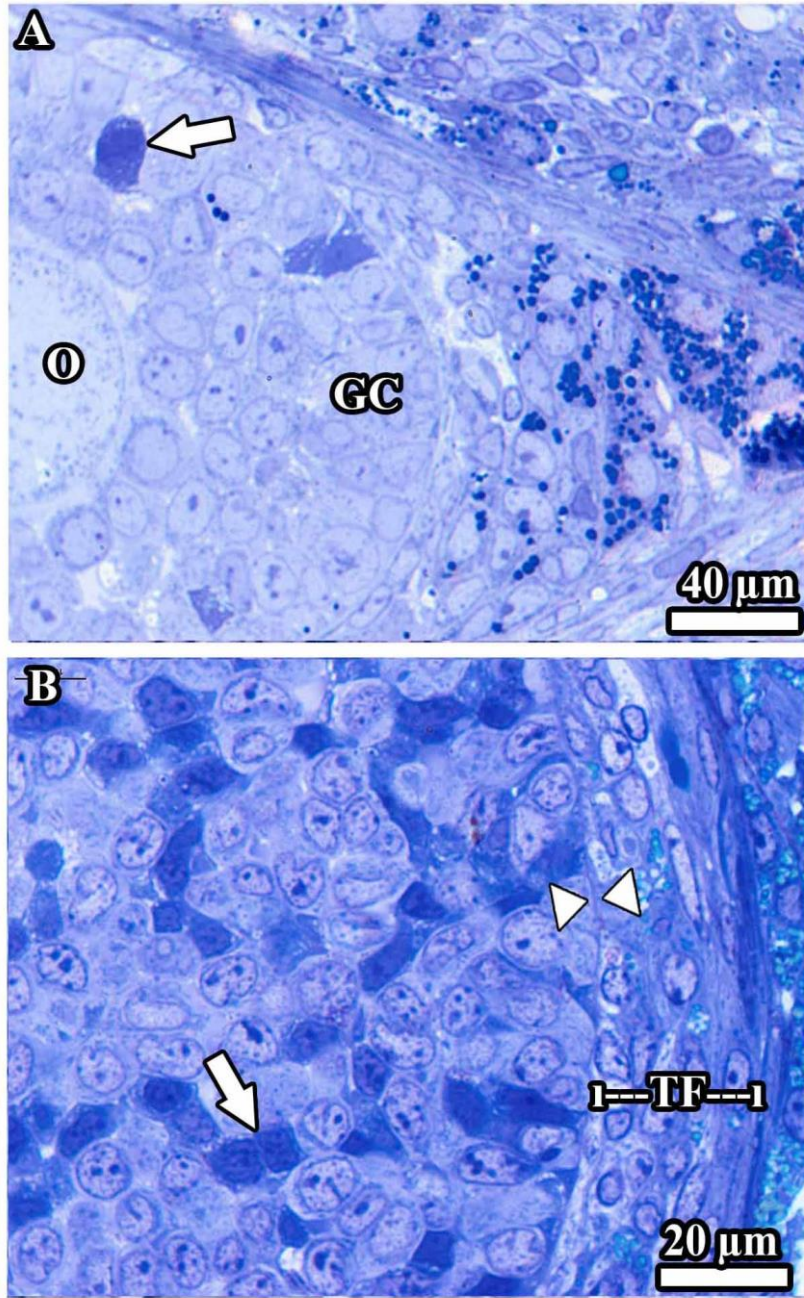


**Şekil 37.** Hipertiroidi grubuna ait ovaryumun dış yüzeyini saran tek katlı epitelin bazı alanlarda kübik, bazı yerlerde ise yassılaştığı görülmektedir. Epitel altındaki tunika albugineada bulunan hücrelerin yassı biçimli çekirdeklere sahip oldukları gözlemlendi. Lütein hücreleri (LC); örtü epiteli (Ep); tunika albuginea (TA)



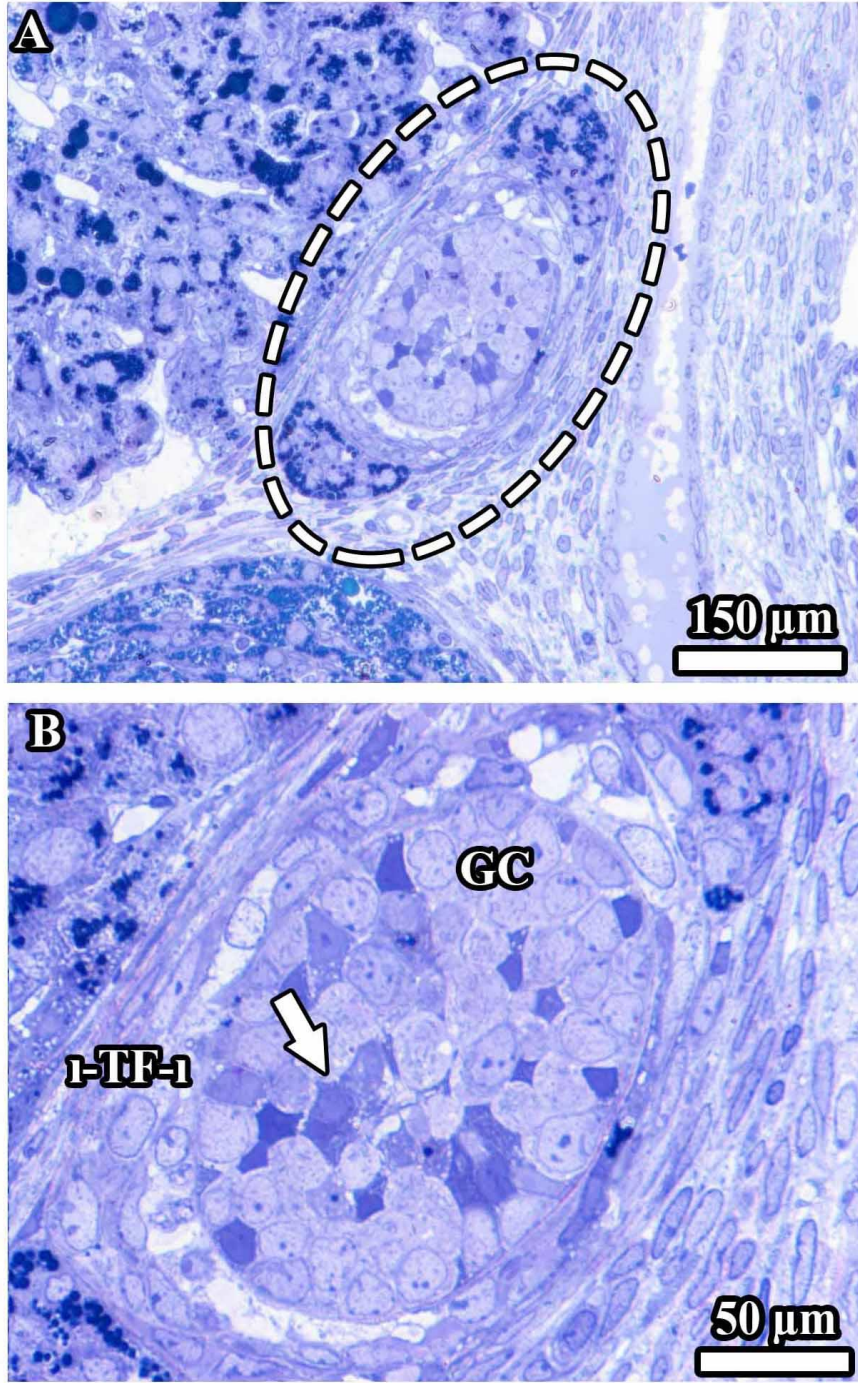


**Şekil 38.** (A) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumun dış yüzeyini saran tek katlı kübik epitel ve epitelin altında belirgin yapıda olan preantral folikül ayırt edilmektedir. (B) Preantral foliküle ait granüloza hücreleri ve oositi çevreleyen son derece ince bir zona pellusida dikkat çekmektedir. Bu safhadaki bir folikülün duvarında koyu boyanan ve apoptoza gittiğini düşündüğümüz granülozum hücreleri gözlemlendi. Preantral folikül merkezinde bulunan oosit sınırları net olarak ayırt edilebilen bir çekirdeğe sahip olmakla birlikte teka folikülünün çok iyi gelişmediği fark edildi. Örtü epiteli (Ep); oosit (O); preantral folikül (PreF); teka folikülü (TF); zona pellusida (beyaz ok)

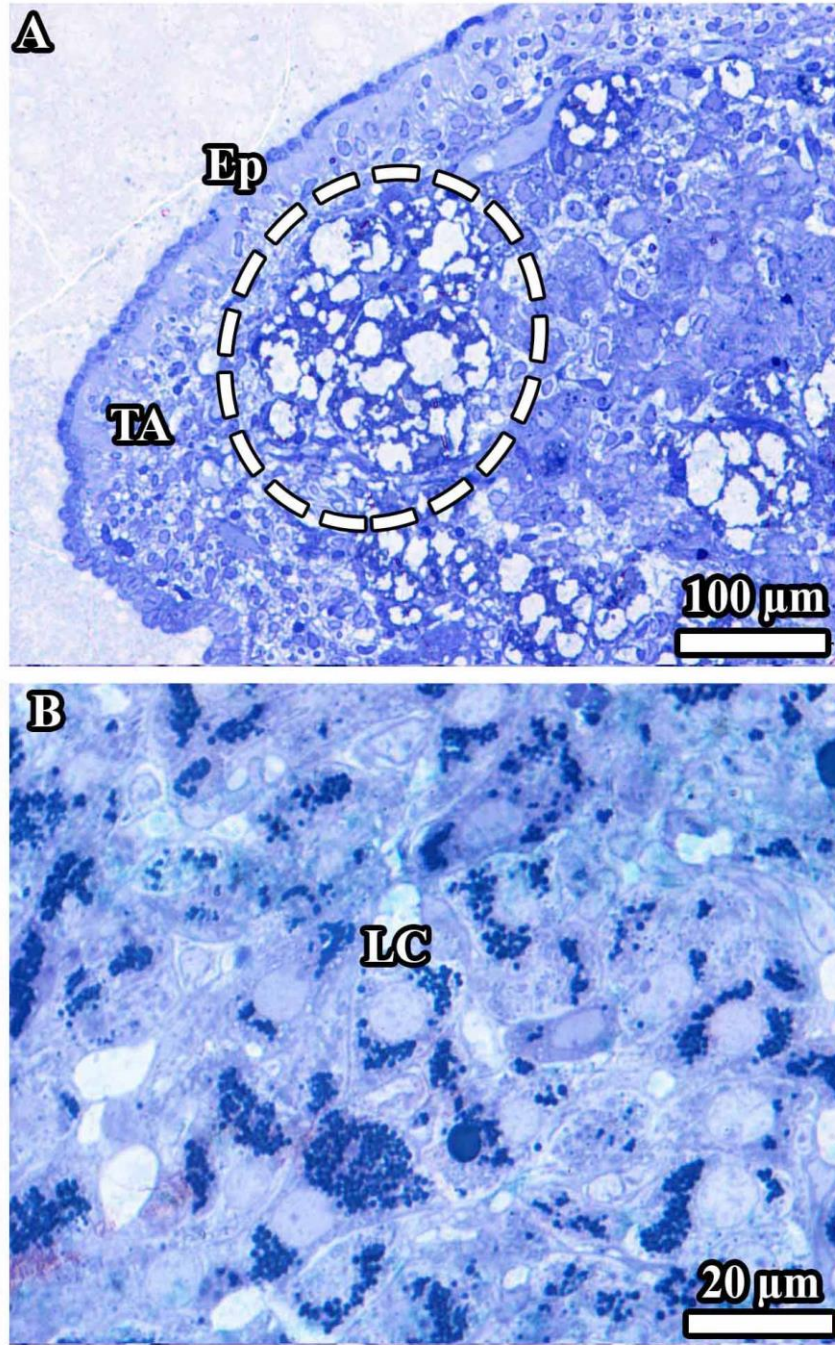


**Şekil 39.** (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryum korteksinde bir preantral folikül gözlenmektedir. Oositin etrafını çevreleyen zona pellusida incedi ve granülozum hücrelerinin sınırları belirsizdi. Granülozum hücreleri arasında yer yer apoptoza gittiğini düşündüğümüz koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkat çekmekteydi. (B) Preantral foliküle ait granülozum hücreleri görülmektedir. Folikülün etrafını çevreleyen teka folikülü gözlenirken, teka internasındaki kapillerlerin ve granülozum hücre tabakasını teka folikülünden ayıran glassy membranın (bazal membran) iyi gelişmediği görüldü. Apoptoza giden granüloza hücreleri (beyaz ok); bazal membran (ok başı); granüloza hücreleri (GC); lütein hücreleri (LC); oosit (O); teka folikülü (TF)



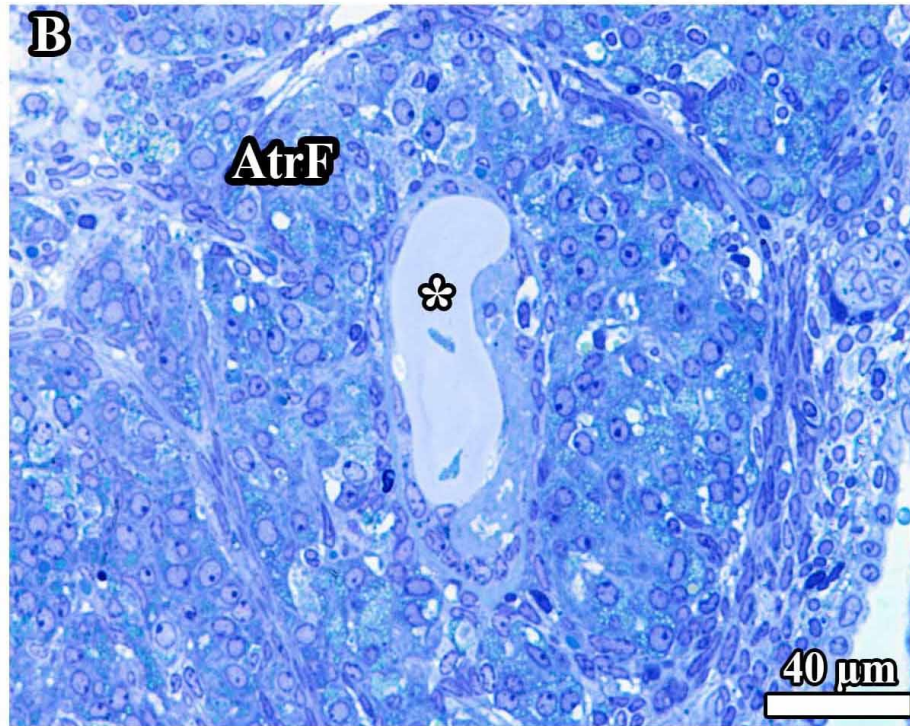
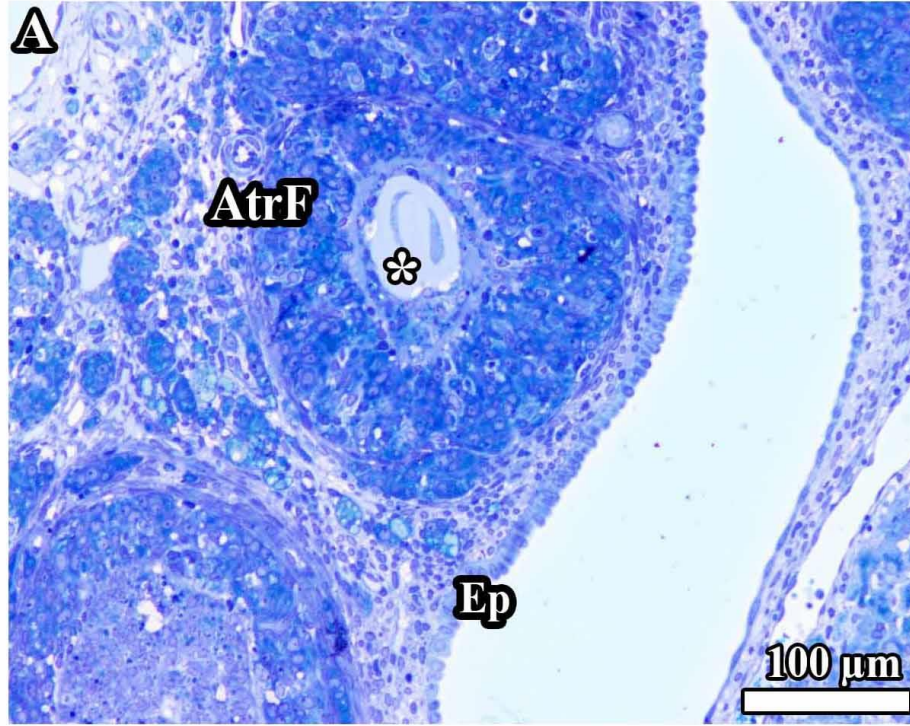


**Şekil 40.** (A, B) Hipertiroidi grubu ovaryum korteksinde bulunan bir preantral folikül gözlenmektedir. Folikülün duvarında granüloza hücreleri gözlenirken, folikülün yapısında bulunan oositten kesitin geçmediği fark edildi. Granülozum hücreleri arasında çok sayıda yoğun boyanan dejenerasyona giden hücrelerin varlığı dikkat çekmekteydi. Teka folikülünün düzensizliği ve yapısındaki kapillerlerin lümenlerinin dilate olduğu gözlemlendi. Apoptoza giden granüloza hücreleri (beyaz ok); granüloza hücreleri (GC); preantral folikül (beyaz çerçeve); teka folikülü (TF)



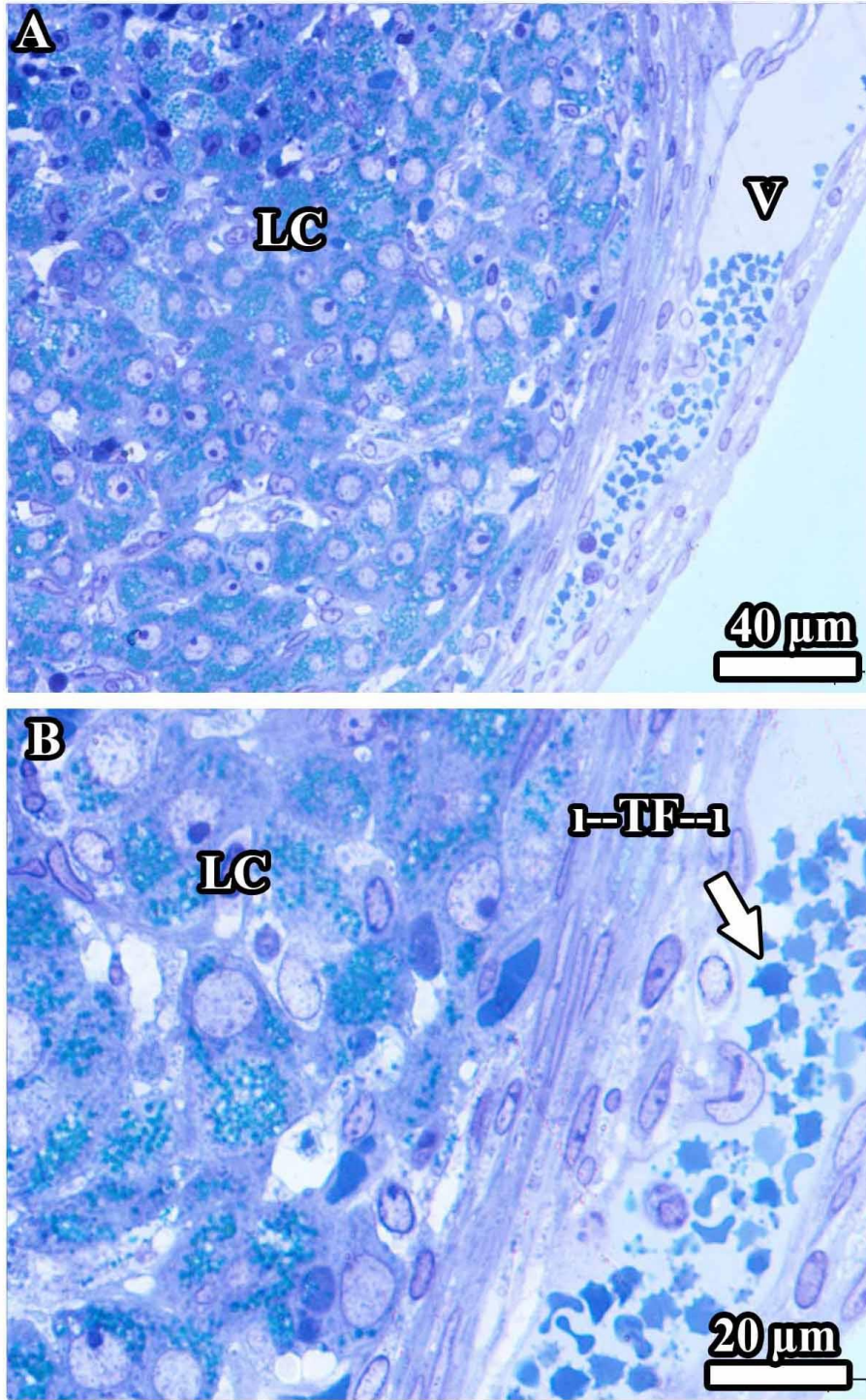
**Şekil 41.** (A) Hipertiroidi grubu ovaryumun dış yüzeyini saran tek katlı epitelin bazı alanlarda yassı, bazı alanlarda ise kübik olduğu, bu epitel hücrelerinin arasında çok sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkat çekmekteydi. Epitelin altındaki tunika albugineanın ince ve sınırlarının belirsiz olduğu gözlemlendi. Tunika albugineadan sonra gelen alanlarda çok sayıda büyük çaplı makrofaj topluluklarının olduğu görüldü. (B) Korpus luteuma ait görüntüde lütein hücrelerinin sınırlarının belirsiz olduğu, hücre çekirdeklerinin nispeten küçüldüğü ve kapiller lümenlerinin genişlediği gözlemlendi. Lütein hücreleri (LC); makrofaj toplulukları (çember); örtü epiteli (Ep); tunika albuginea (TA)





Şekil 42. (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovarium korteksinde bir atretik folikül görülmektedir. Atretik folikülde ilk basamakta dejenere olan yapının oosit olması nedeniyle bu tür foliküllerin merkezinde boşluk gözlenir. Atretik folikül (AtrF); dejenere oositin bıraktığı boşluk (\*); örtü epiteli (Ep)

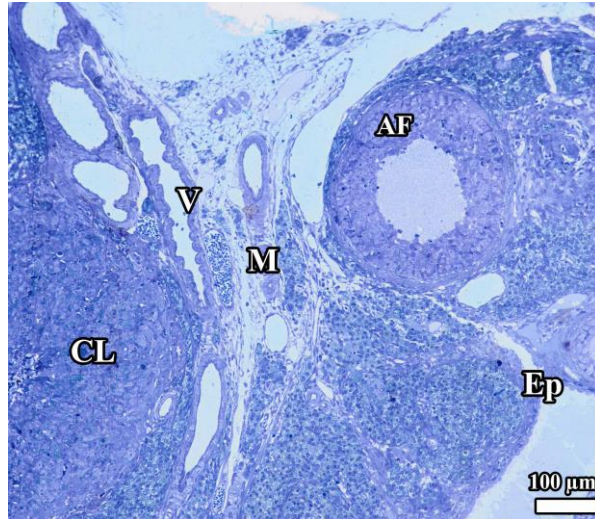




Şekil 43. (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryum korteksinde bulunan korpus luteum ve yapısındaki lütein hücreleri gözlenmektedir. Korpus luteumun etrafını çevreleyen belirgin bir damar yapısı dikkat çekmektedir. (B) Korpus luteumun etrafını çevreleyen dokuda yer alan damar içinde morfolojisi bozulmuş çok sayıda eritrosit görülmektedir. Damar (V); dejenere eritrositler (beyaz ok); lütein hücreleri (LC); teka folikülü (TF)

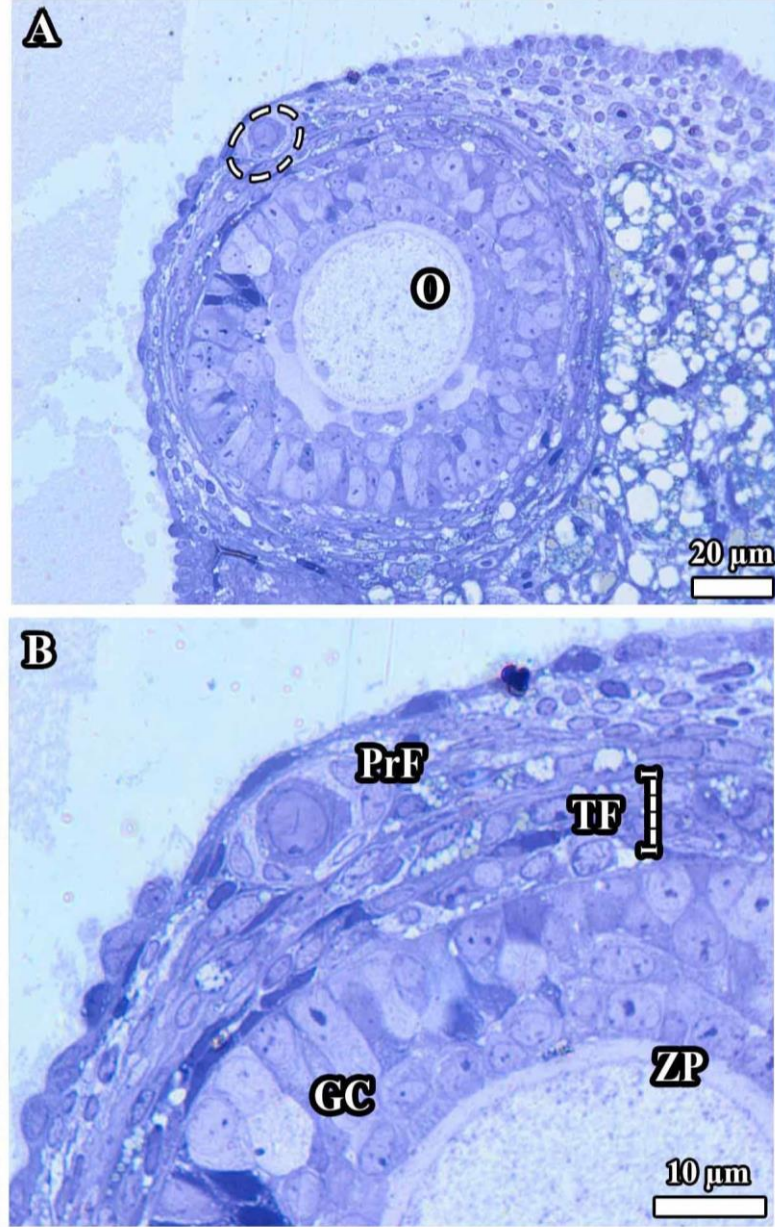
### Hipertiroidi + Vitamin E Grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

Hipertiroidi+Vitamin E grubu ovaryum dokularına ait kesitler incelendiğinde; ovaryumun dış yüzeyini çevreleyen epitel hücrelerinin bazı alanlarda yassı biçimli, bazı alanlarda ise kübik biçimli olduğu gözlemlendi (Şekil 44, 45). Ovaryum yapısındaki korpus luteum damarlarının ve foliküllerin iyi korunduğu görüldü (Şekil 44). Yapısında belirgin oosit bulunduran primordiyal foliküllerin etrafının tek katlı yassı biçimli folikül hücreleri tarafından çevrelendiği fark edildi (Şekil 45, 46). Ovaryum korteksinde farklı gelişim evrelerindeki foliküllere ait granülozum hücrelerinin hem çekirdeklerinin hem de hücre sınırlarının belirgin olduğu görüldü. Hipert grubuna göre foliküllerdeki granülozum hücreleri arasında az sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı, bu grupta kullanılan E vitamininin koruyucu bir rolünün olduğunu düşündürmektedir (Şekil 45, 47). Foliküllerin merkezinde bulunan oositlerin normal yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Oositi çevreleyen zona pellusidanın belirgin bir yapıda olduğu fark edildi. Dişi cins hücrelerinin normal morfolojik yapıya sahip korona radiata hücreleri tarafından çevrelendiği gözlemlendi. Teka folikülünün interna ve eksterna tabakaları birbirinden ayırt edilebilmekteydi ve teka folikülü ile granülozum hücreleri arasındaki bazal membran belirgin olarak gözlenmekteydi (Şekil 48). Hipert+Vit E grubuna ait ovaryum medullasında gevşek bağ dokusu özelliğinde olan doku, yapısında farklı boyutlarda kan damarları bulundurmaktaydı (Şekil 49).

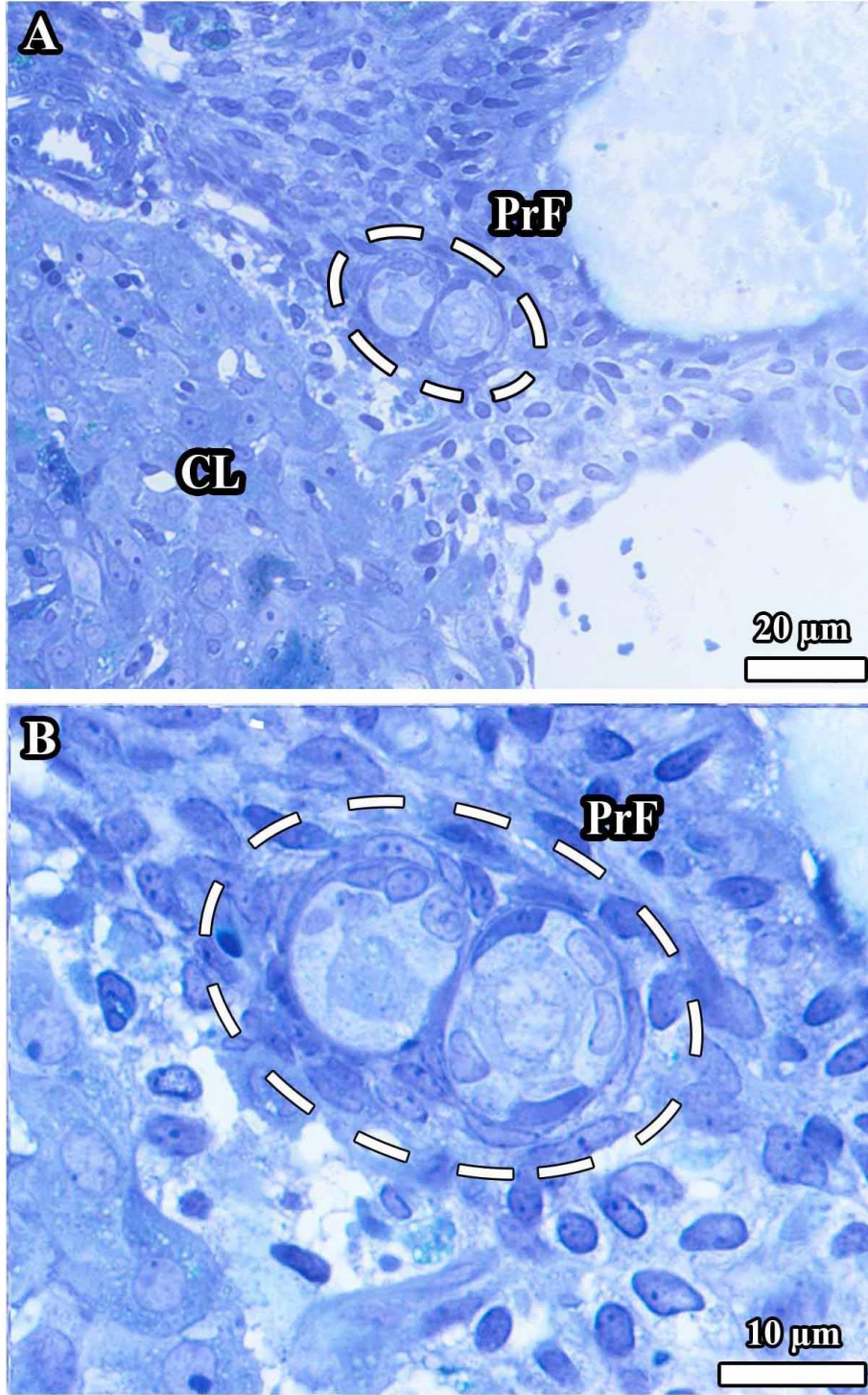


**Şekil 44.** Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumun genel görüntüsü gözlenmektedir. Ovaryumun yapısındaki korpus luteumun, damarların ve foliküllerin iyi korunduğu gözlemlendi. Antral folikül (AF); damar (V); korpus luteum (CL); medulla (M); örtü epiteli (Ep)



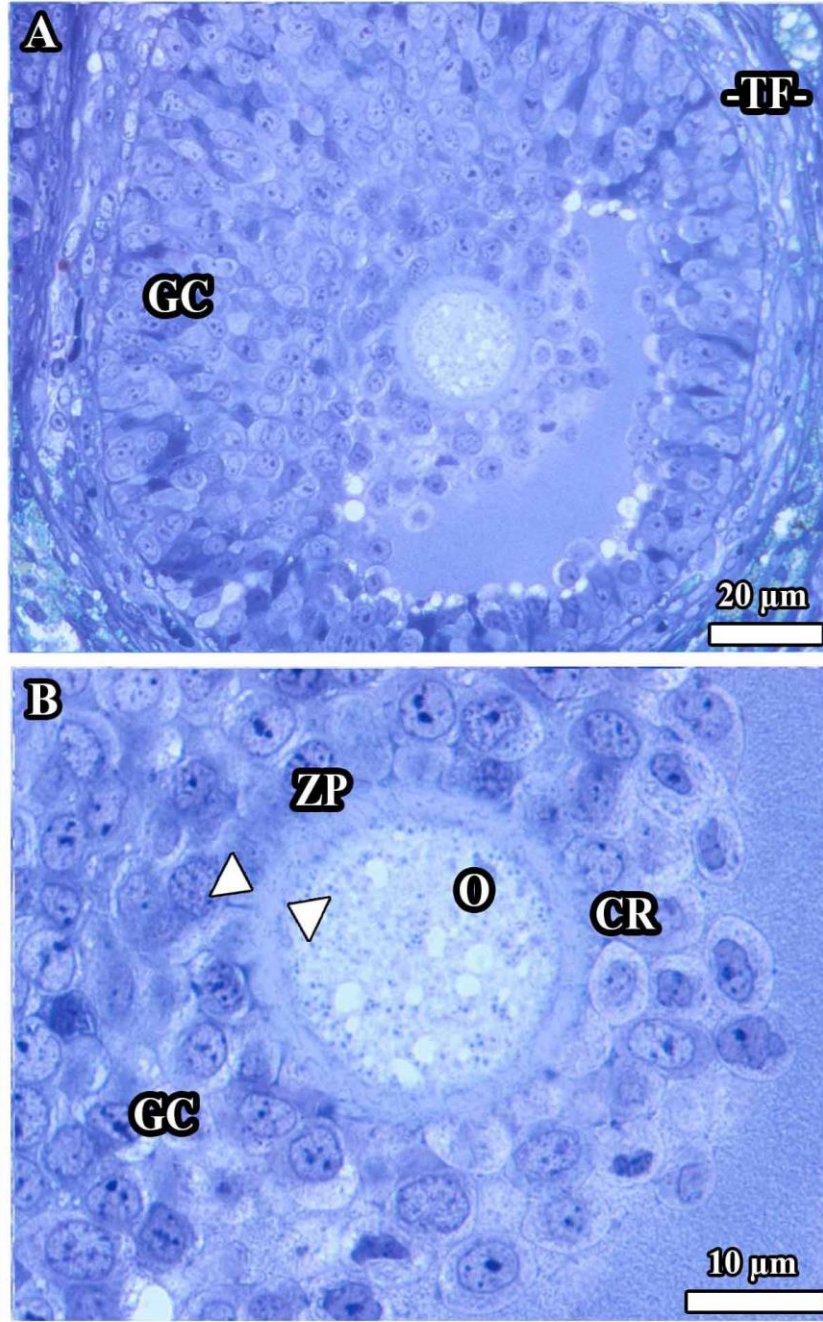


**Şekil 45.** (A) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum görülmektedir. Ovaryumun dış yüzeyini çevreleyen epitelin bazı alanlarda yassı biçimli, bazı alanlarda ise kübik biçimli olduğu gözlemlendi. Epitelin hemen altında normal görünümlü bir primordiyal folikül fark edilmektedir. Yine epitele yakın bir alanda yerleşim gösteren bir antral folikül bulunmaktadır. Folikülün sağ tarafında çok sayıda farklı büyüklükte boşlukların olduğu bir bağ dokusu gözlenmektedir. (B) Merkezi yerleşimli oositin etrafında bulunan kalın bir zona pellusidanın ve onun etrafını çevreleyen normal yapıda korona radiata hücrelerinin varlığı dikkat çekmekteydi. Normal yapıda olan granulozum hücrelerinin arasında çok az sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı, folikülün etrafını çevreleyen teka folikülünün iyi korunmuş yapısı fark edilmekteydi. Granuloza hücreleri (GC); oosit (O); primordiyal folikül (PrF, çerçeve); teka folikülü (TF); zona pellusida (ZP)

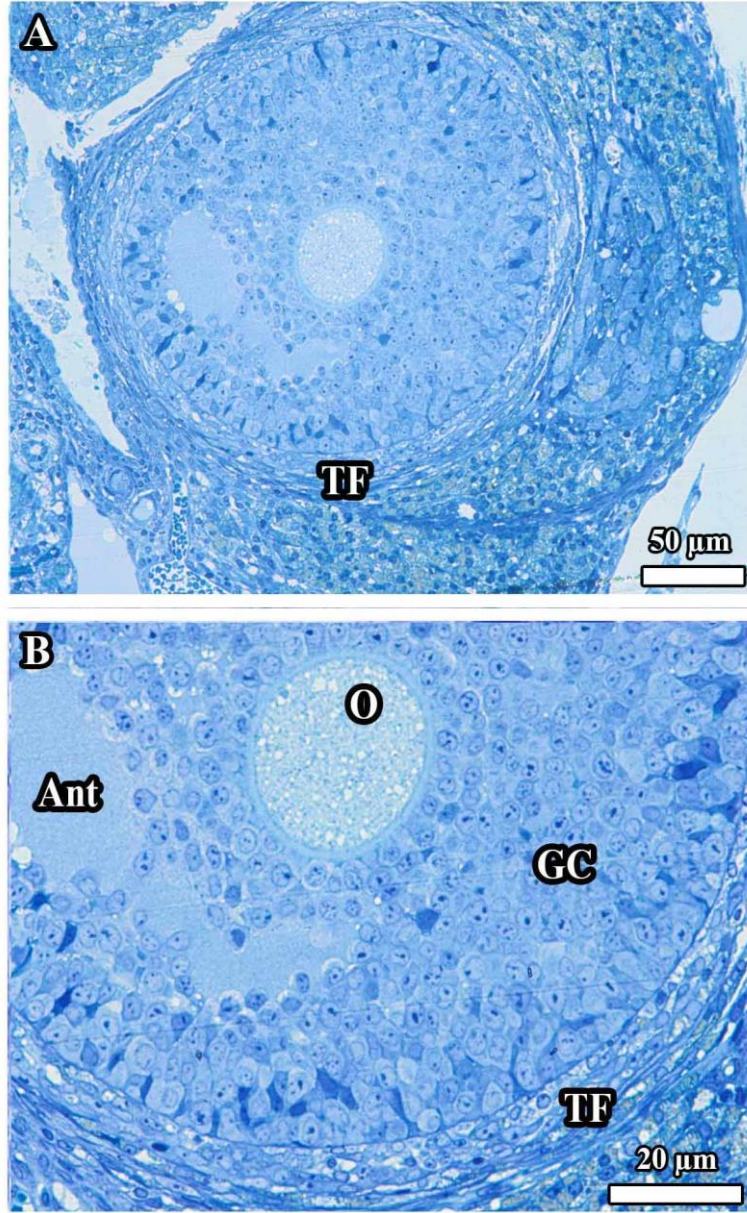


**Şekil 46.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumun korteksinde yan yana bulunan iki tane primordiyal folikül ve onların yakınında yerleşen ve hücre sınırları çok iyi fark edilemeyen korpus luteum görülmektedir. (B) Yapısında belirgin oosit bulunduran primordiyal foliküllerin etrafının tek katlı yassı biçimli folikül hücreleri tarafından çevrelediği gözlemlendi. Korpus luteum (CL); primordiyal folikül (PrF)



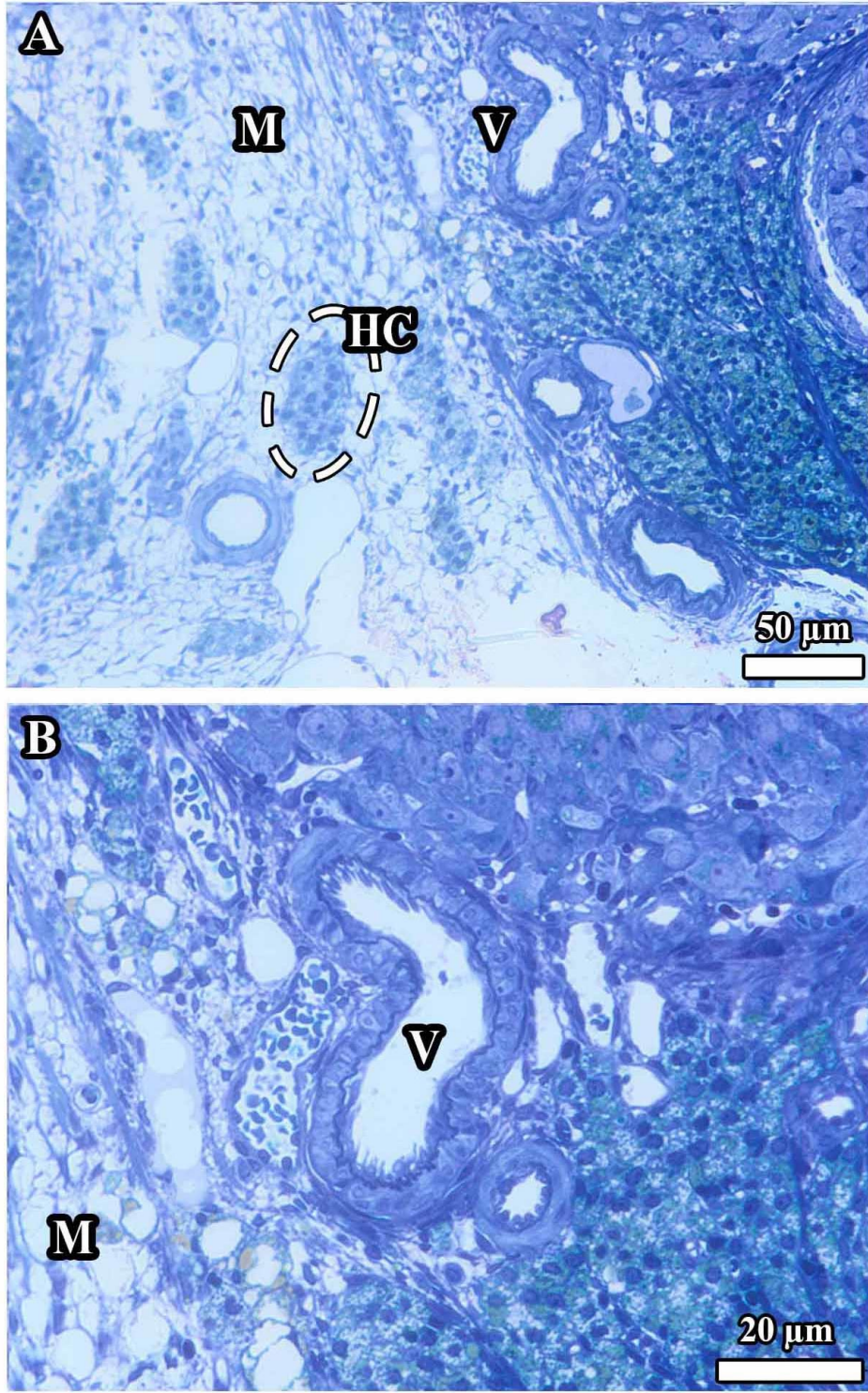


**Şekil 47.** (A) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum korteksinde geniş bir yer kaplayan antral folikül gözlenmektedir. Folikülün etrafındaki teka folikülü normal yapıdadır. Granülozum hücreleri arasında çok az sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı, bu grupta kullanılan E vitamininin koruyucu olduğunu düşündürmektedir. (B) Foliküle ait granüloza hücreleri ve folikülün merkezinde bulunan oosit normal yapıda gözlenmektedir. Oositi çevreleyen zona pellusida belirgin olup, korona radiata hücreleri tarafından çevrelenmektedir. Granülozum hücrelerinin hem çekirdekleri hem de hücre sınırları belirgindi. Granüloza hücreleri (GC); korona radiata (CR); oosit (O); teka folikül (TF); zona pellusida (ZP)



**Şekil 48.** (A) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum korteksinde geniş bir yer kaplayan antral folikül gözlenmektedir. Folikülün yapısında birden fazla sayıda antrumun olduğu, bunların daha sonra birleşerek tek bir antrum haline geldiği bilinmektedir. (B) Merkezinde iyi korunmuş bir oosit bulunduran antral folikülün çevresinde normal yapıda teka folikülü gözlenmektedir. Bu safhada oositin yapısındaki çekirdek, zarın erimesi nedeniyle fark edilememektedir. Teka folikülünün interna ve eksterna tabakaları birbirinden ayırt edilebilmektedir. Teka folikülü ile granülozum hücreleri arasındaki bazal membran belirgin olarak gözlenmektedir. Granülozum hücreleri arasında yer yer koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkat çekmektedir. Foliküle ait granüloza hücreleri ile folikülün merkezinde bulunan oosit görülmekte ve oositi çevreleyen belirgin bir zona pellusida dikkat çekmektedir. Antrum (Ant); granüloza hücreleri (GC); oosit (O); teka folikülü (TF); zona pellusida (ZP)



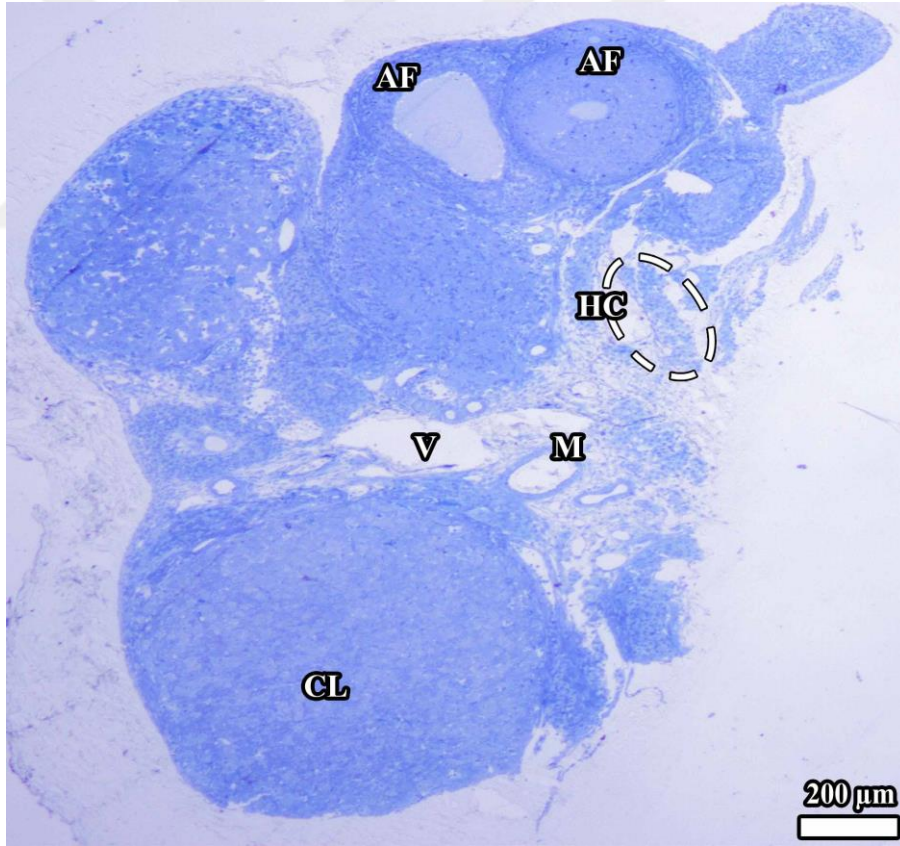


**Şekil 49.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum medullasına ait görüntüler, gevşek bağ dokusu özelliğinde olan dokunun yapısında farklı çaplarda olan kan damarları gözlenmektedir. Damar (V); hilus hücreleri (HC); medulla (M)

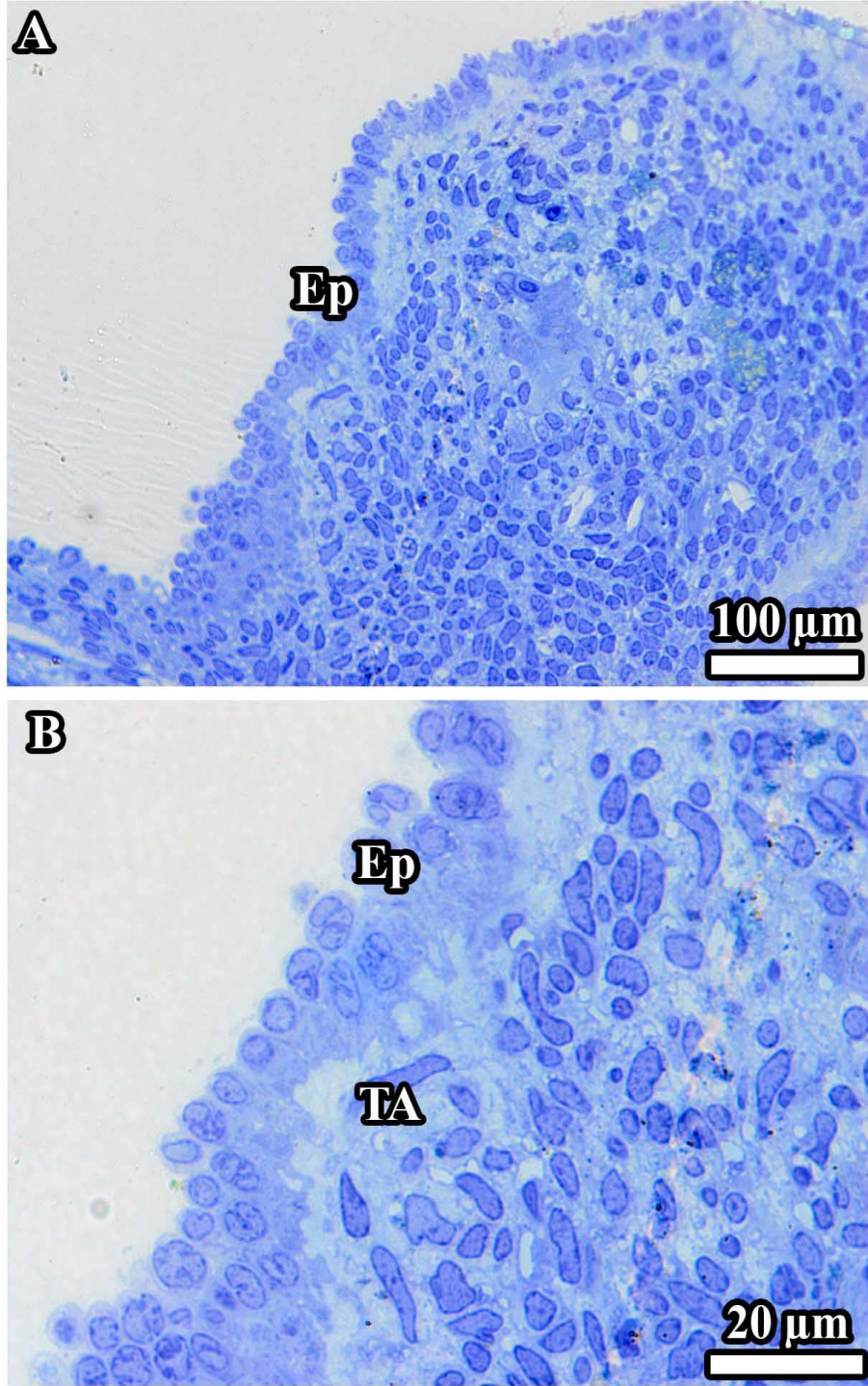


### Vitamin E grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

Vitamin E grubu ovaryum dokularına ait yarı-ince kesitler incelendiğinde; ovaryumun dış yüzünün tek katlı kübik epitel ile çevrelendiği, epitel hücrelerinin normal yapıda, epitel altındaki tunika albugineanın belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil 50, 51). Organın yapısına bakıldığında foliküllerin, korpus luteumun ve medullasının normal yapıda olduğu fark edildi (Şekil 50). Ovaryum korteksinde bulunan antral foliküllerinin granüloza hücreleri arasında belirgin antrumlar ayırt edilmekteydi. Folikül merkezinde bulunan oosit ve oositi çevreleyen kalın bir zona pellusidanın varlığı dikkat çekmekteydi. Zona pellusidanın etrafında normal morfolojik yapıya sahip, düzenli yerleşimli korona radiata hücreleri ayırt edilmekteydi. (Şekil 52). Ovaryum medullasında gevşek bağ dokusu özelliğinde olan doku, yapısında farklı çapta kan damarları bulundurmaktaydı. Ayrıca geniş çaplı lenf damarları da gözlemlendi (Şekil 53).

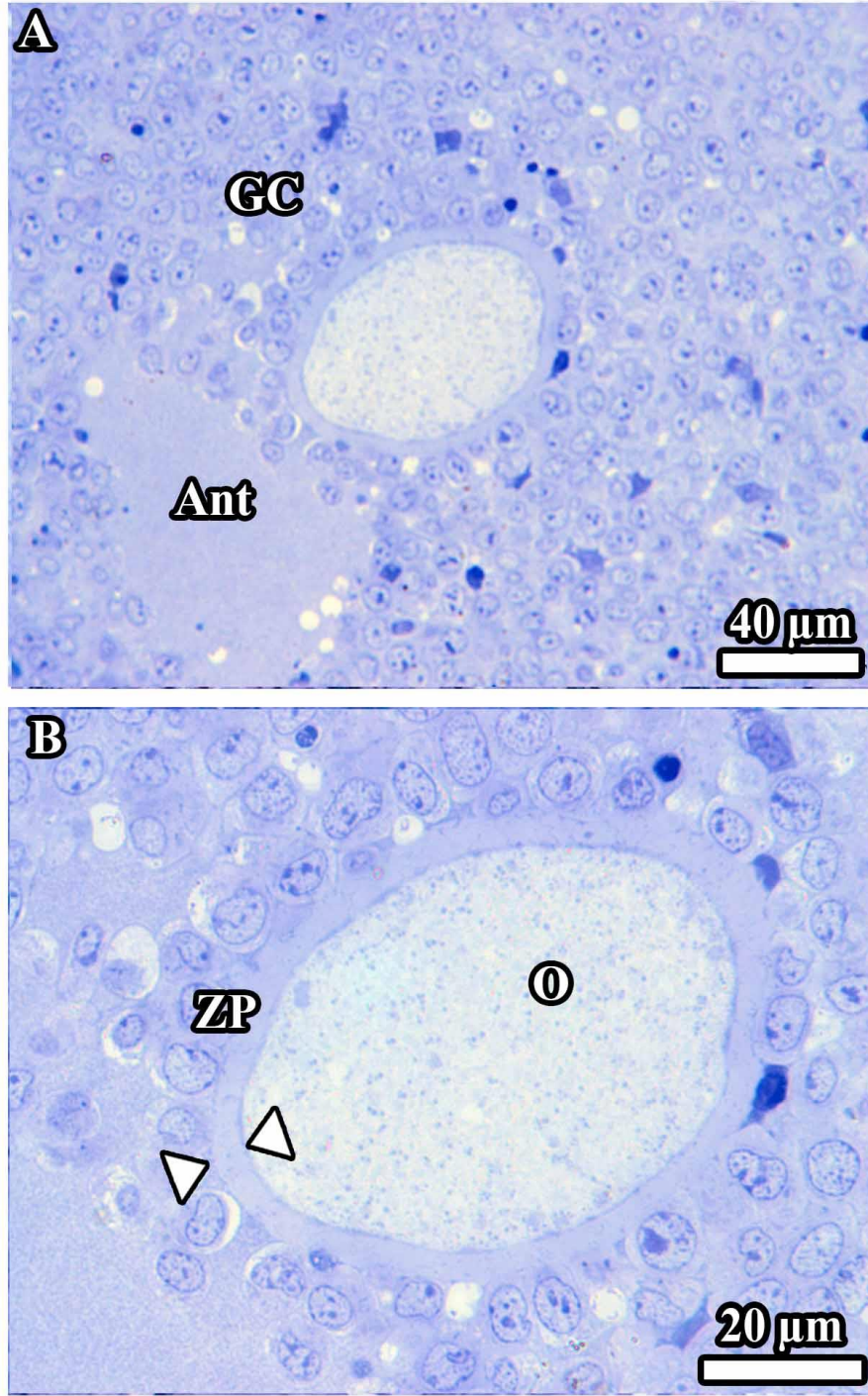


**Şekil 50.** Vitamin E grubuna ait ovaryum genel görüntüsü. Organın yapısına bakıldığında foliküllerin, korpus luteumun ve medullasının normal yapıda olduğu fark edilmektedir. Antral folikül (AF); damar (V); hilus hücreleri (HC); korpus luteum (CL); medulla (M)

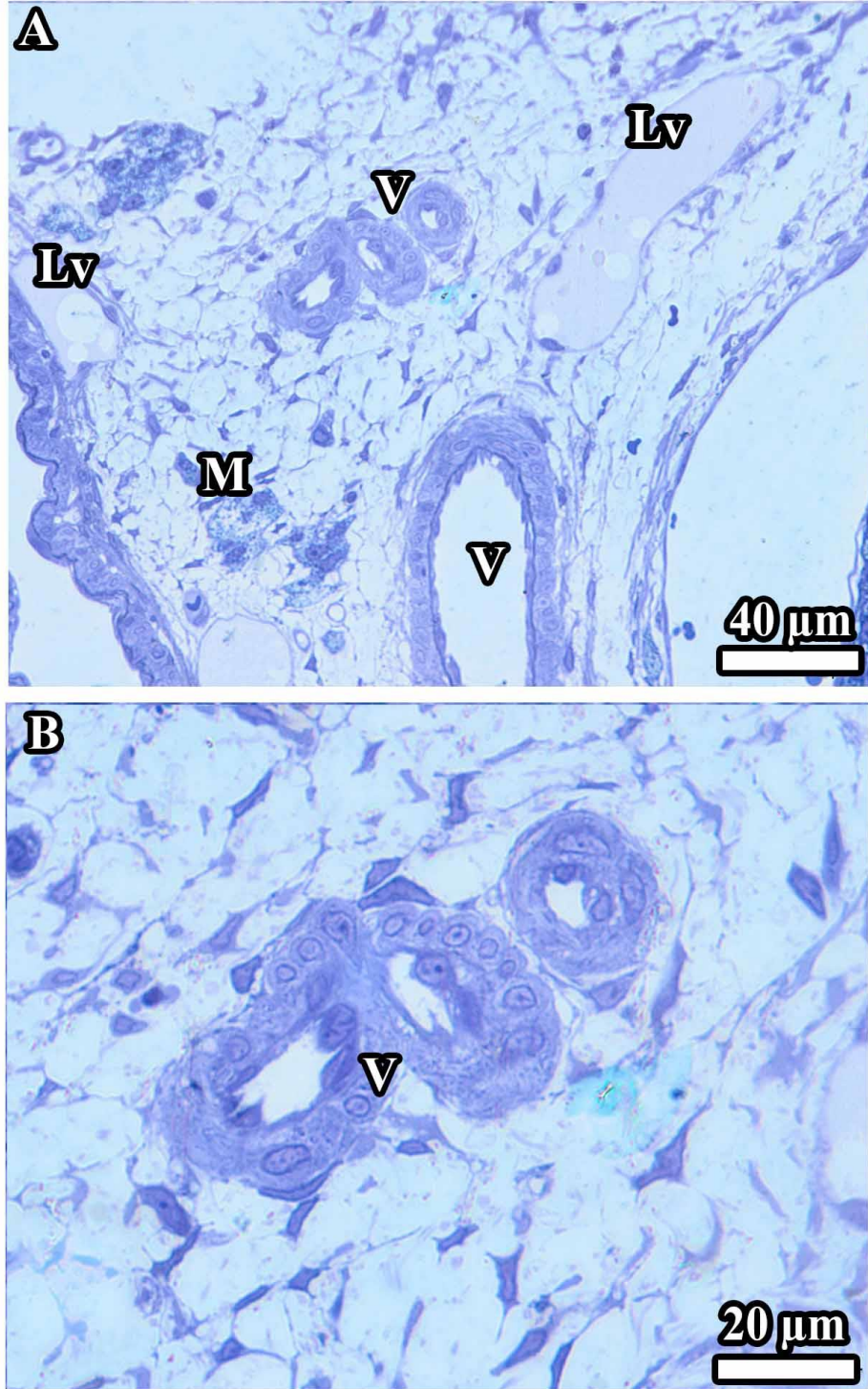


**Şekil 51.** (A, B) Vitamin E grubuna ait ovaryum korteksi görülmektedir. Organın dış yüzünün tek katlı kübik epitel ile çevrelendiği, epitel hücrelerinin normal yapıda, epitel altındaki tunika albugineanın belirgin olduğu gözlenmektedir. Tunika albugineanın hemen altında normal yapıdaki bağ dokusu fark edilmektedir. Örtü epiteli (Ep); tunika albuginea (TA)





Şekil 52. (A, B) Vitamin E grubuna ait ovaryum korteksinde antral folikül gözlenmektedir. Granüloza hücrelerinin arasında belirgin bir antrum ayırt edilmektedir. Granülozum hücreleri arasında yer yer koyu boyanan hücreler bulunmaktadır. (B) Folikül merkezinde bulunan oosit ve oositi çevreleyen kalın bir zona pellusida dikkat çekmektedir. Zona pellusidanın etrafında düzenli yerleşimli korona radiata hücreleri görülmektedir. Antrum (Ant); granüloza hücreleri (GC); oosit (O); zona pellusida (ZP)



**Şekil 53.** (A, B) Vitamin E grubunda ovaryum medullasına ait görüntüler. Gevşek bağ dokusu özelliğindeki dokuda farklı çaplarda olan kan damarları gözlenmektedir. Ayrıca geniş çaplı lenf damarı olduğunu düşündüğümüz yapılar da görülmektedir. Lenf damarları büyük çaplı olmalarına karşın lümenleri açıktı. Damar (V); medulla (M); Lenf damarı (Lv)

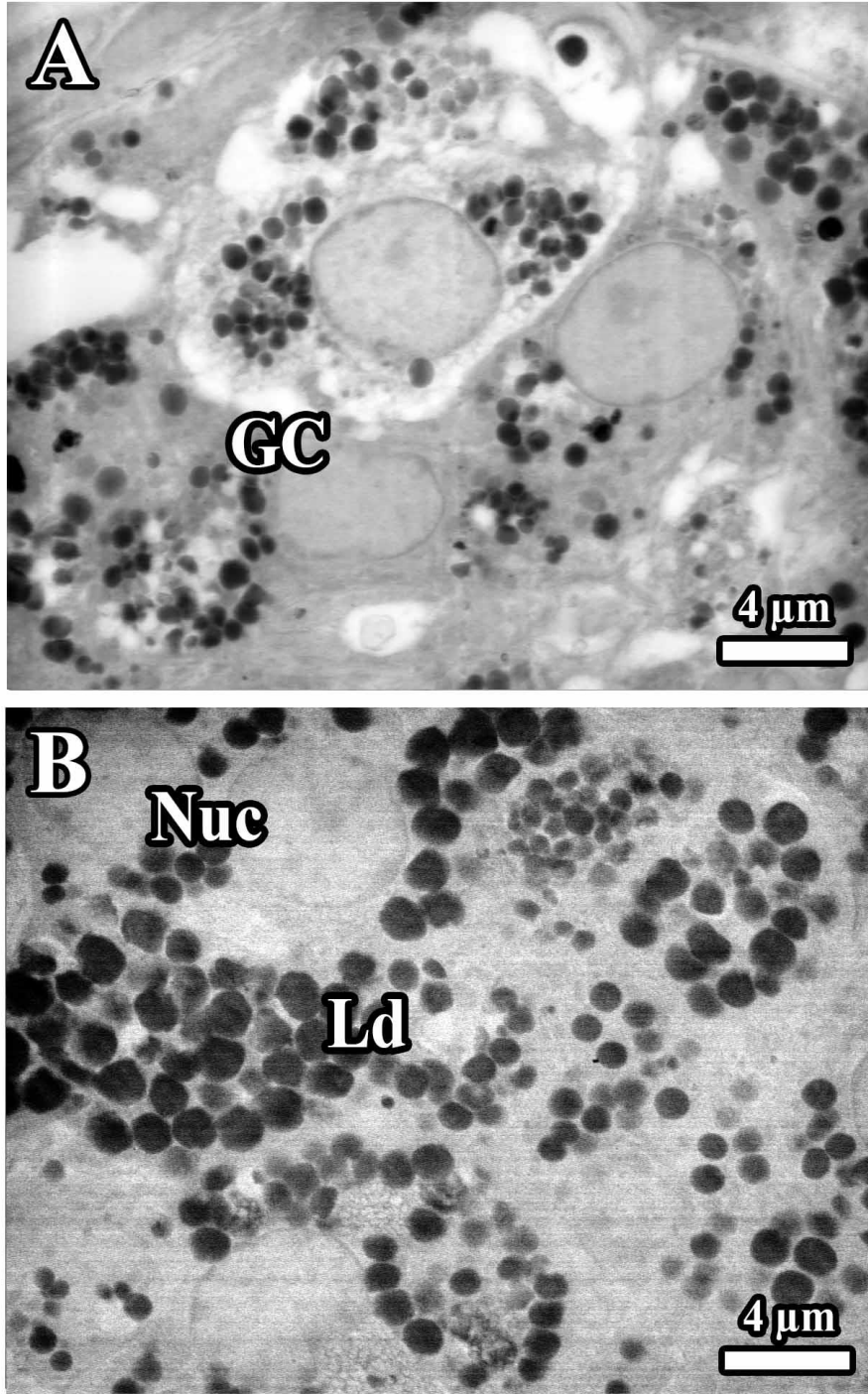
#### **4.6.2. Elektron Mikroskopik Bulgular**

##### **TEM Görüntülerinden Elde Edilen Bulgular**

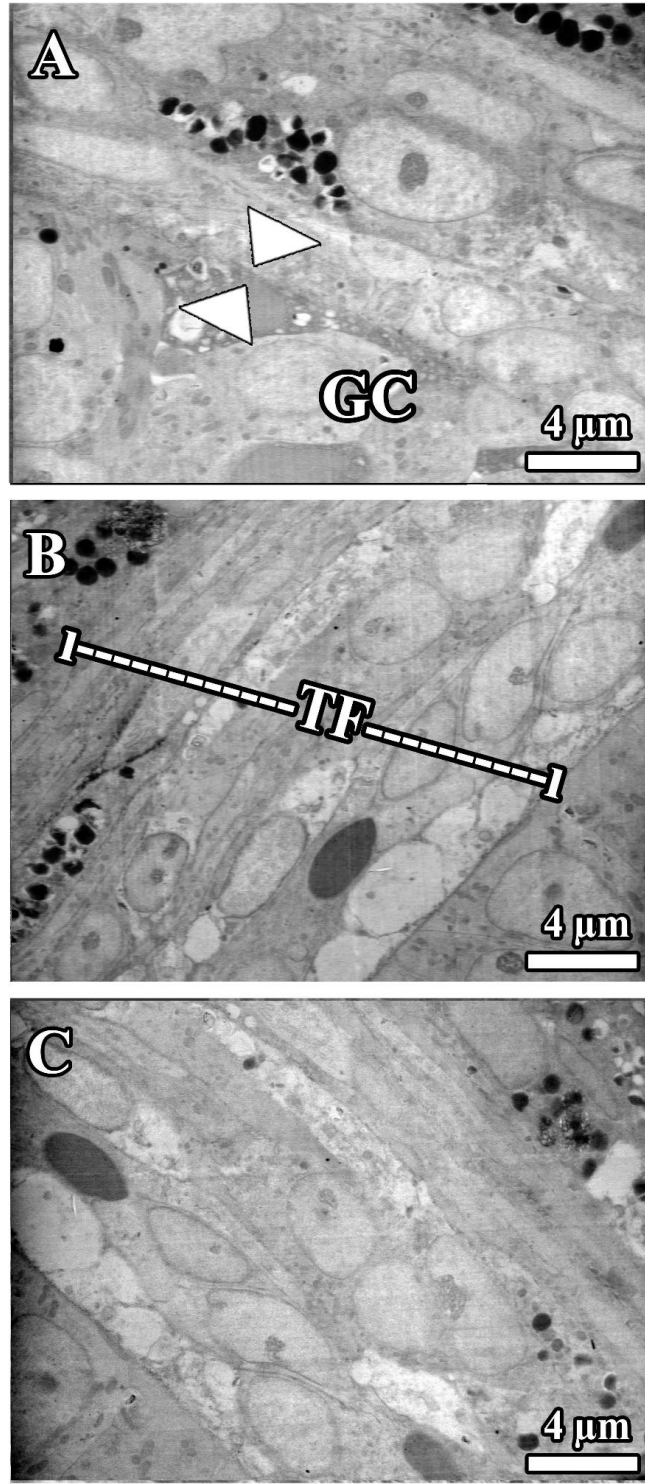
###### **Kontrol Grubuna Ait TEM Bulguları**

Kontrol grubu ovaryum dokularına ait TEM görüntüleri incelendiğinde; ovaryum dokusunda granülozum hücrelerinin ve hücre içeriğinin normal yapıda olduğu, hücre çekirdeklerinin sınırlarının kolayca ayırt edilebildiği gözlenmekteydi. Granülozum hücrelerinin içerisindeki lipid damlacıklarının farklı boyutlarda olduğu gözlemlendi (Şekil 54). Kontrol grubunda granülozum hücrelerinin ve bu hücreleri çevreleyen teka folikülünün normal yapıda olduğu fark edildi. Teka folikülünün interna ve eksterna tabakaları kolayca ayırt edilebilmekteydi. Granülozum hücreleri ile teka folikülü arasındaki bazal membranın normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 55). Korpus luteuma yakın yerleşim gösteren çeşitli boyutlarda makrofajlar fark edilmekteydi (Şekil 56). Makrofajın yapısında fagosite edilmiş farklı boyutlarda fagozomların varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 58, 57, 59).

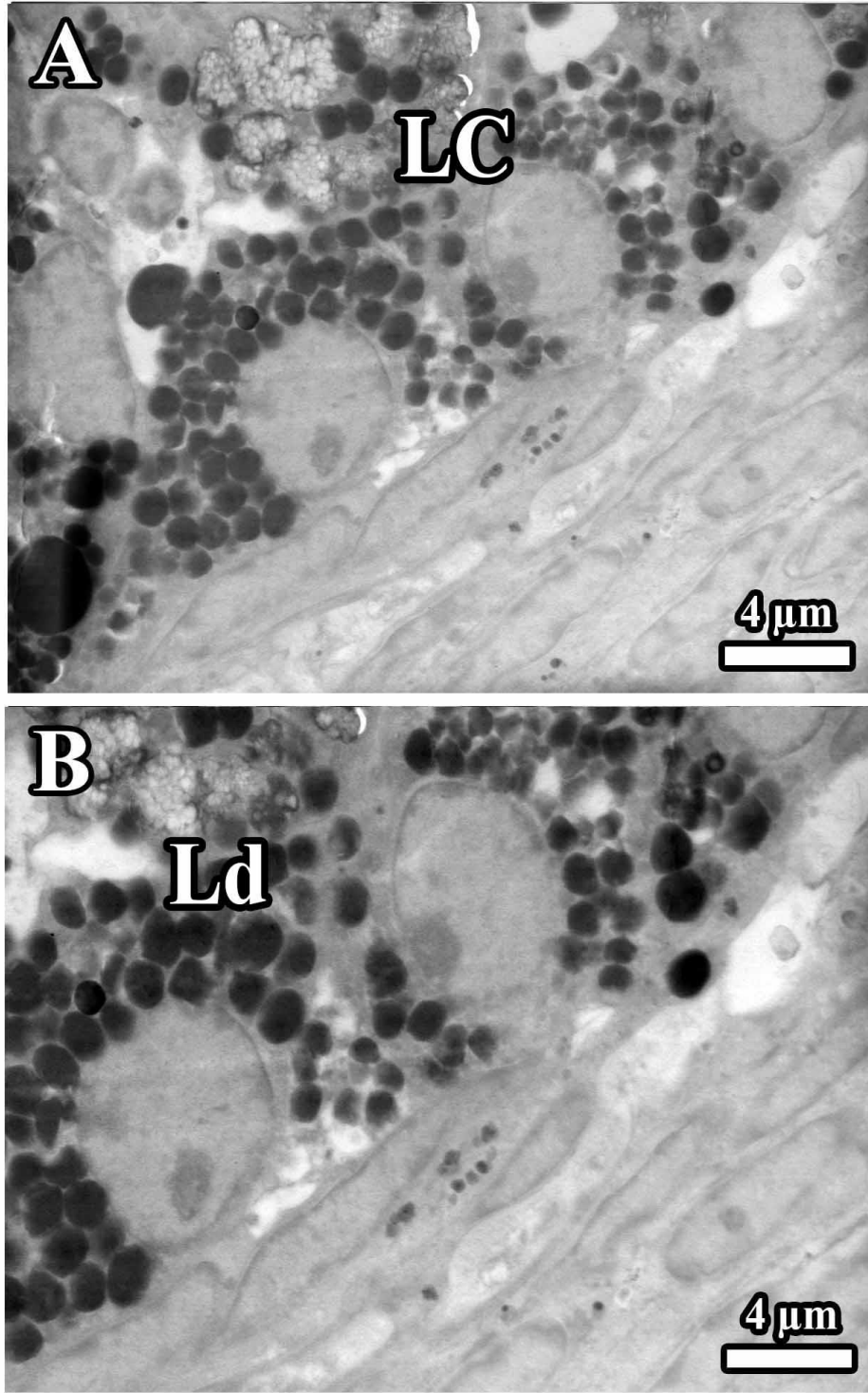




**Şekil 54.** (A, B) Kontrol grubuna ait ovaryum dokusunda granülozum hücreleri ve hücrelerin yapısındaki lipid damlacıkları gözlenmektedir. Hücre ve içeriğinin normal yapıda olduğu, çekirdek sınırlarının kolayca ayırt edilebildiği gözlendi. Hücre içerisindeki lipid damlacıklarının farklı boyutlarda olduğu görüldü. Granülozum hücreleri (GC); lipid damlacıkları (Ld); çekirdek (Nuc)

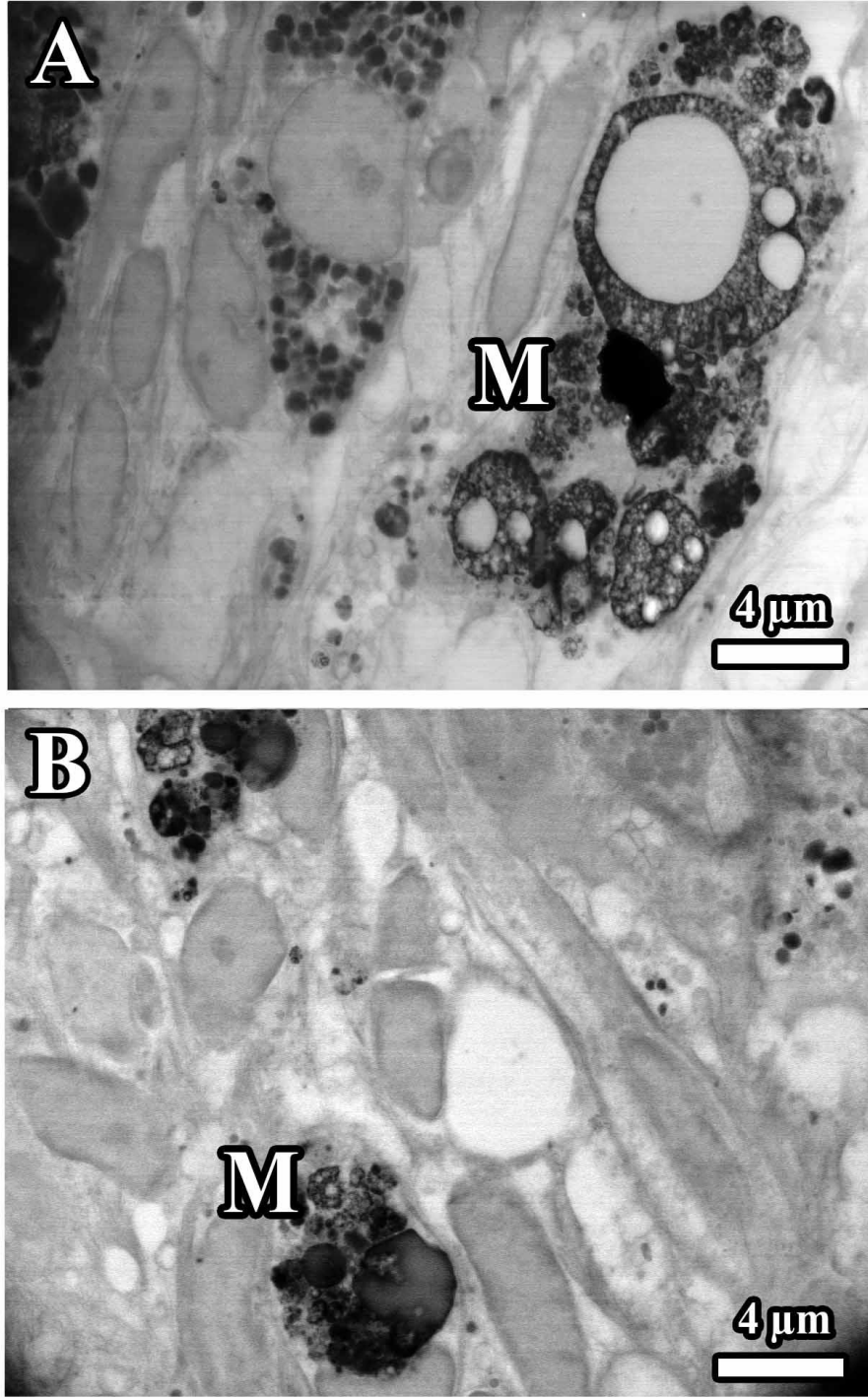


**Şekil 55.** (A, B, C) Kontrol grubuna ait ovaryum dokusunda granülozum hücrelerini çevreleyen teka folikülü gözlenmektedir. Teka folikülünün ve granülozum hücrelerinin normal yapıda olduğu, teka folikülünün interna ve eksterna tabakaları kolayca ayırt edilebilmektedir. Granülozum hücreleri ile teka folikülü arasındaki bazal membran normal yapıdaydı. Granülozum hücreleri (GC); bazal membran (ok başı); teka folikülü (TF)

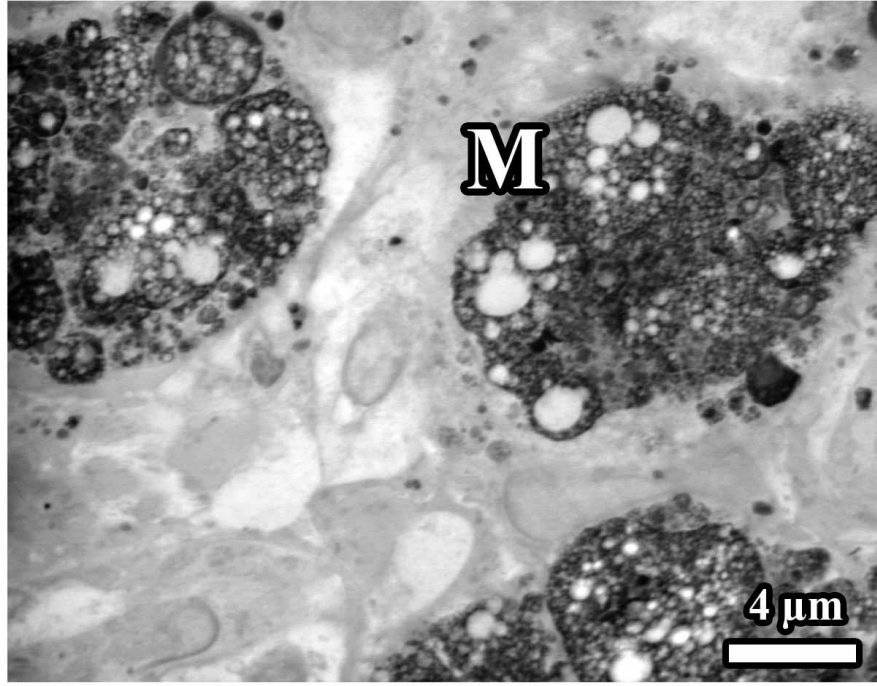


**Şekil 56.** (A, B) Kontrol grubuna ait ovaryum dokusunda korpus luteum hücreleri ve hücrelerin yapısındaki lipid damlacıkları gözlenmektedir. Korpus luteumun etrafını sirküler düzenlenen hücrelerin çevrelediği ve bunların normal yapıda olduğu gözlemlendi. Lütein hücreleri (LC); lipid damlacıkları (Ld)

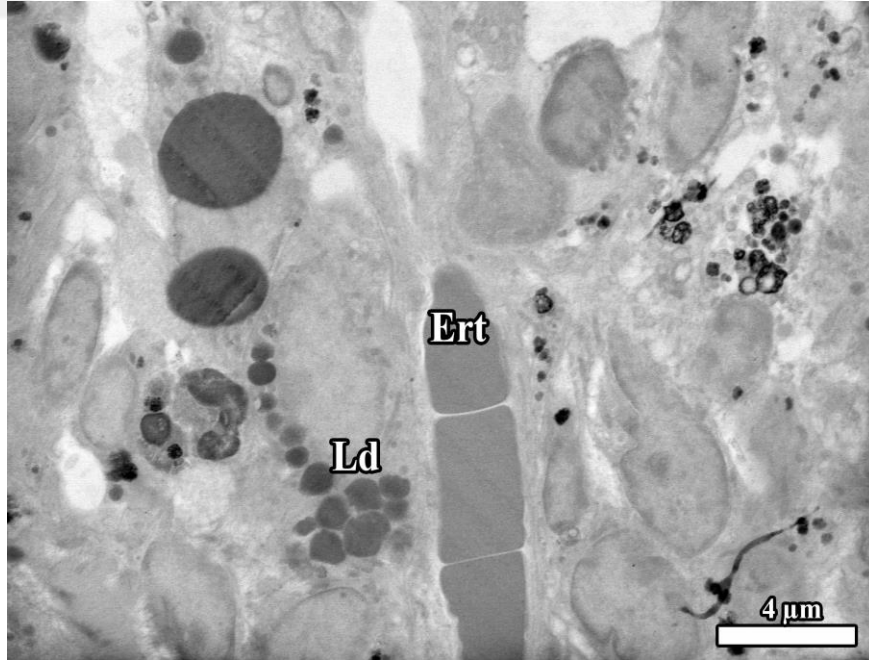




Şekil 57. (A, B) Kontrol grubuna ait ovaryumda makrofajlar gözlenmektedir. (A) Korpus luteuma yakın yerleşim gösteren büyük boyutlu bir makrofaj görülmektedir. Makrofajın yapısında fagosite edilmiş farklı boyutlarda fagozomlar görüldü. (B) Bağ dokusunda gözlenen küçük boyutlu makrofajın sitoplazması içinde çok yoğun boyanmış farklı boyutta fagozomların varlığı dikkat çekmekteydi. Makrofaj (M)



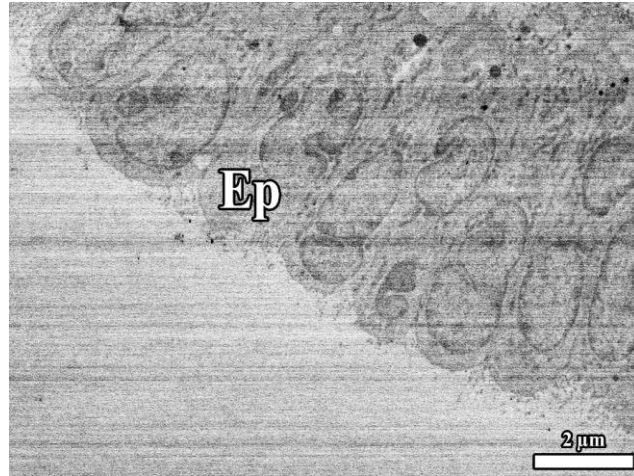
Şekil 58. Kontrol grubuna ait ovaryumda çok sayıda farklı boyutta makrofaj görülmektedir. Hücre içerisindeki fagozomların farklı boyutta ve yoğunluklarının farklılığı dikkat çekmektedir. Makrofaj (M)



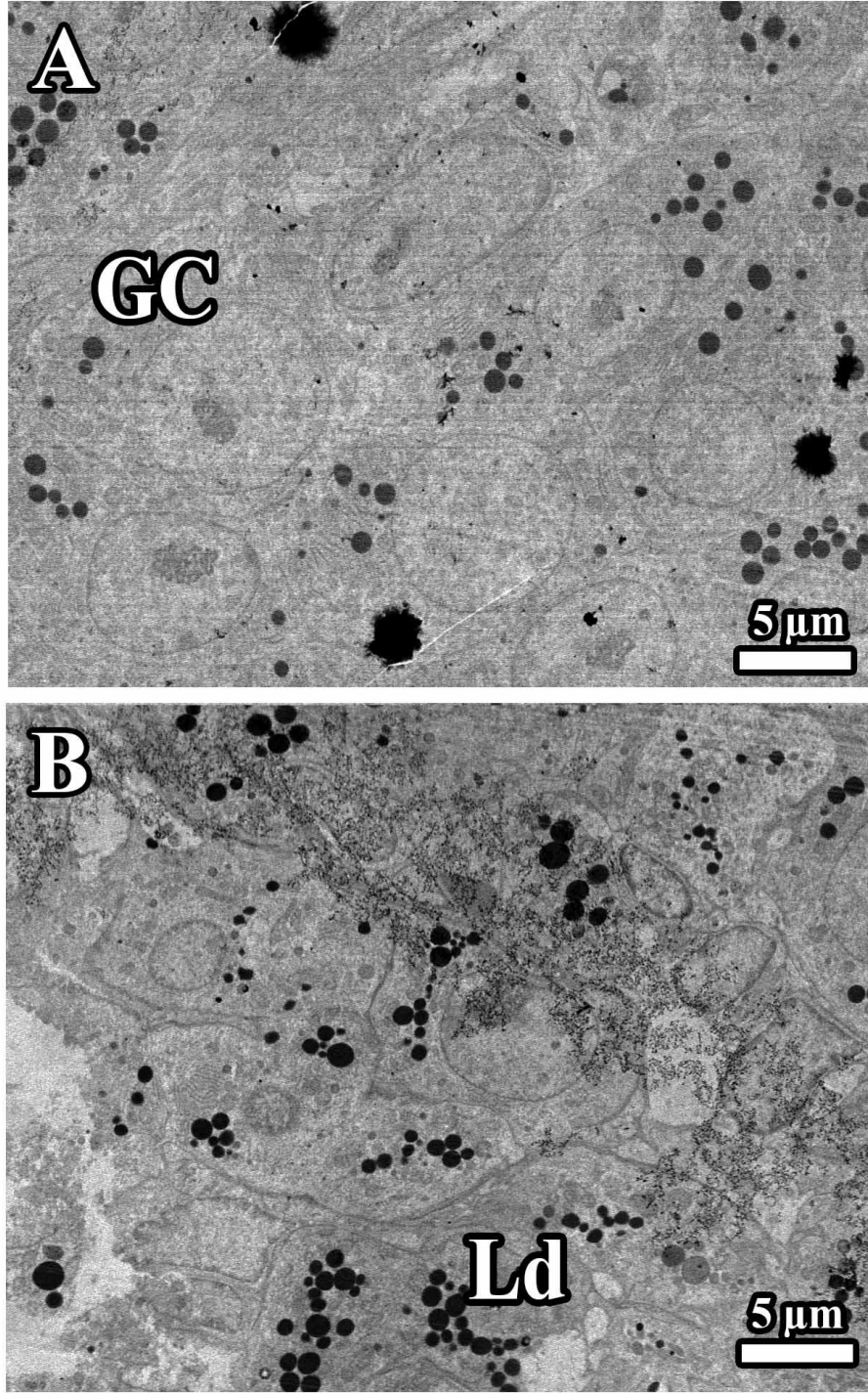
Şekil 59. Kontrol grubuna ait ovaryumda bir kapiller içerisinde küme oluşturmuş eritrositler görülmektedir. Yapısında büyük boyutta lipid damlacığı olan hücrelerin varlığı ile birlikte küçük boyutlu makrofajın varlığı dikkat çekmektedir. Eritrosit (Ert); lipid damlacıkları (Ld)

### Sham Grubuna Ait TEM Bulguları

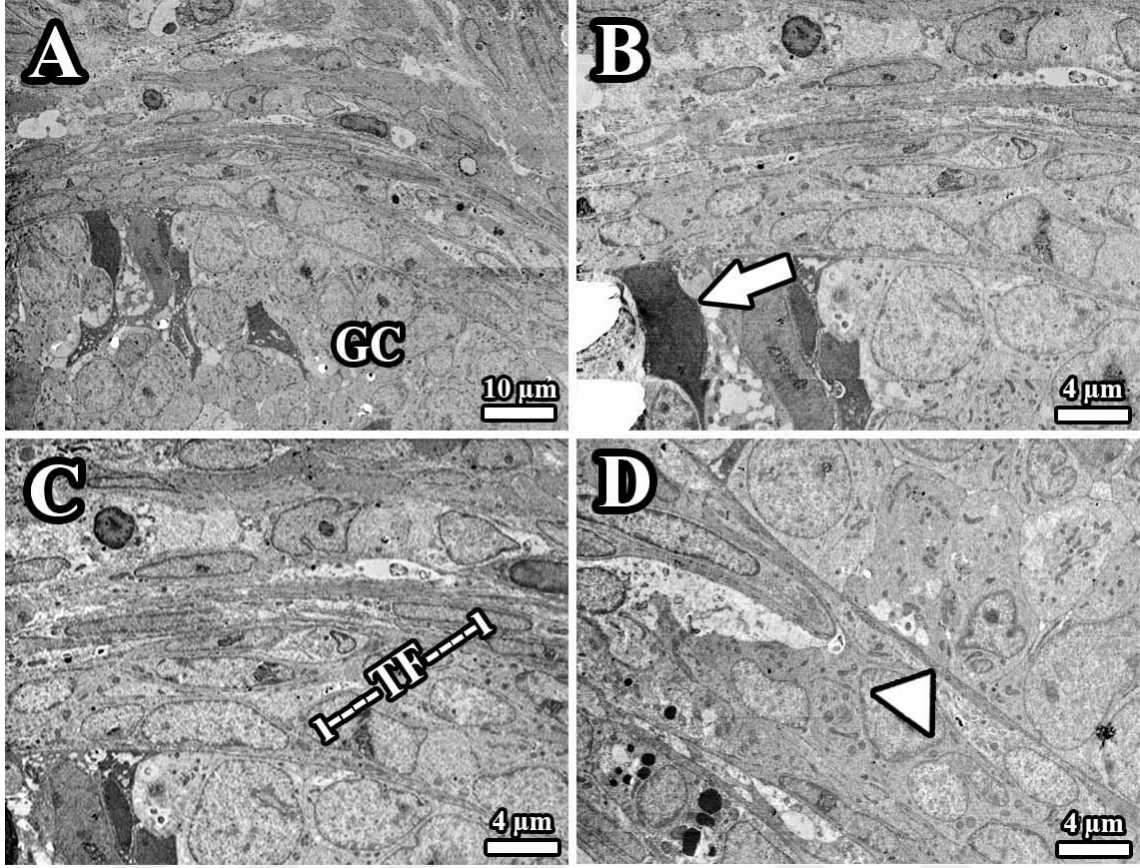
Sham grubu ovaryum dokularına ait TEM görüntüleri incelendiğinde; ovaryumun dış yüzeyini saran kübik şekilli epitelin iyi korunduğu, hücreler arası aralığın normal olduğu, apikallerinde farklı boyutta ve uzunlukta sitoplazmik uzantıların varlığı dikkat çekmekteydi. Epitel hücre çekirdekleri ve çekirdekçiklerinin sınırları kolayca ayırt edildi (Şekil 60). Ovaryumdaki foliküllerin yapısındaki granülozum hücrelerinin normal morfolojide olduğu gözlemlendi. Hücre, hücre çekirdeklerinin ve hücre sitoplazmasındaki organellerin sınırları belirgin olup, hücreler arası aralığın normal olduğu görüldü (Şekil 61). Lutein hücrelerinin içerisindeki lipid damlacıkları farklı boyutlardaydı. Teka folikülünün normal yapıda olduğu, interna ve eksterna tabakalarının kolayca ayırt edilebildiği gözlemlendi. Foliküldeki granülozum hücreleri arasında koyu boyanan ve dejenerasyona uğradığı düşünülen hücrelerin varlığı dikkat çekmekteydi. Granülozum hücreleri ile teka folikülü arasındaki bazal membranın normal yapıda olduğu görüldü (Şekil 62). Korpus luteum hücreleri ve çekirdeklerinin sınırları belirgindi (Şekil 63). Sham grubuna ait ovaryumda farklı boyutlarda makrofajlar ve makrofajların yapısında çok sayıda vakuoller fark edildi (Şekil 64, 65). Bu gruba ait ovaryumda damar lümenini döşeyen endotel hücreleri ile çekirdeklerinin sınırları belirgindi. Duvarındaki düz kas hücreleri normal yapıda olup hücreler arası aralık normaldi (Şekil 66).



**Şekil 60.** Sham grubuna ait ovaryumun yüzeyini örten epitel görülmektedir. Kübik şekilli epitelin iyi korunduğu, hücreler arası aralığın normal olduğu, apikallerinde farklı boyutta ve uzunlukta sitoplazmik uzantıların varlığı dikkat çekmektedir. Epitel hücre çekirdekleri ve çekirdekçiklerinin sınırları kolay ayırt edilebilmektedir. Yüzey epiteli (Ep)

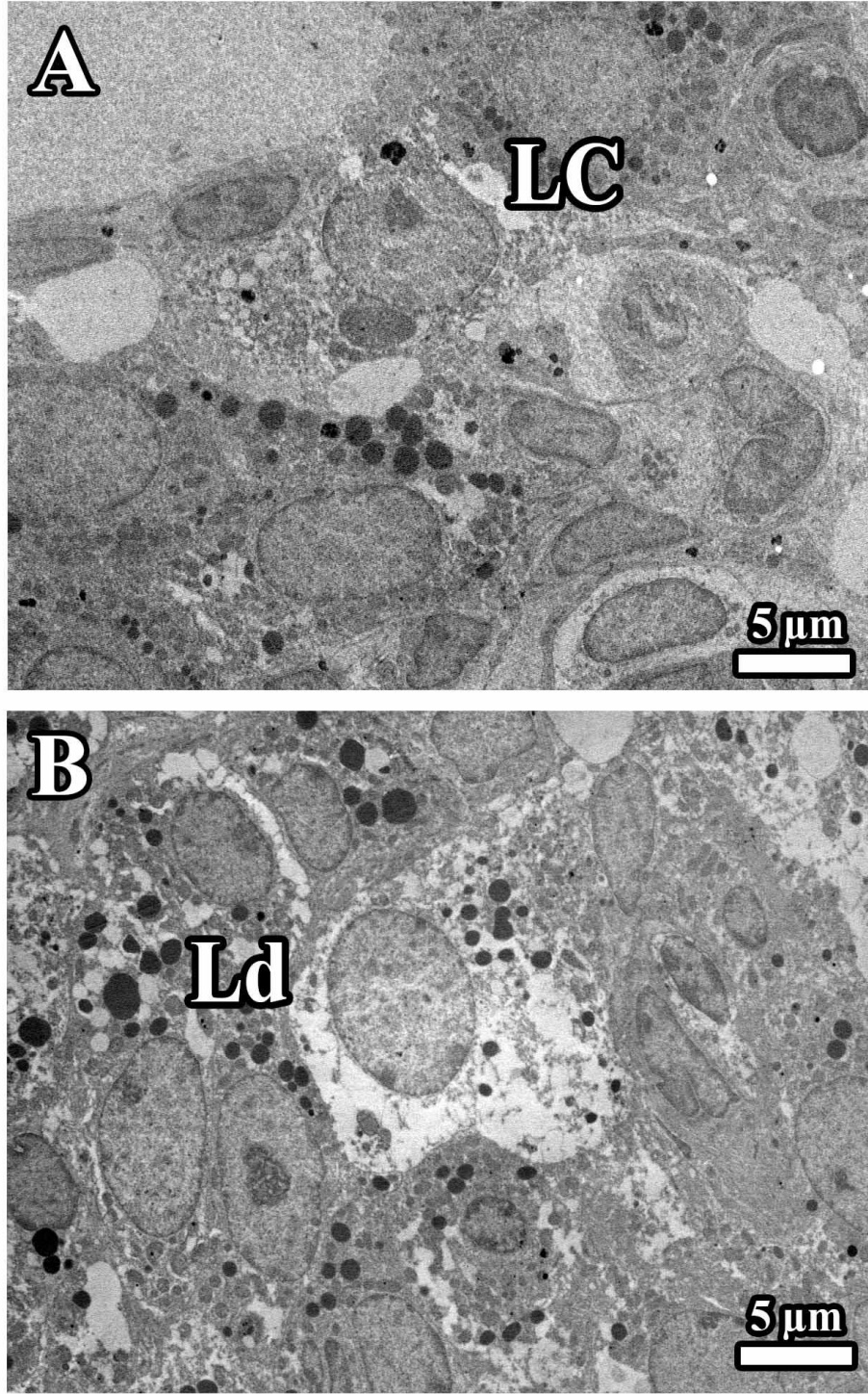


**Şekil 61.** (A, B) Sham grubuna ait ovaryumda folikül yapısında bulunan granülozum hücrelerinin normal morfolojide olduğu görülmektedir. Hücre ve çekirdek sınırları belirgin olup, hücre içerisindeki lipid damlacıkları farklı boyuttadır. Hücre sitoplazmasındaki organellerin sınırları belirgin olup, hücreler arası aralık normaldir. Granülozum hücreleri (GC); lipid damlacıkları (Ld)



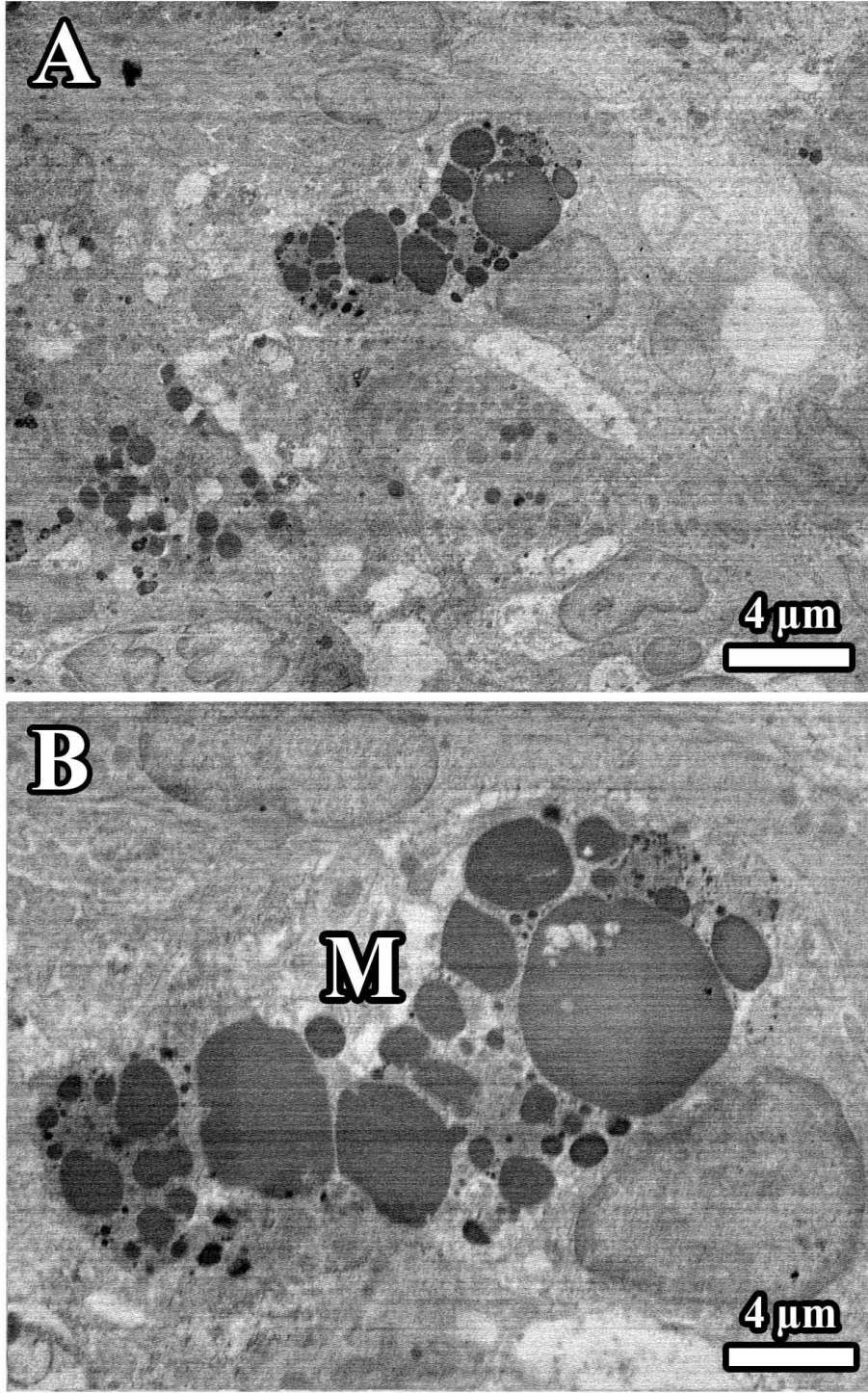
**Şekil 62.** (A, B, C, D) Sham grubuna ait ovaryumda granülozum hücrelerini çevreleyen teka folikülü gözlenmektedir. Teka folikülünün normal yapıda olduğu, interna ve eksterna tabakalarının kolayca ayırt edilebildiği görülmektedir. (A, B) Foliküldeki granülozum hücreleri arasında koyu boyanan ve dejenerasyona uğrayacağı düşünülen hücrelerin varlığı dikkat çekmektedir. Granülozum hücreleri ile teka folikülü arasındaki bazal membran normal yapıda görülmektedir. Dejenere granülozum hücreleri (ok); bazal membran (ok başı); granülozum hücreleri (GC); teka folikülü (TF)



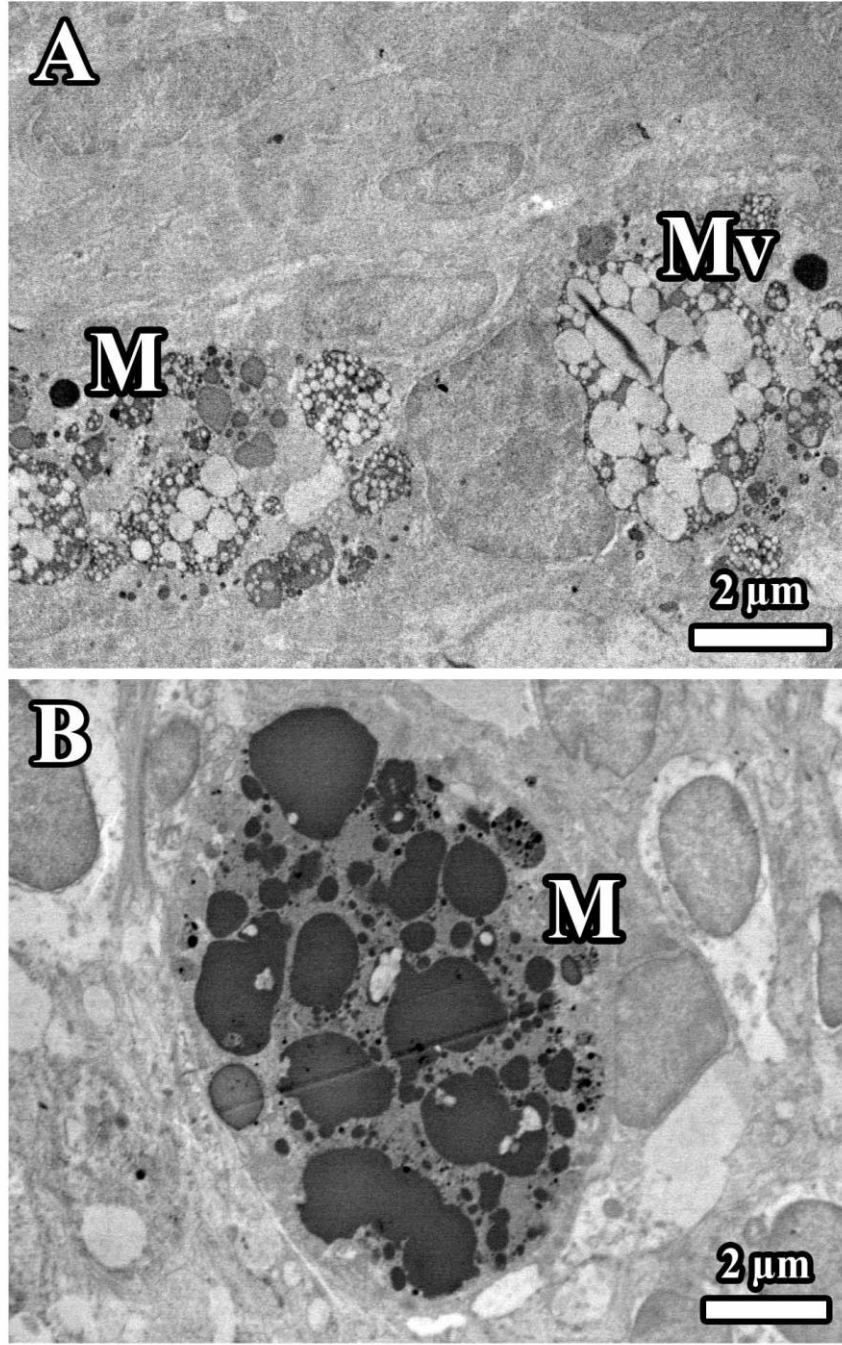


**Şekil 63.** (A, B) Sham grubuna ait ovaryumda korpus lütein hücreleri ve hücrenin yapısındaki lipid damlacıkları gözlenmektedir. Lüteal hücrelerin etrafında kapillerler ve bu hücreler arasında çok sayıda aralıkların varlığı dikkat çekmektedir. Hücre çekirdeklerinin sınırları belirgin olup, sitoplazma içerisinde farklı boyutta sınırları kolayca seçilen lipid damlacıkları fark edilmektedir. Lipid damlacıkları (Ld); Lütein hücreleri (LC)

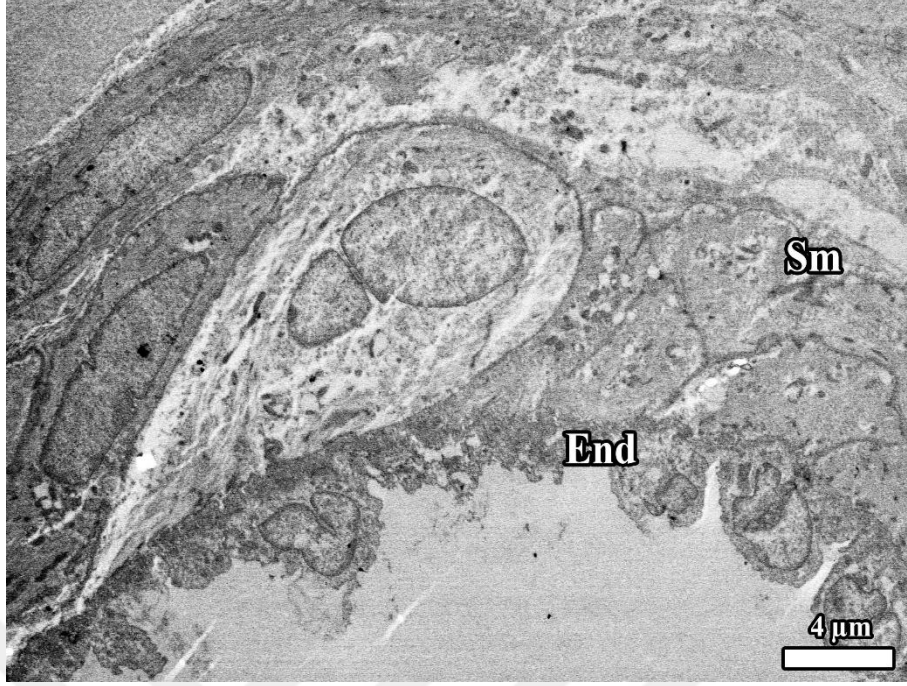




**Şekil 64.** (A, B) Sham grubuna ait ovaryum yapısında büyük boyutlu bir makrofaj görülmektedir. Makrofaj sitoplazması içinde çok yoğun boyanmış farklı boyutta fagozomlar bulunmaktadır. Makrofaj (M)



**Şekil 65.** (A, B) Sham grubuna ait ovaryumda farklı boyutlarda olan makrofajlar gözlenmektedir. (A) Yapısında çok sayıda multivezikül bulunduran bir makrofaj görülmektedir. Bu veziküllerin bazılarında boşluklar gözlenirken diğerlerinin yoğun yapılar olduğu fark edilmektedir. Makrofajın çekirdeği hücrenin periferinde yerleşiktir. (B) Büyük boyutlu, içerisinde farklı ebatlarda fagosite edilmiş maddeler bulunduran bir makrofaj görülmektedir. Hücre içerisindeki bu granüler yapıların çok koyu olması dikkat çekmektedir. Makrofaj (M); multivezikül (Mv)

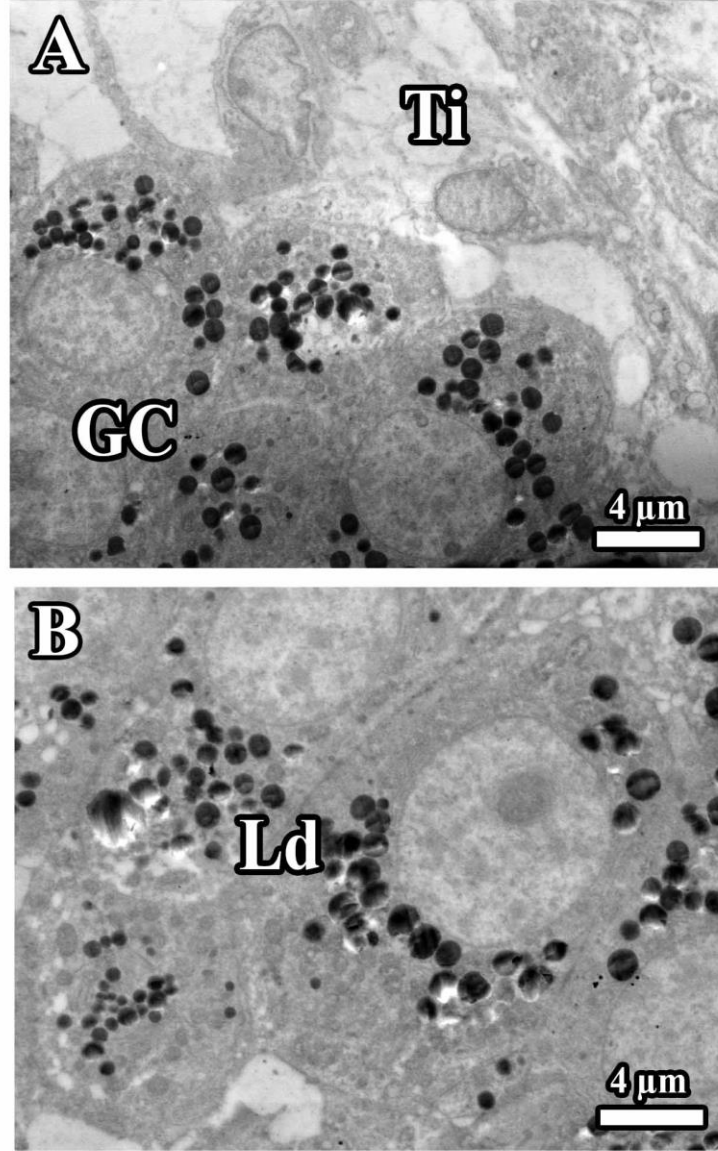


**Şekil 66.** Sham grubuna ait ovaryumda bir damarın duvar yapısı gözlenmektedir. Damar lümenini döşeyen endotel hücrelerinin sınırları ve çekirdeklerinin belirgin yapısı dikkat çekmektedir. Duvarındaki düz kas hücreleri normal yapıda olup hücreler arası aralık normaldir. Damarın duvarında çevre dokuya göre daha soluk boyanan bir yapı görülmektedir. Bu yapının damar duvarında sonlanan bir sinir lifine ait olduğu düşünülmektedir. Düz kas hücreleri (Sm); endotelium (End)

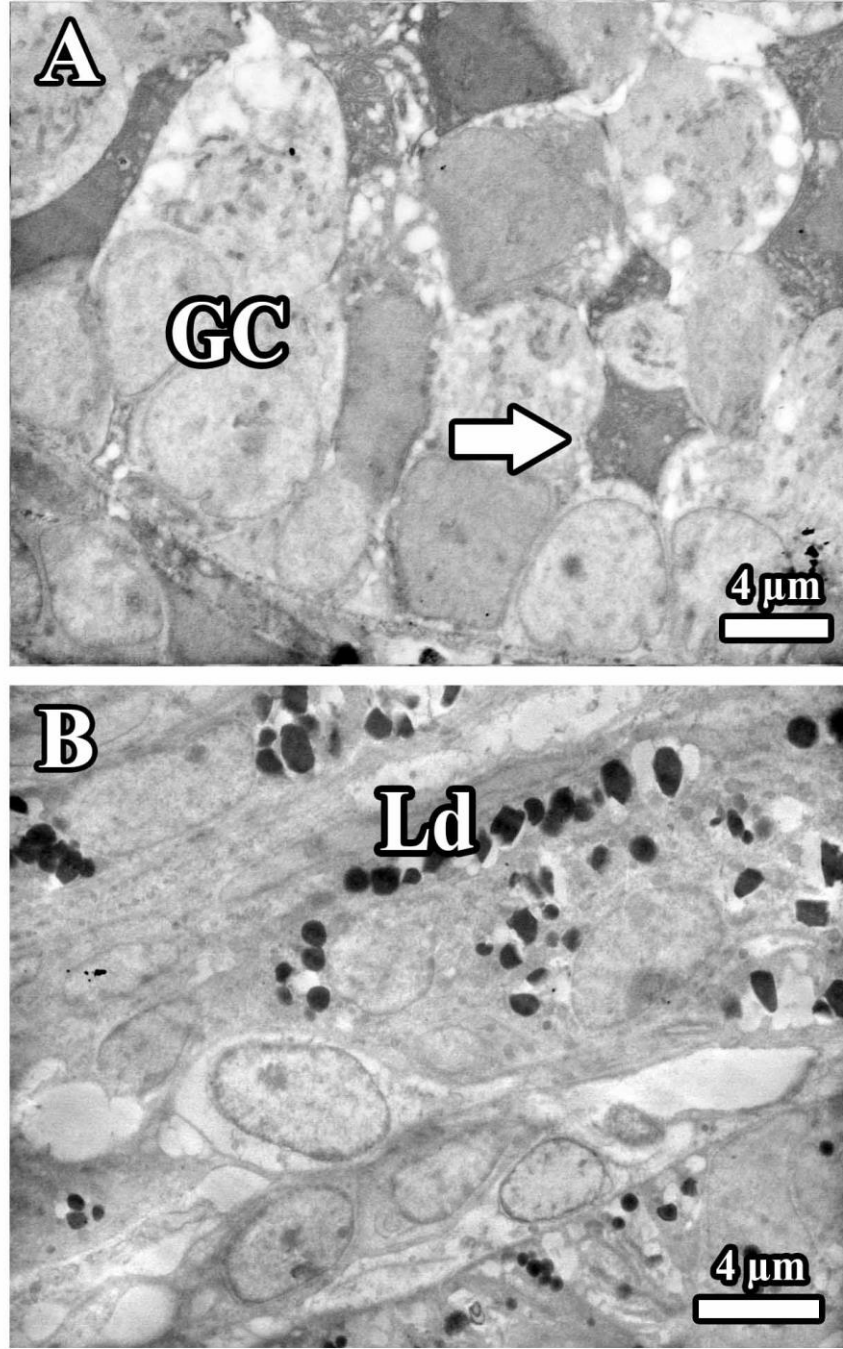
### **Hipertiroidi Grubuna Ait TEM Bulguları**

Hipertiroid grubuna ait ovaryum dokuları TEM’de incelendiğinde; granülozum hücrelerinin çoğunda hücre ve çekirdek sınırları kaybolmuştu. Hücreler arasındaki aralık belirgin bir biçimde artmış, yer yer biçimini koruyamamış hücreler ile büyük oranda fonksiyonunu yitirmiş koyu boyanan hücreler gözlemlendi (Şekil 67, 68). Teka folikülünde bulunan kan damarlarının genişlemiş olduğu, bazı hücrelerin sitoplazmalarını kaybettiği, lipid damlacıkları bulunduran hücrelerin sitoplazmalarında içi boş veziküler yapıların yaygın olduğu görüldü (Şekil 68, 71, 72). Lüteal hücrelerin sitoplazmalarında sınırları belirgin olan çok sayıda lipid damlacığı bulunmaktaydı. Ovaryum yapısında kapillerlerin lümeninde eritrositlerin kümelenmesi fark edildi (Şekil 69, 70). Teka folikülü ve granülozum hücreleri arasındaki bazal membranın çok ince olduğu ve granülozum hücreleri içerisinde çok az sayıda lipid damlacığının varlığı

gözlendi. Granülozum ve teka hücrelerinin her ikisinin sitoplazma ve çekirdeklerinin koyulaştığı, hücre içerisinde ve hücreler arasında çok sayıda boşlukların varlığı fark edildi. Teka internadaki kapillerlerin lümenlerinin amorf bir madde ile dolu olduğu gözlendi (Şekil 71). Ovaryum medullasındaki hücreler arasında çok sayıda boşlukların olması dikkat çekmekteydi. Burada bulunan makrofajların sitoplazmalarında ise farklı boyutlarda fagozomlar bulunmaktaydı (Şekil 73).

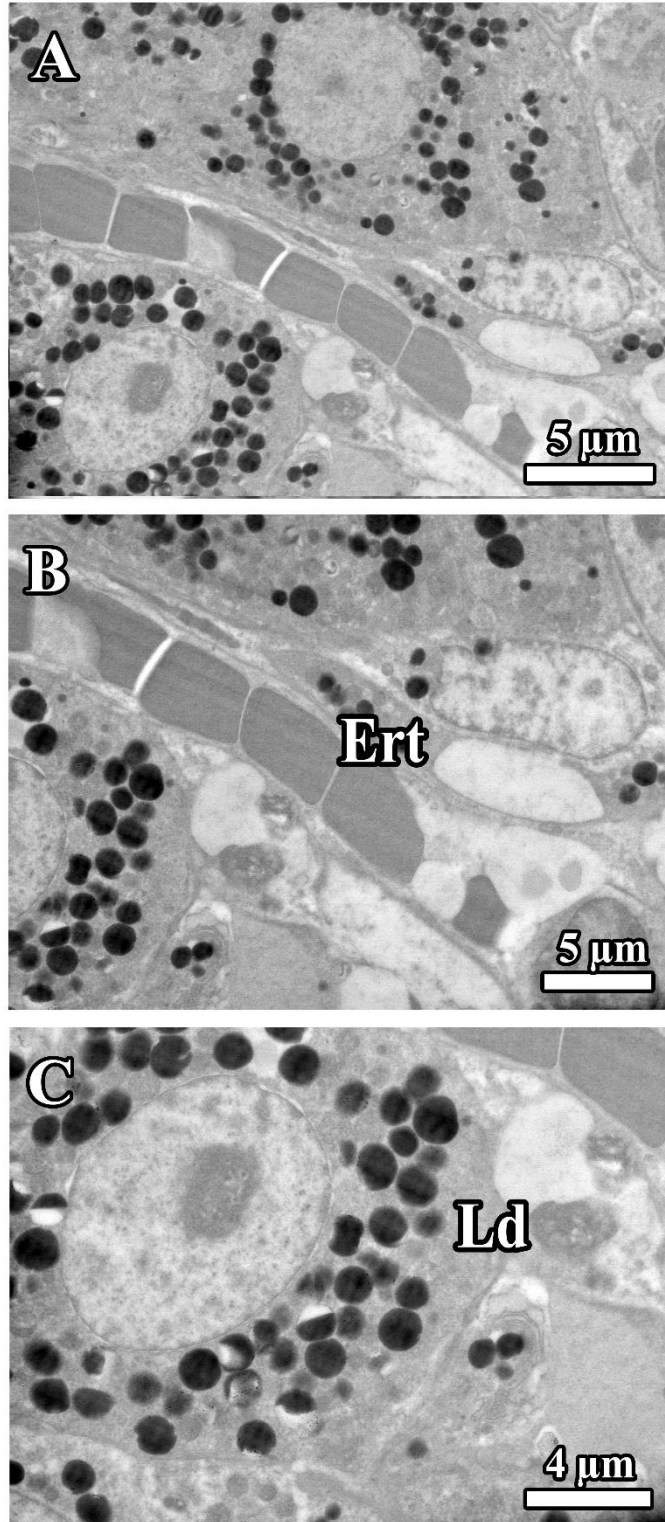


**Şekil 67.** (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda granülozum hücre tabakası ile teka folikülünün interna tabakası gözlenmektedir. (A) Teka internadaki kapillerlerin lümenlerinin geniş ve granülozum hücrelerinin sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının küçük çaplı olması ve yer yer içi boş veziküller yapılarının varlığı dikkat çekmektedir. Granülozum hücreleri (GC); lipid damlacıkları (Ld); teka interna (Ti)



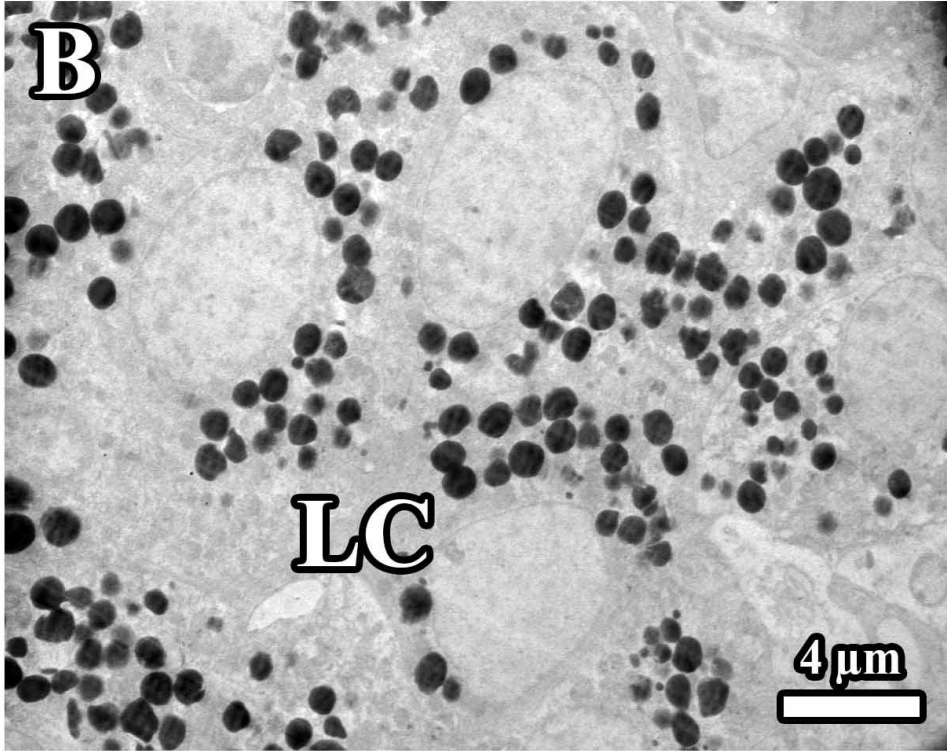
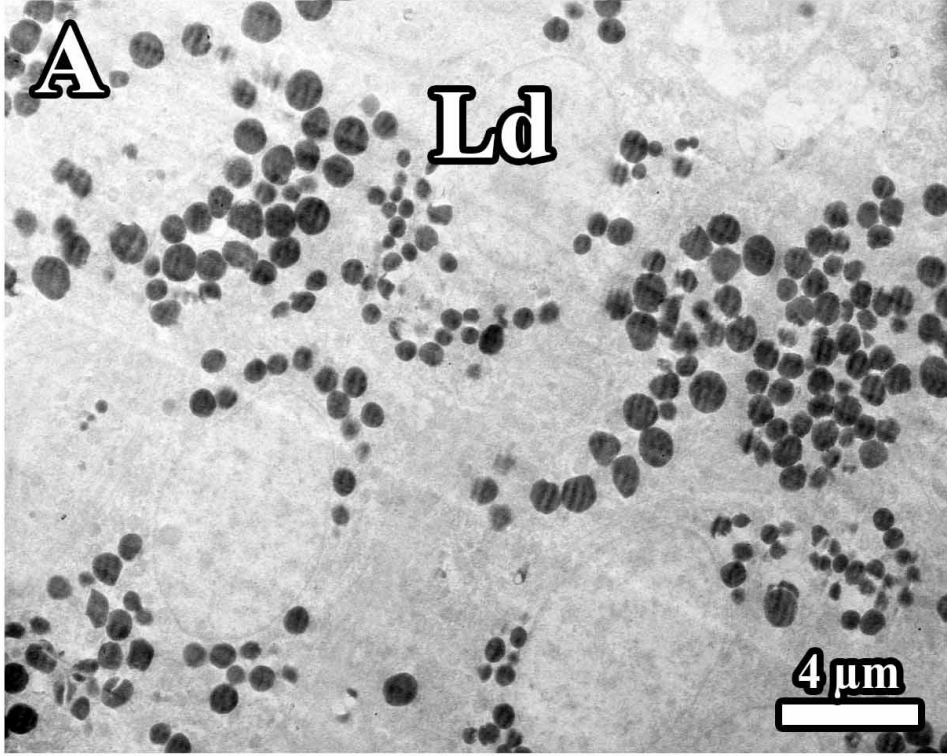
**Şekil 68.** (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda granülozum ve teka folikülü hücreleri görülmektedir. (A) Granülozum hücrelerinin çoğunda hücre ve çekirdek sınırları kaybolmuştur. Hücreler arasındaki aralık belirgin bir biçimde artmış, yer yer yuvarlak biçimini koruyamamış hücreler ile büyük oranda fonksiyonunu yitirmiş koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkat çekmektedir. (B) Teka folikülünde bulunan kan damarlarının genişlediği, bazı hücrelerin sitoplazmalarını kaybettiği, lipid damlacıkları bulunduran hücrelerin sitoplazmalarında içi boş veziküler yapıların yaygın olduğu görüldü. Granülozum hücreleri (GC); lipid damlacıkları (Ld); koyu boyanmış granülozum hücreleri (ok)



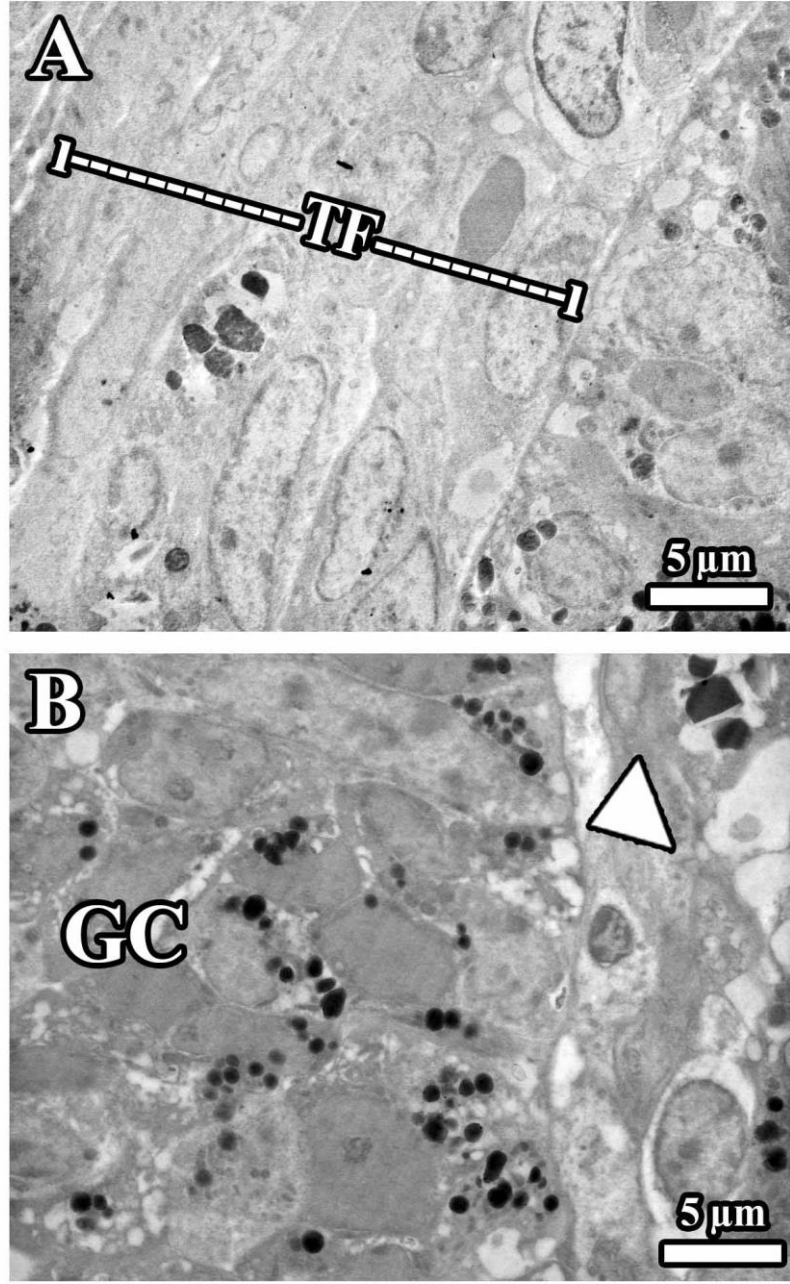


**Şekil 69.** (A, B, C) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda bulunan korpus luteumdan alınan bir görüntü gözlenmektedir. Lüteal hücrelerin sitoplazmalarında sınırları belirgin olan çok sayıda lipid damlacığı bulunmaktadır. Hücre ve çekirdek sınırları belirgindir. Kapillerlerin lümeninde eritrositlerin kümelendiği fark edilmektedir. Eritrosit (Ert); lipid damlacıkları (Ld)

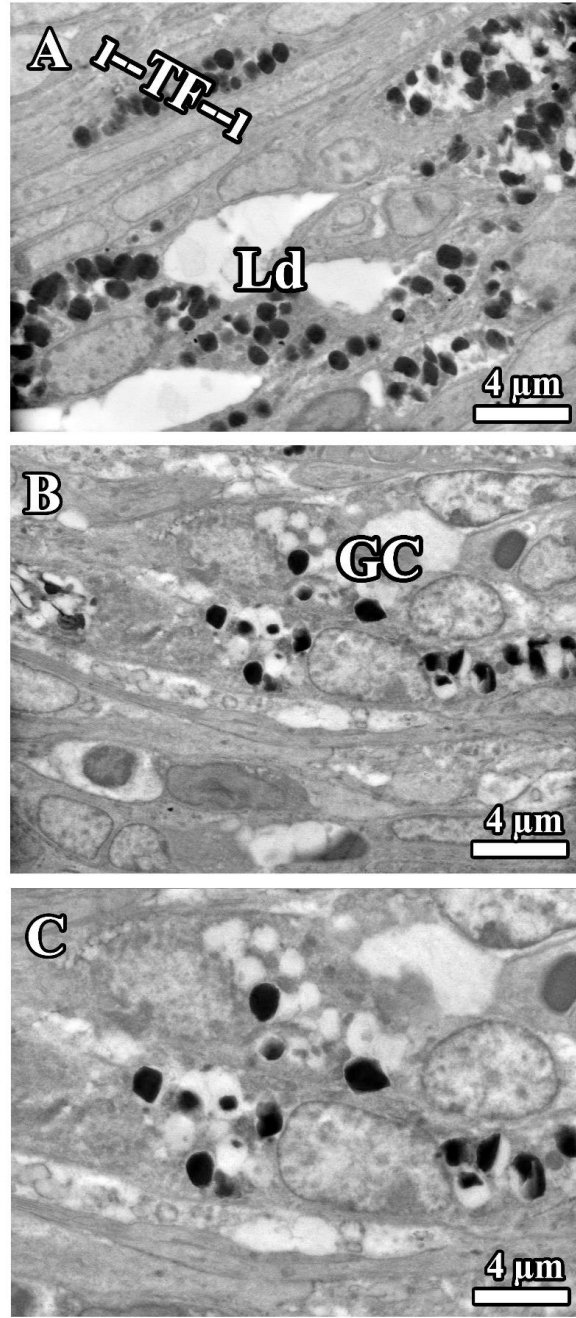




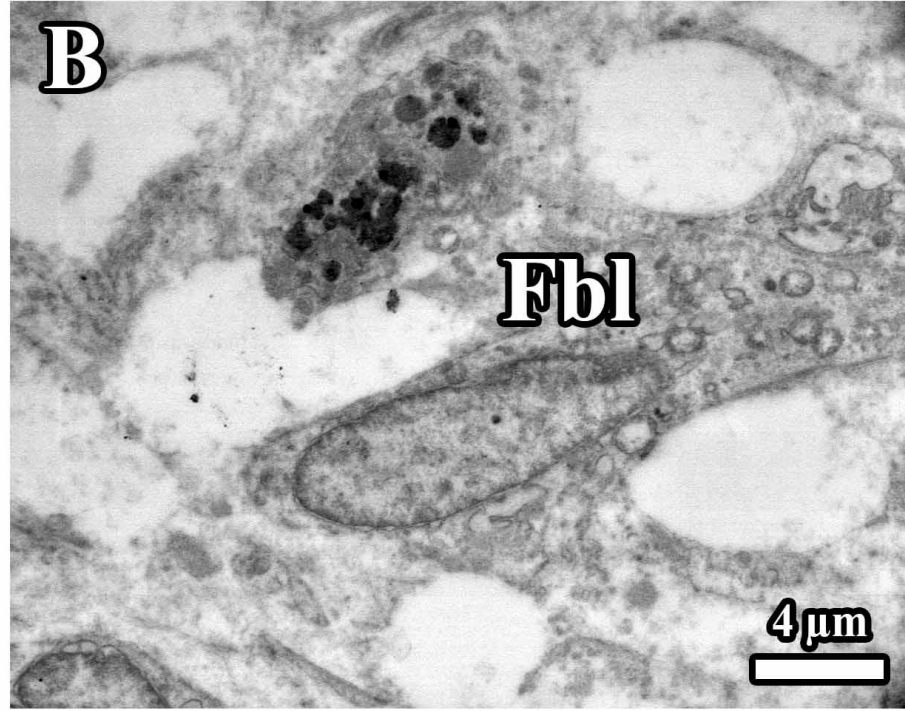
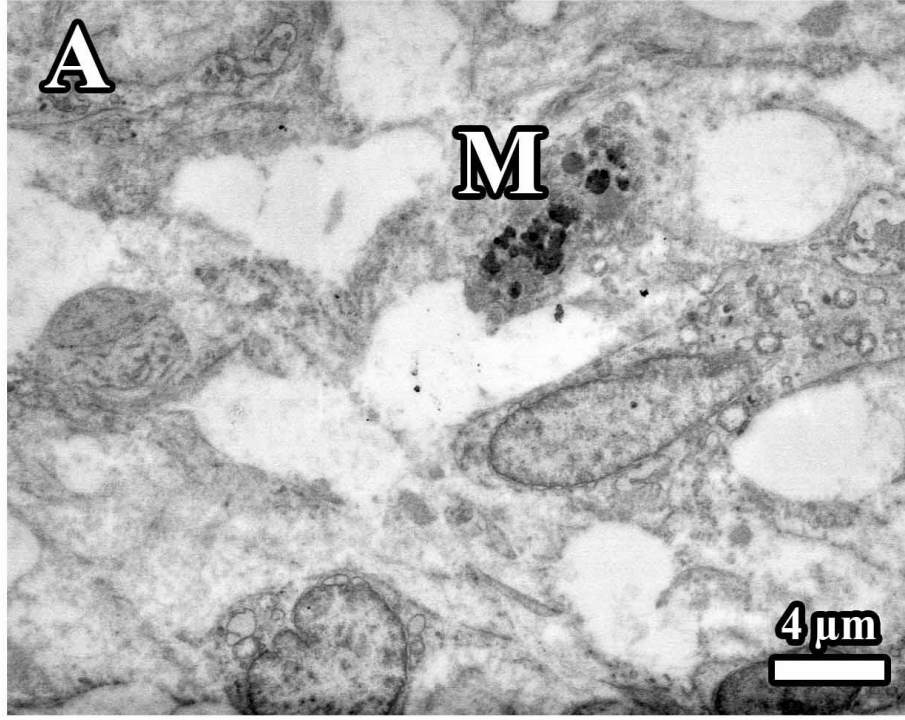
Şekil 70. (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda korpus luteumdan alınan görüntüler gözlenmektedir. Hücre ve çekirdek sınırlarının belirgin olmadığı, sitoplazmadaki lipid damlacıklarının boyutlarının farklı olduğu görüldü. Lipid damlacıkları (Ld); lütein hücreleri (LC)



**Şekil 71.** (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda teka folikülü ve granülozum arasındaki ilişki gözlenmektedir. (A) Hem teka folikülü hücreleri hem de granülozum hücrelerinin sınırlarının belirsizleştiği, hücreler arası aralığın arttığı fark edilmektedir. Teka folikülü ve granülozum hücreleri arasındaki bazal membranın çok ince olduğu ve granülozum hücreleri içerisinde çok az sayıda lipid damlacığının varlığı gözlemlendi. (B) Granülozum ve teka folikülünün kesişim yeri gözlenmektedir. Granülozum ve teka hücrelerinin her ikisinin sitoplazma ve çekirdeklerinin koyulaştığı, hücre içerisinde ve hücreler arasında çok sayıda boşlukların varlığı dikkat çekmektedir. Teka internadaki kapillerlerin lümenlerinin amorf bir madde ile dolu olduğu fark edildi. Bazal membran (ok başı); granülozum hücreleri (GC); teka folikülü (TF)



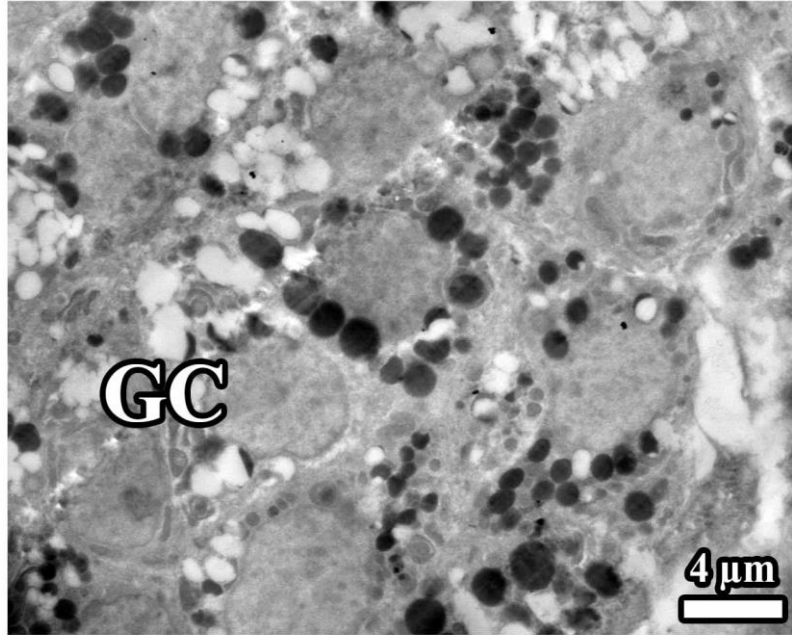
**Şekil 72.** (A, B, C) Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda teka folikülü ile granülozum hücreleri gözlenmektedir. Teka folikülü hücreleri ile granülozum hücrelerine bakıldığında hücre ve çekirdek sınırlarının belirgin olmadığı fark edilmektedir. (B, C) Granülozum hücreleri içerisinde az sayıda lipid damlacığı bulunurken çok sayıda içi boş vezikülün olduğu görüldü. Granülozum hücreleri arasında boşlukların fazlalığı ve büyük boyutlu oluşu fark edildi. Hücre sitoplazmalarının ve çekirdeğin koyu boyandığı gözlendi. Teka folikülü ve granülozum hücreleri arasındaki sınırdaki bazal membranın belirgin olmadığı görüldü. Granülozum hücreleri (GC); lipid damlacıkları (Ld); teka folikülü (TF)



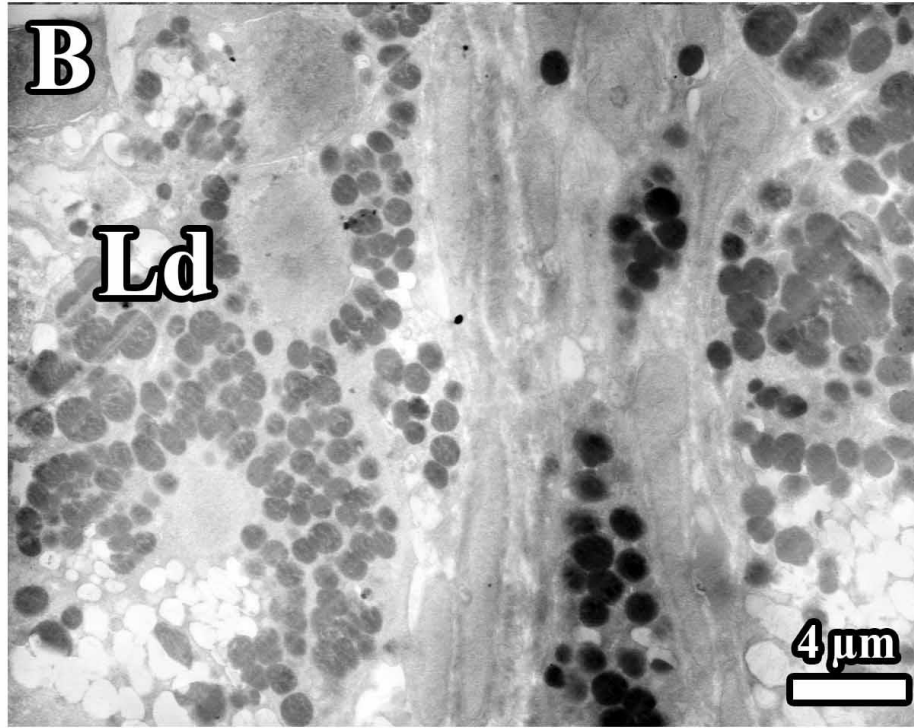
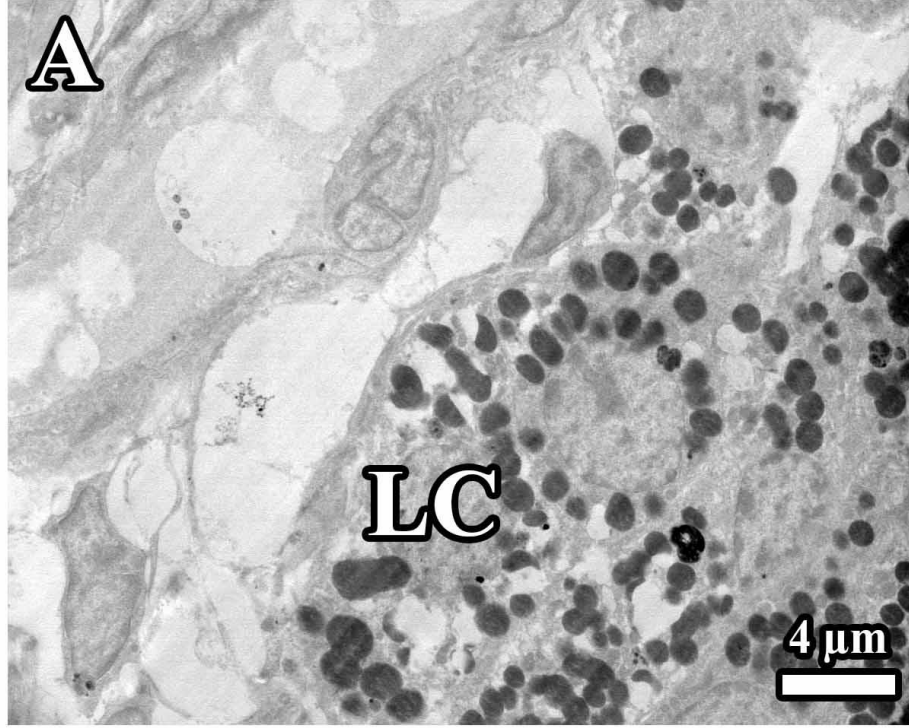
**Şekil 73.** (A, B) Hipertiroidi grubuna ait ovaryum medullasından alınan görüntüler gözlenmektedir. Medullada hücreler arası aralıkta çok sayıda boşlukların olması dikkat çekmektedir. Fibroblast sitoplazması içerisinde çok sayıda vezikül gözlemlendi. Makrofajın sitoplazmasında ise farklı boyutlarda olan fagozomlar bulunmaktadır. Fibroblast (Fbl); makrofaj (M)

### Hipertiroidi+ Vitamin E Grubuna Ait TEM Bulguları

Hipertiroidi+Vitamin E grubu ovarium dokularına ait TEM görüntüleri incelendiğinde; granülozum hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmalarının koyu boyandığı, hücre içerisinde çok sayıda içi boş vezikülün bulunduğu, lipid damlacıklarının varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 74, 76). Korpus luteum yapısındaki hücrelerin çok sayıda farklı boyutta lipid damlacıkları bulundurduğu, hücre sitoplazmasının ve kan damarlarının kısmen korunduğu gözlemlendi (Şekil 75, 76). Hem granülozum hücrelerinin hem de teka folikülünün iyi korunduğu ve hücre sınırlarının belirgin olduğu fark edildi (Şekil 77). Medulladaki bağ dokusu hücrelerinin ve kan damarlarının normal yapıda ve sınırlarının belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil 78). Ovaryum medullasında bulunan damarların endotel hücrelerinin normal yapıda olduğu, endotelin bazal tarafında bulunan iç elastik membranın iyi korunduğu fark edildi (Şekil 79). Ovaryum medullasındaki makrofajların sitoplazmasında farklı boyutlarda veziküllerin varlığı ayrıca bazılarının çok büyük boyutta olması dikkat çekmekteydi (Şekil 80).

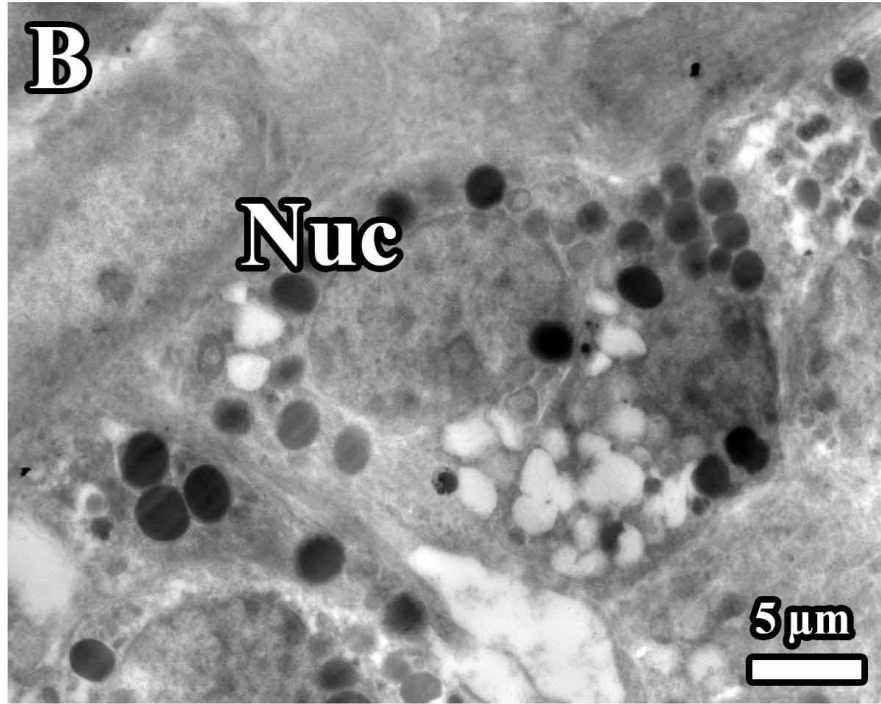
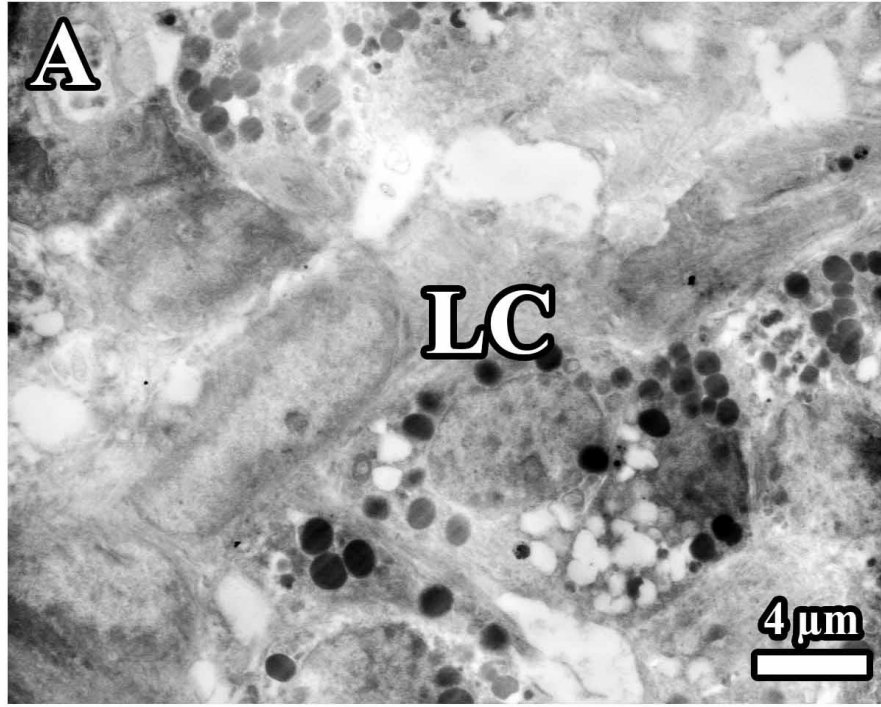


**Şekil 74.** Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovariumda granülozum hücreleri görülmektedir. Hücre çekirdek ve sitoplazmaları koyu boyanmış olup, içerisinde çok sayıda içi boş vezikül bulunmakla birlikte lipid damlacıklarının varlığı ve hücreler arasındaki aralıkların genişliği dikkat çekmektedir. Granülozum hücreleri (GC)

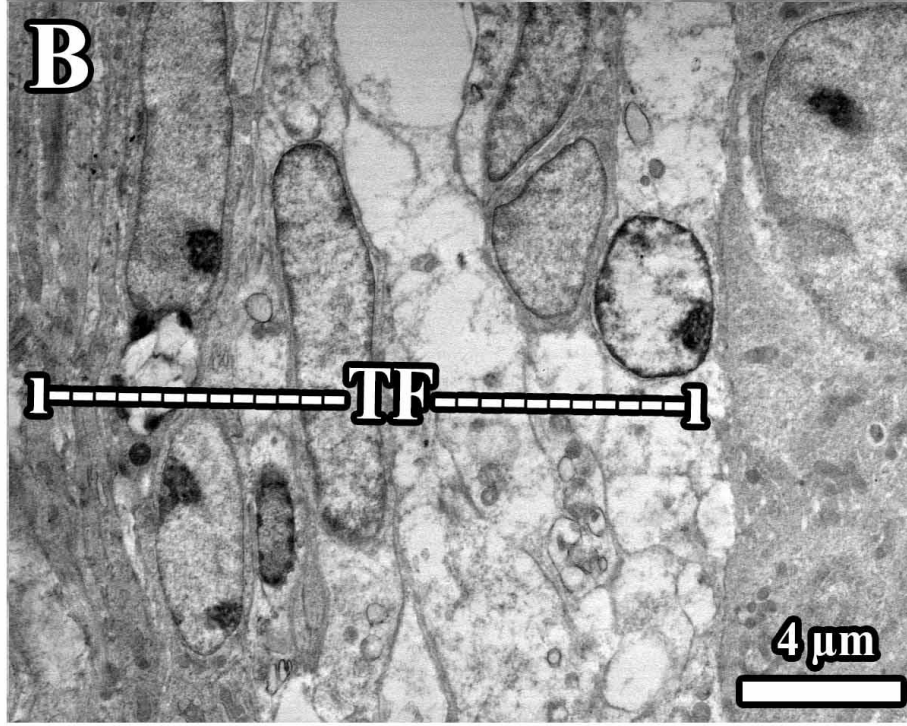
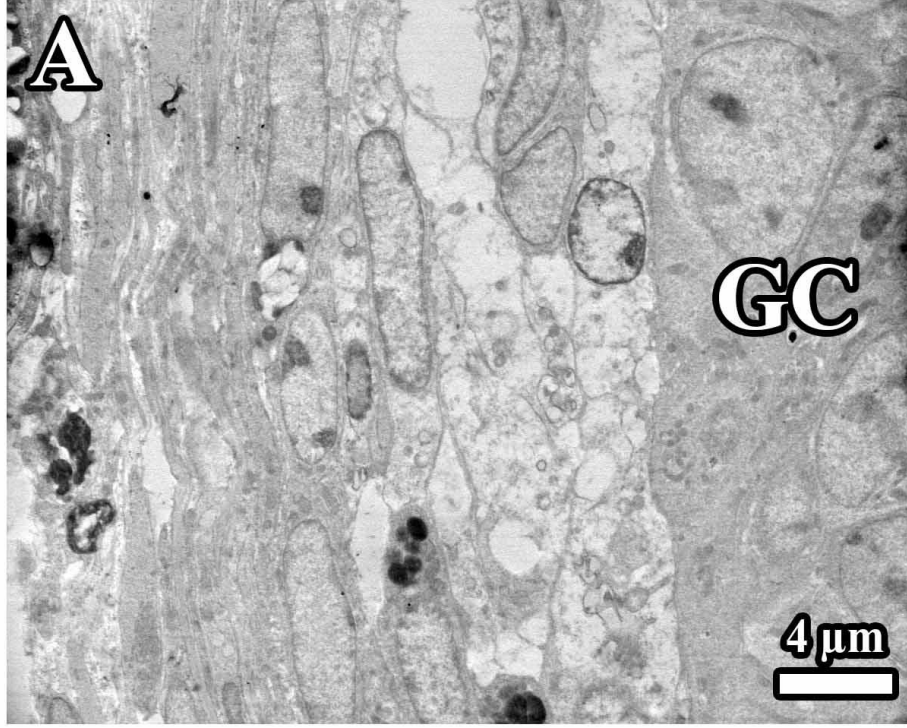


Şekil 75. (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumda korpus luteum gözlenmektedir. Hücrelerinin çok sayıda farklı boyutta lipid damlacıkları bulundurduğu, sitoplazmasının ve kan damarlarının kısmen korunduğu gözlendi. Hücre içerisinde içi boş çok sayıda vezikülün varlığı da dikkat çekmektedir. Lipid damlacığı (Ld); lütein hücreleri (LC)

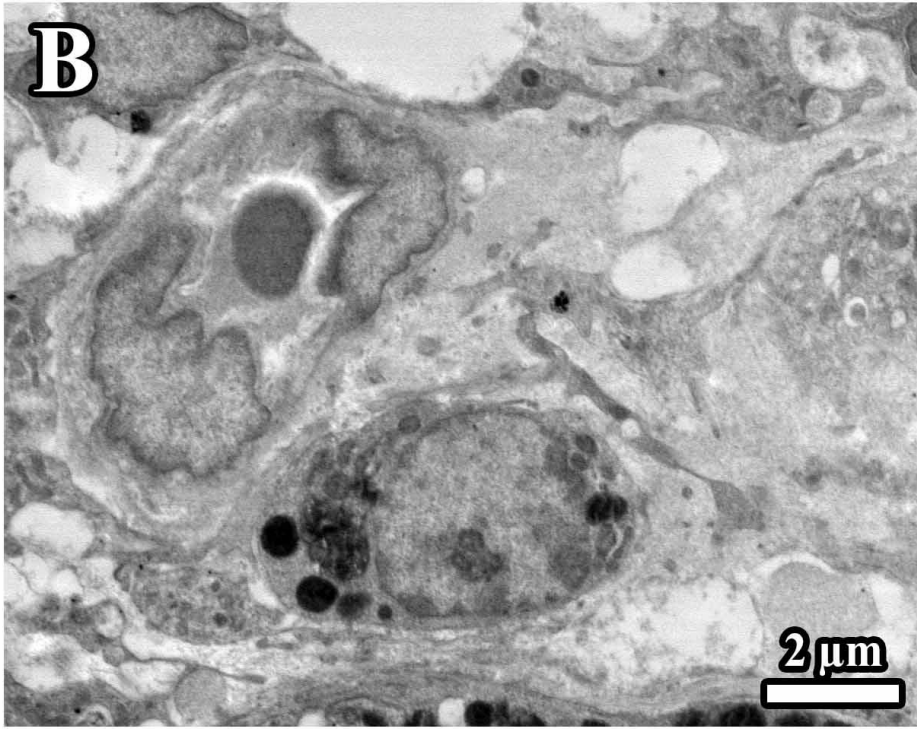
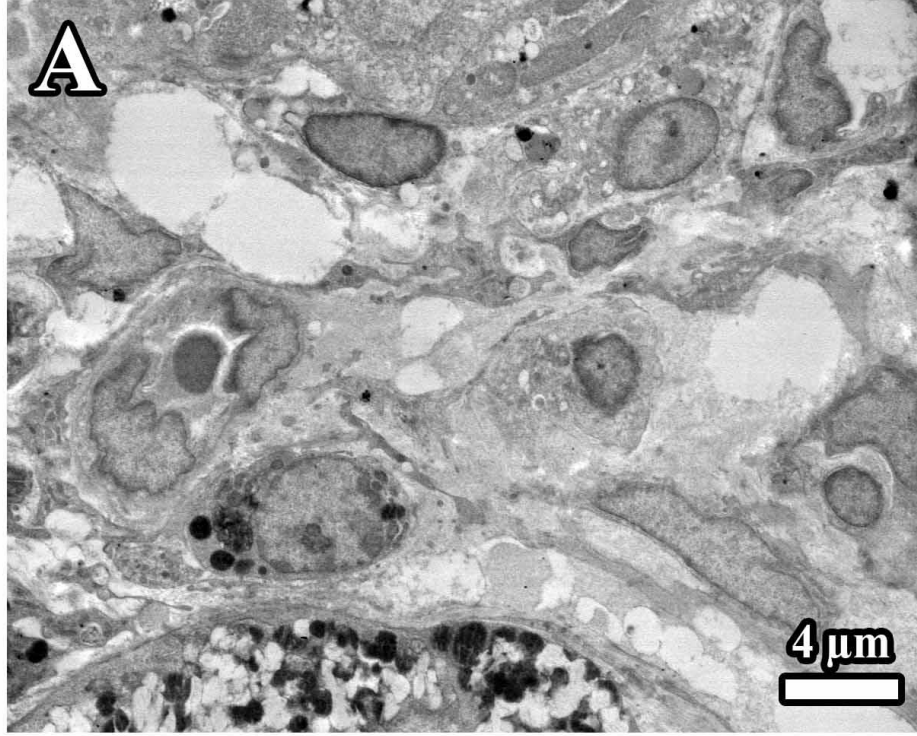




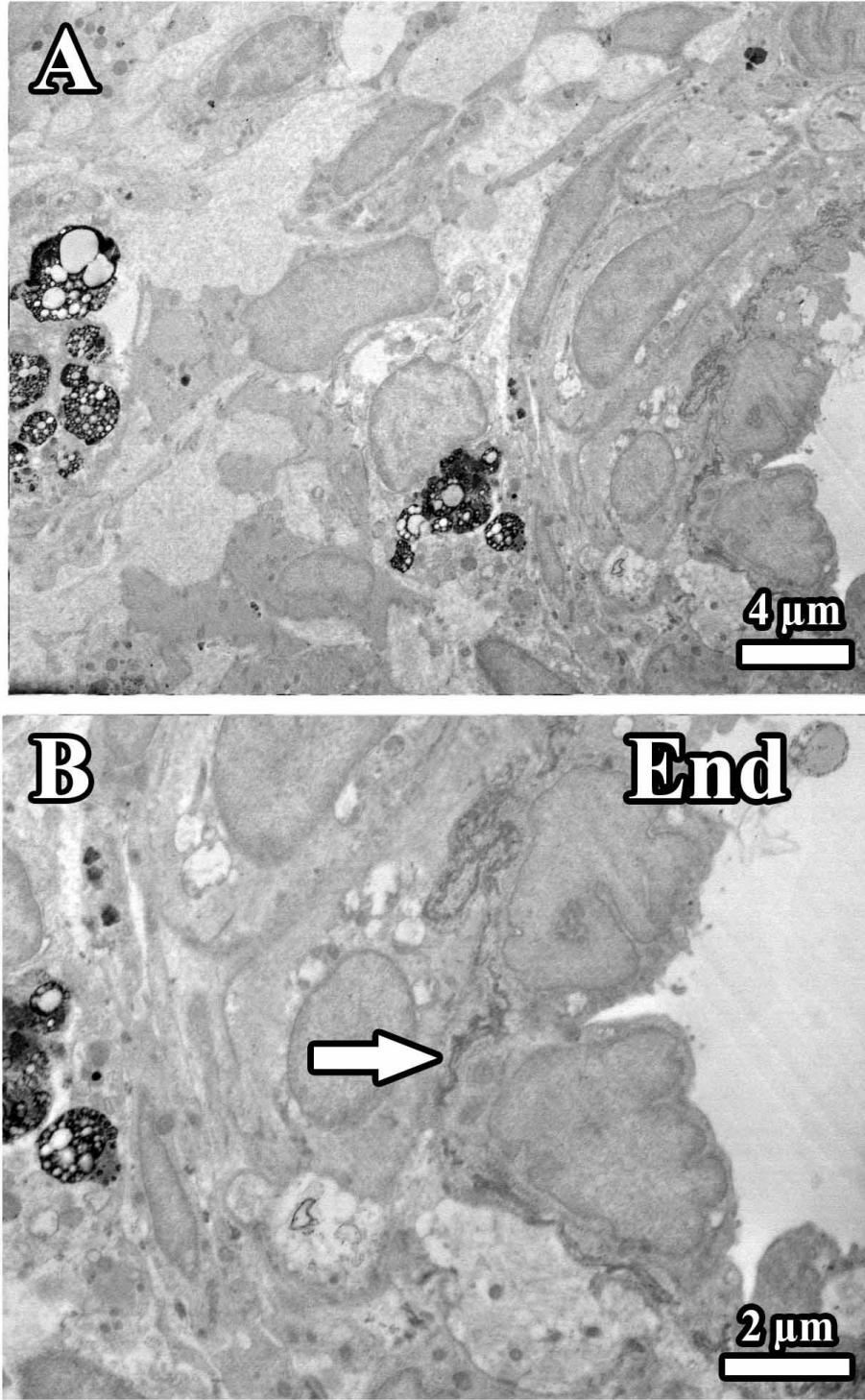
**Şekil 76.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumda korpus luteum hücreleri görülmektedir. Hücre sitoplazması ve çekirdeğinin kısmen korunduğu, sitoplazmada içi boş veziküllerin sayısının azaldığı ve sınırları düzgün olan çok sayıda lipid damlacığının varlığı dikkat çekmektedir. Çekirdek (Nuc); lütein hücreleri (LC)



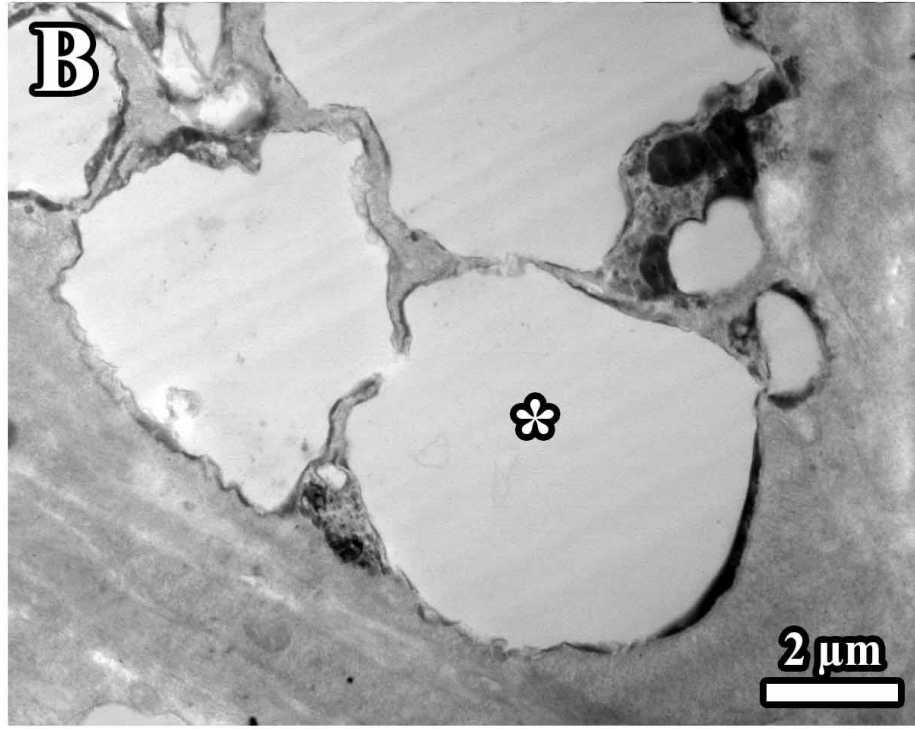
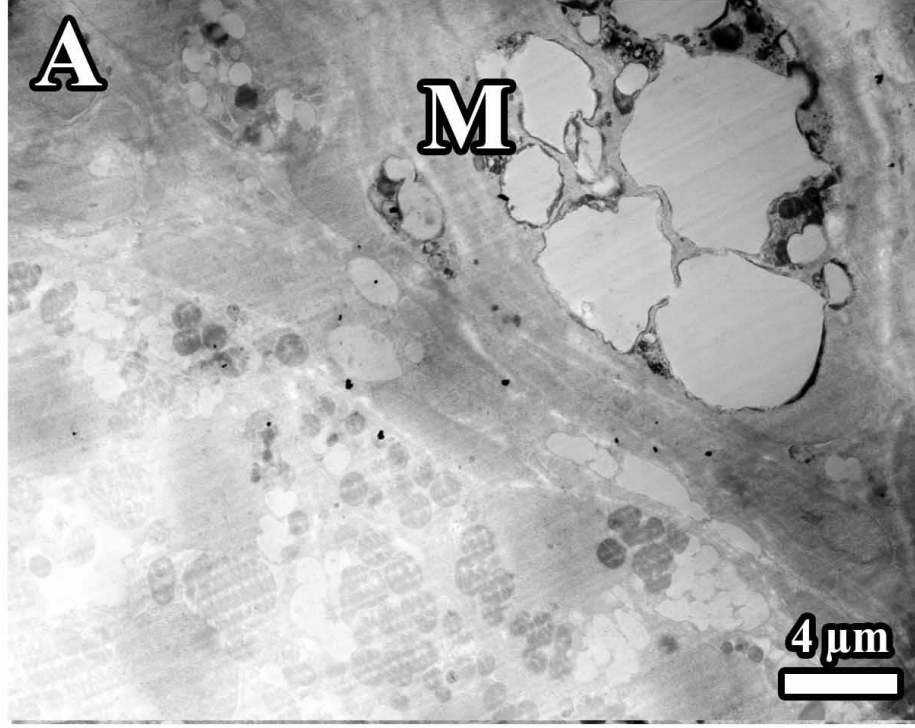
Şekil 77. (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumda teka folikülü ile granülozum hücreleri arasındaki ilişki görülmektedir. Her iki yapının iyi korunduğu, hücre sınırlarının belirgin olduğu gözlemlendi. Teka folikülündeki kapiller lümenleri de açıktı. Granülozum hücreleri (GC); teka folikülü (TF)



**Şekil 78.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum medullası görülmektedir. Medulladaki bağ dokusu hücrelerinin ve kan damarlarının normal yapıda ve sınırlarının belirgin olduğu gözlemlendi. Kapiller içerisinde kan hücresi görülmektedir



**Şekil 79.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovarium medullasında bir damar gözlenmektedir. Bu yapının arteriol olduğu ve çevresinde çok sayıda makrofaj bulunmaktaydı. Arteriol duvarındaki endotel hücreleri normal yapıda olup, bazal tarafında bir iç elastik membran fark edilmektedir. Endotel (End); iç elastik membran (beyaz ok)

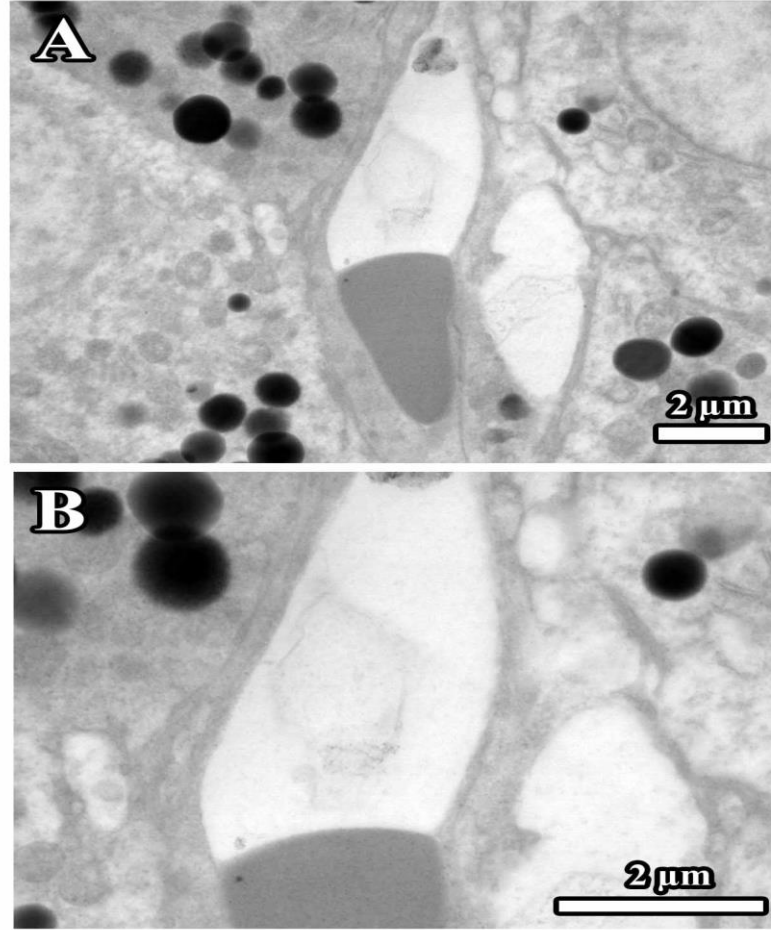


**Şekil 80.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum medullasında bir makrofaj görülmektedir. Makrofajın sitoplazmasında çok büyük boyutta vakuoller bulunmaktaydı, bunların hücre içi sindirim sonrası ortaya çıkan yapılar olduğu düşünülmektedir. Büyük boyutlu veziküllerin yanında küçük boyutlu veziküllerin de olduğu gözlemlendi. Makrofaj (M); Vakuol (\*)



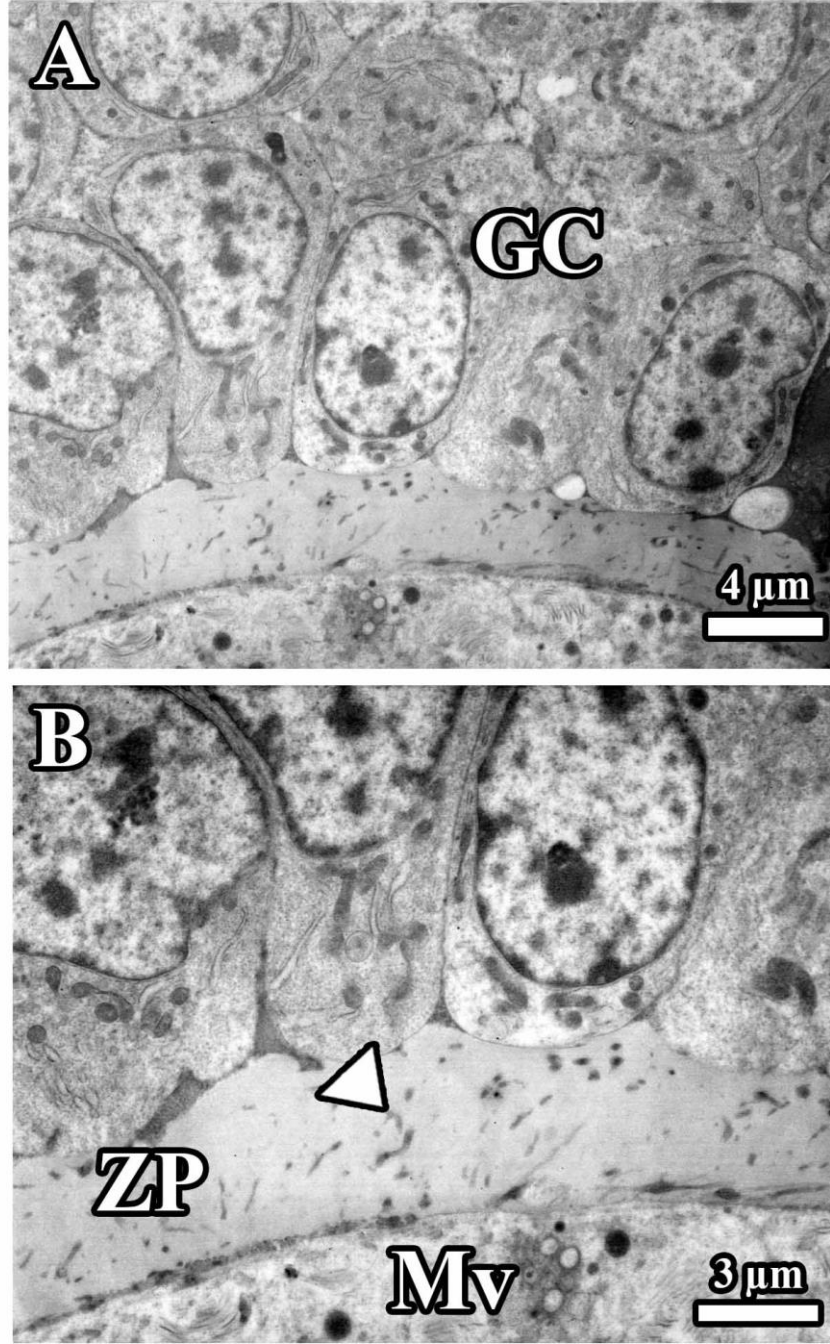
### Vitamin E Grubuna Ait TEM Bulguları

Vitamin E grubu ovaryum dokuları TEM’de incelendiğinde; ovaryumda preantral ve antral foliküllerin granülozum hücrelerinin, zona pellusida tabakasının ve dişi cins hücresi olan oositin normal yapıda olduğu görüldü. Granülozum hücrelerinin ve çekirdeklerinin sınırları gayet belirgindi. Granülozum ve oosite ait sitoplazmik uzantılar, zona pellusida içerisinde koyu yapılar biçiminde olduğu gözlemlendi. Oosit sitoplazması içerisinde hücre membranına yakın yerleşim gösteren multiveziküler yapılar vardı (Şekil 82). Bu gruba ait ovaryumlarda korpus luteum hücrelerinin normal yapıda olduğu, içerisinde çok sayıda sınırları düzgün olan lipid damlacıklarının, iyi korunmuş golgi komplekslerinin, çekirdek zarlarının, çekirdekçiklerin ve agranüler endoplazmik retikulumların varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 81, 83, 84).

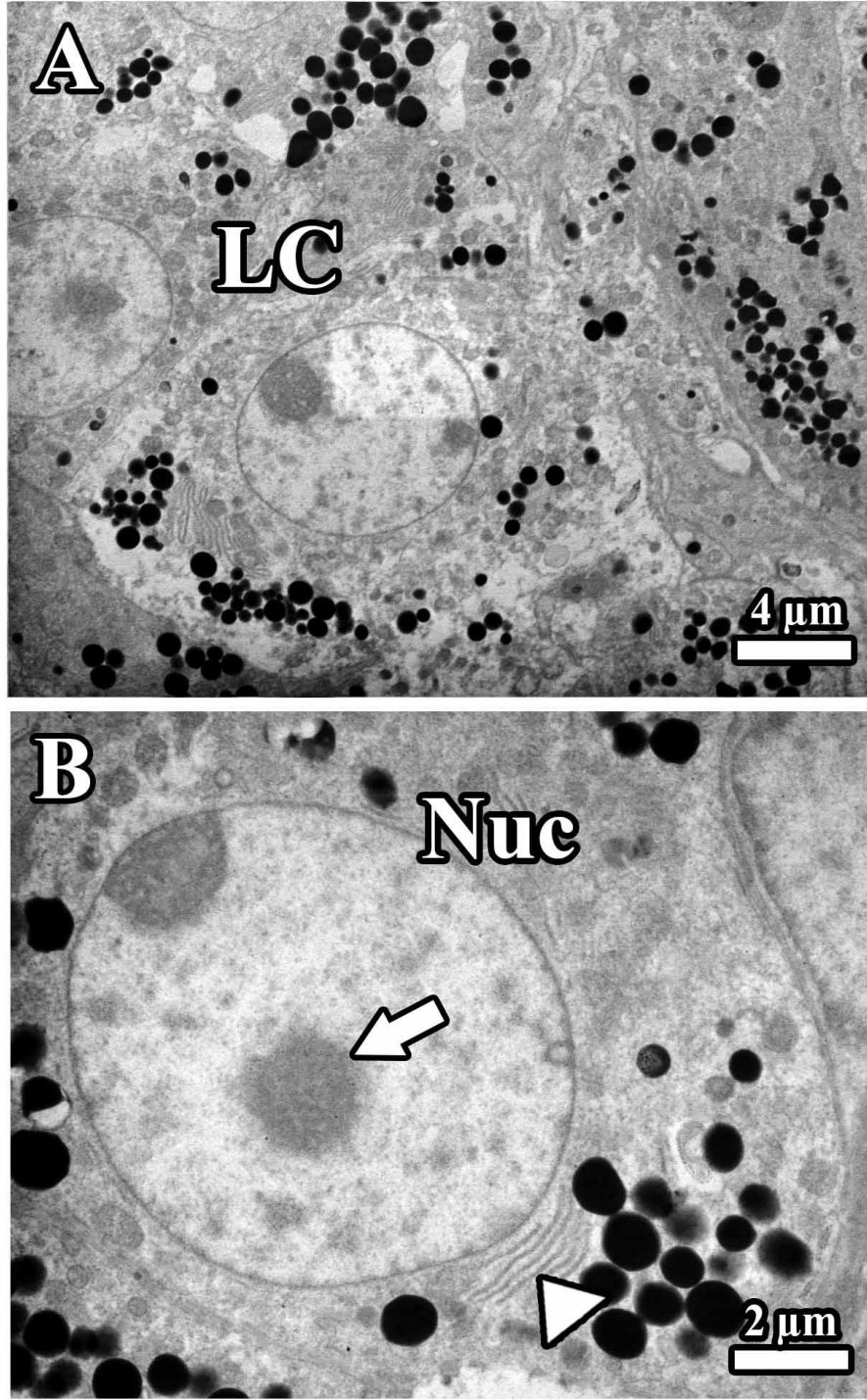


**Şekil 81.** (A, B) Vitamin E grubuna ait ovaryumda korpus luteum hücreleri görülmektedir. Hücre sitoplazmasında çok sayıda sınırları belirgin olan lipid damlacıkları ve hücrenin diğer organelleri kolayca fark edilmektedir. Lütein hücreleri arasında bulunan bir kapillerde eritrositin üçgen biçimli görünümü ayırt edilmektedir

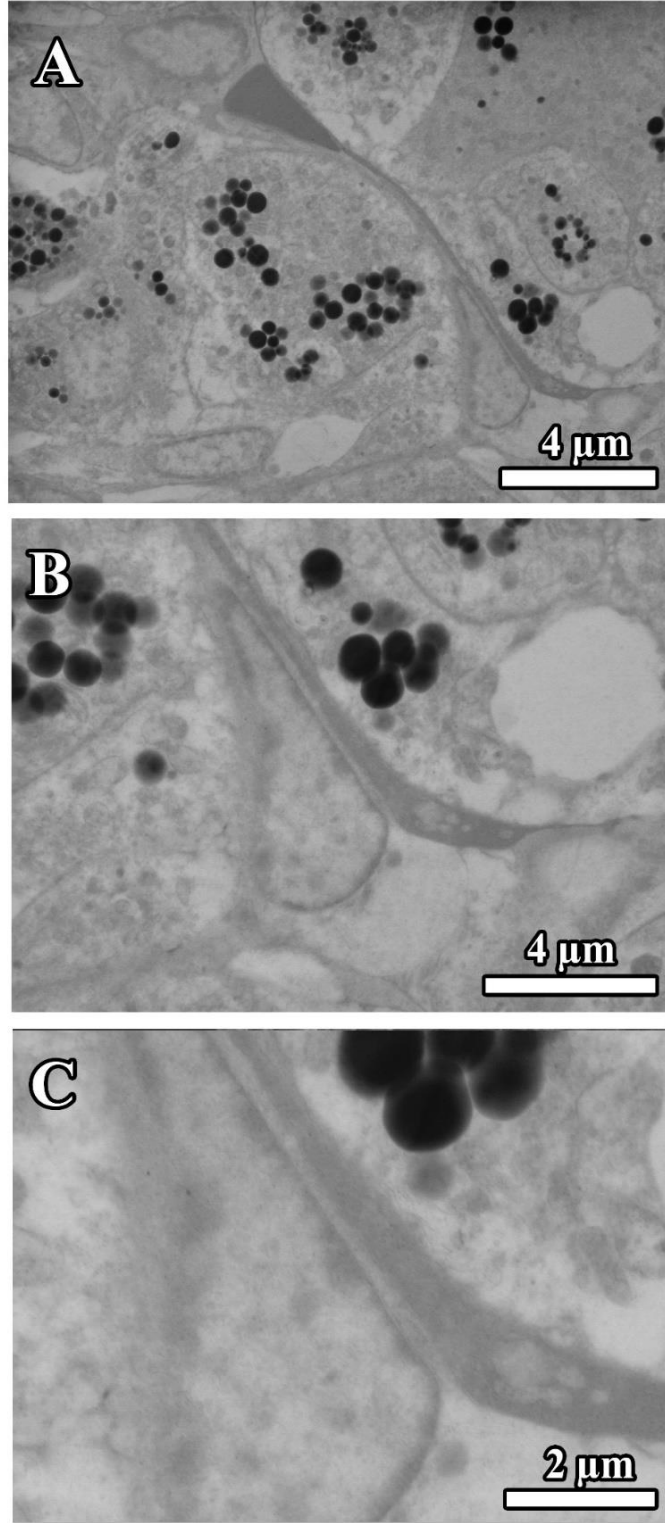




**Şekil 82.** (A, B) Vitamin E grubunun ovaryumunda preantral foliküle ait olduğunu düşündüğümüz zona pellusida ve granülozum hücreleri arasındaki ilişki gözlenmektedir. Granülozum, zona pellusida tabakası ve oositin normal yapıda olduğu gözlendi. Granülozum hücrelerinin ve çekirdeklerinin sınırları gayet belirgindi. Granülozum ve oosite ait sitoplazmik uzantılar zona pellusida içerisinde koyu yapılar olarak gözlenmektedir. Oosit sitoplazması içerisinde hücre membranına yakın yerleşim gösteren multiveziküler bir yapının varlığı dikkat çekmektedir. Granülozum hücreleri (GC); multiveziküler (Mv); sitoplazmik uzantılar (ok başı); zona pellusida (ZP)



**Şekil 83.** (A, B) Vitamin E grubuna ait ovaryumda korpus luteum görülmektedir. Lütein hücrelerinin normal yapıda olduğu, içerisinde çok sayıda sınırları düzgün olan lipid damlacıkları, iyi korunmuş golgi kompleksi, çekirdek zarı, çekirdekçik ve agranüler endoplazmik retikulumun varlığı dikkat çekmektedir. Çekirdek (Nuc); çekirdekçik (ok); golgi kompleksi (ok başı); lütein hücreleri (LC)

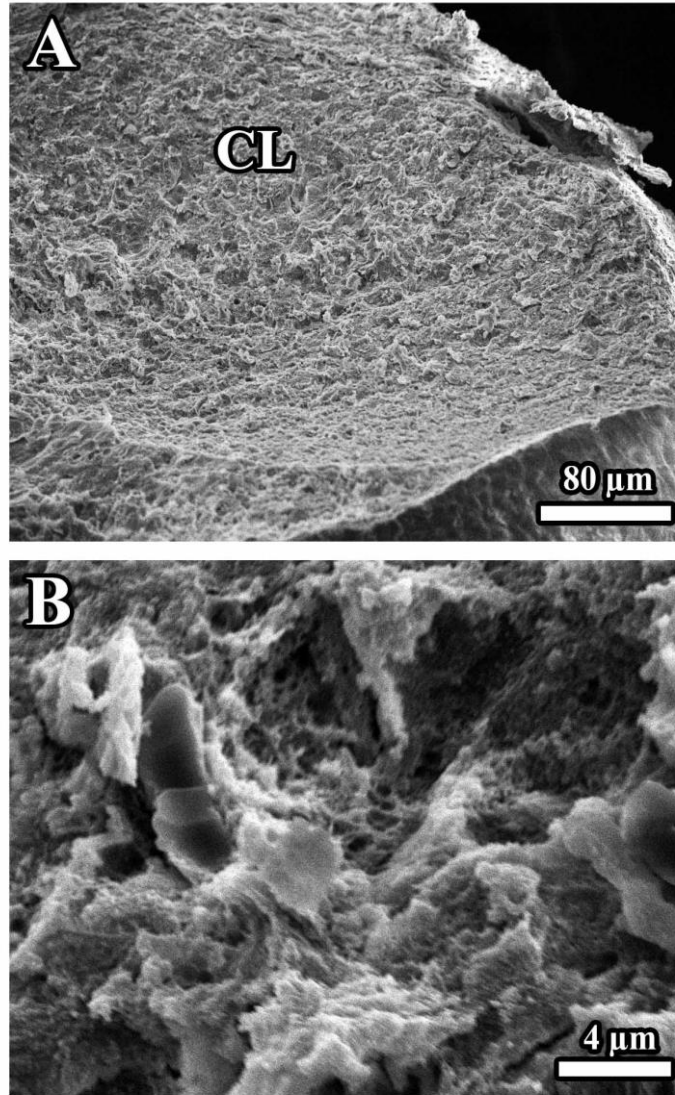


**Şekil 84.** (A, B, C) Vitamin E grubuna ait ovaryumda korpus luteum görülmektedir. Lütein hücrelerinin sınırları ve içerisindeki organeller belirgin yapıdadır. Bu hücrelerin içerisinde çok sayıda lipid damlacığının varlığı dikkat çekmektedir. Lütein hücrelerinin etrafında bulunan bir kapiller ve içerisinde üçgen biçimini almış bir eritrosit görülmektedir

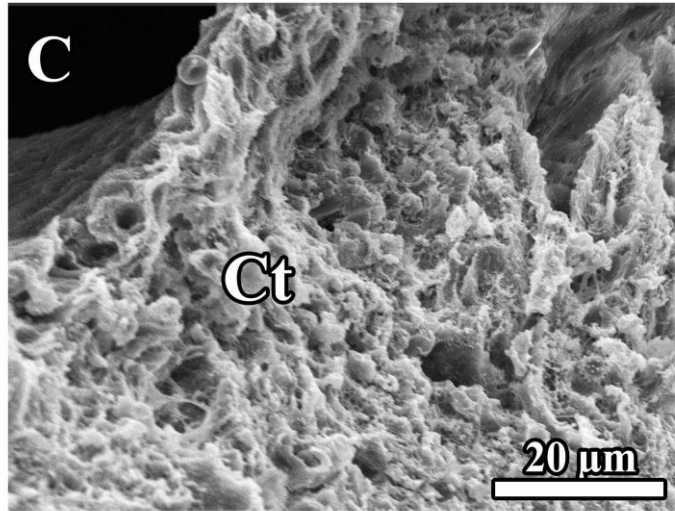
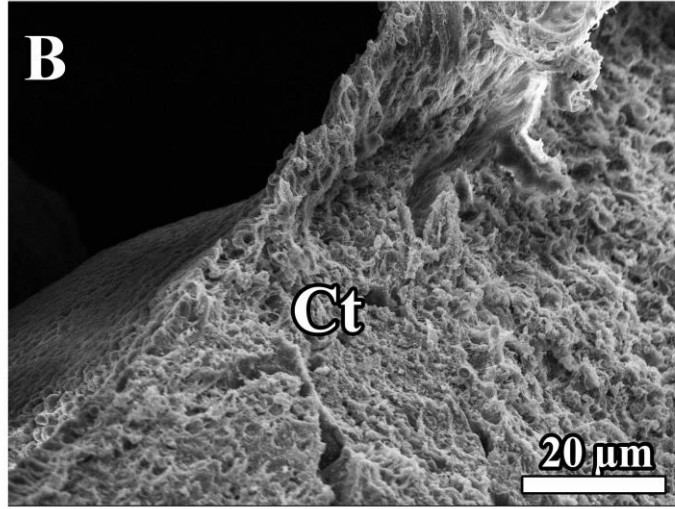
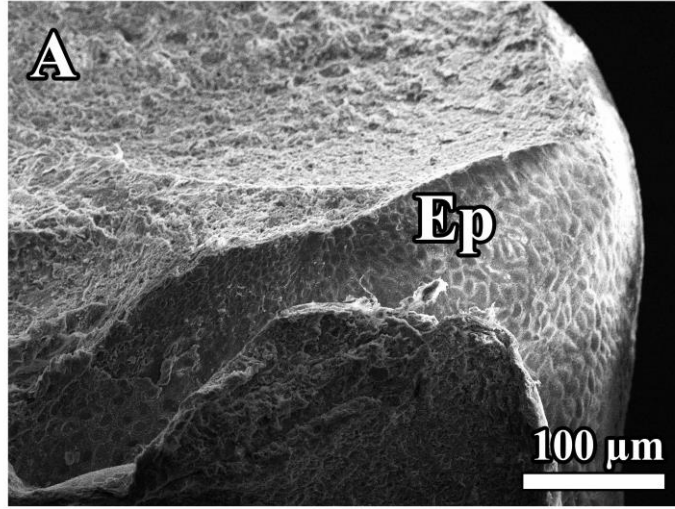
## SEM Görüntülerinden Elde Edilen Bulgular

### Kontrol Grubuna Ait SEM Bulguları

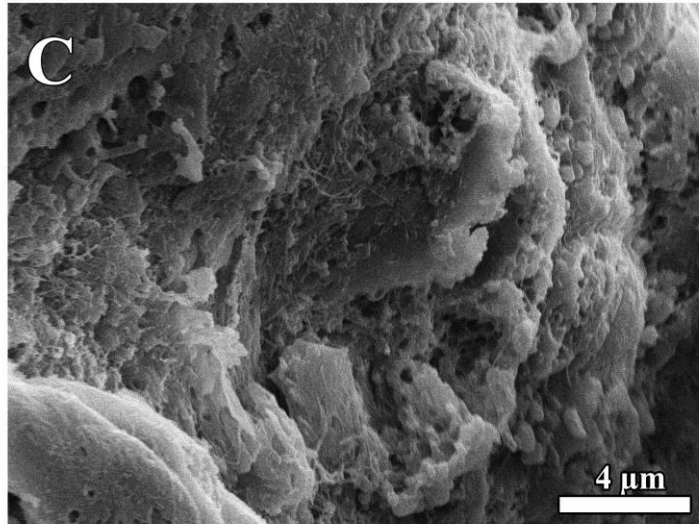
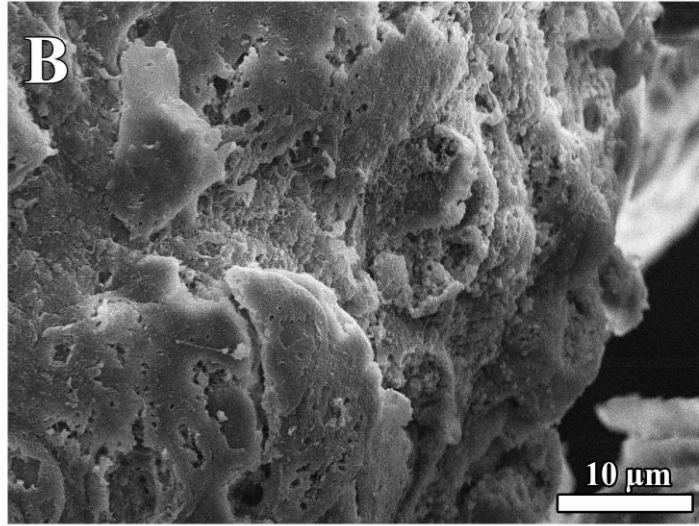
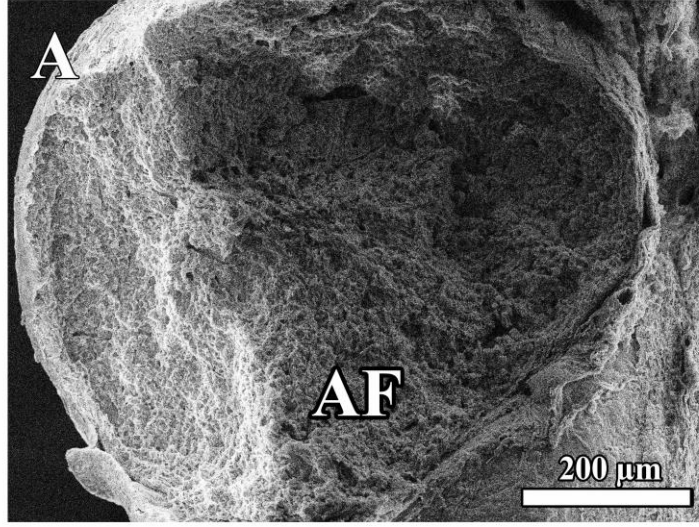
Kontrol grubu ovaryum dokularına ait SEM görüntüleri incelendiğinde; ovaryumun yüzey epitelinin korunduğu, hücreler arası aralığın normal olduğu görüldü. Epitel altındaki bağ dokusu ve diğer yapılar normaldi (Şekil 85, 86). Korpus luteumun düzgün sınırlara sahip olduğu ve lütein hücrelerinin belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil 86). Ovaryum korteksinde yer alan antral foliküllerin yapısındaki elemanların normal olduğu ve hücre sınırları belirgindi (Şekil 87). Organın dış yüzünün bütünlüğünü korudu gözlemlendi (Şekil 88).



**Şekil 85.** (A, B) SEM’de Kontrol grubuna ait bir ovaryumun yapısındaki korpus luteum görülmektedir. Yapının düzgün sınırlara sahip olduğu, lütein hücrelerinin belirginliği dikkat çekmektedir. Korpus luteum (CL)

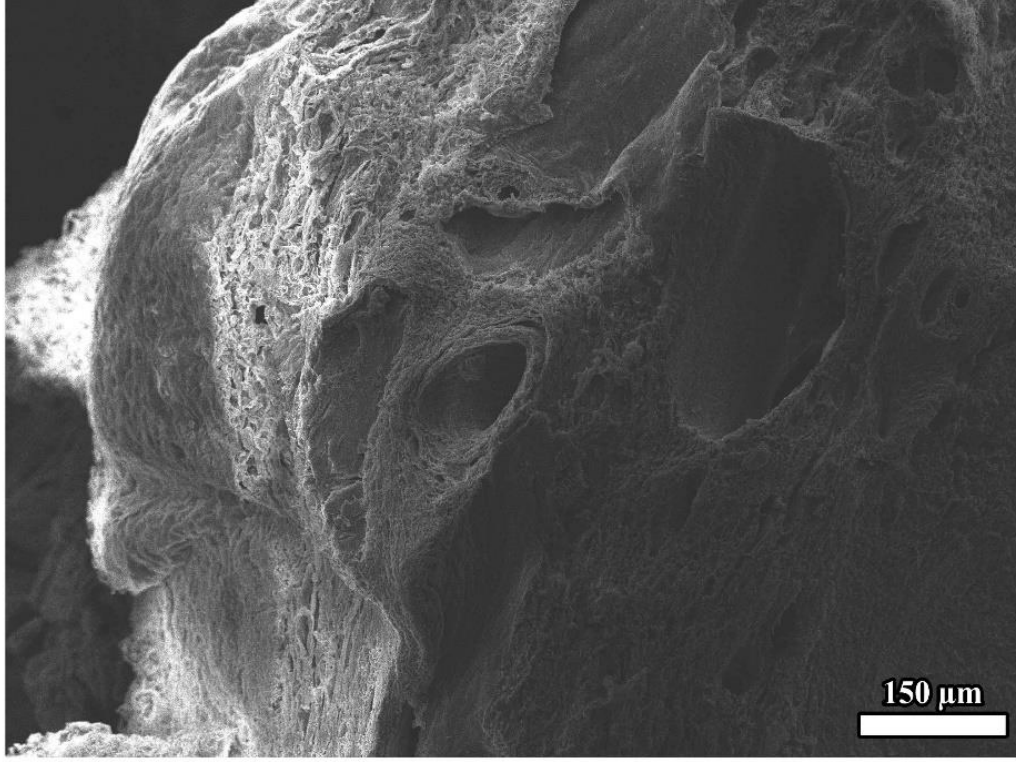


**Şekil 86.** (A, B, C) SEM’de Kontrol grubuna ait ovaryumun genel görüntüsü gözlenmektedir. Yüzey epitelinin korunduğu ve hücreler arası aralığın normal olduğu görüldü. Epitel altındaki bağ dokusu ve diğer yapılar normal görünümdeydi. Bağ dokusu (Ct); Örtü epiteli (Ep)



**Şekil 87.** (A, B, C) SEM'de Kontrol grubuna ait ovaryumda antral folikül görülmektedir. Folikülün yapısındaki elemanlar normal görünümde ve hücre sınırları belirgindir. Antral folikül (AF)

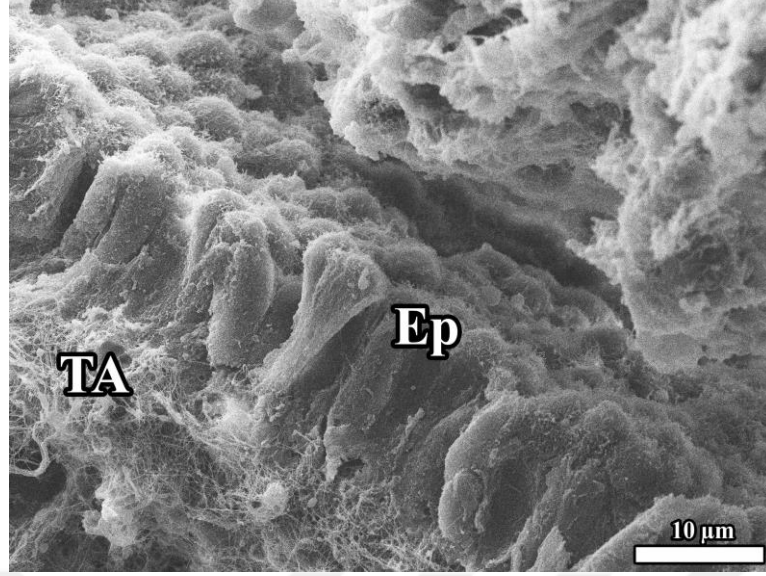




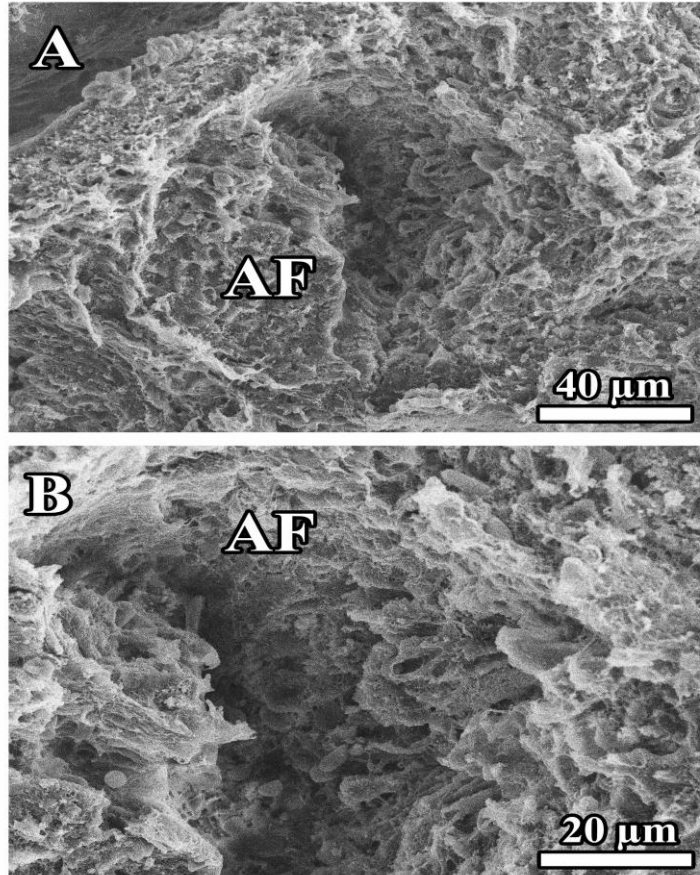
**Şekil 88.** SEM’de Kontrol grubuna ait ovaryumun dıştan görünümü, organa gelen ve organdan çıkan yapıların bulunduğu hilus bölgesi görülmektedir. Organın dış yüzeyindeki bütünlük dikkat çekmektedir

### **Sham Grubuna Ait SEM Bulguları**

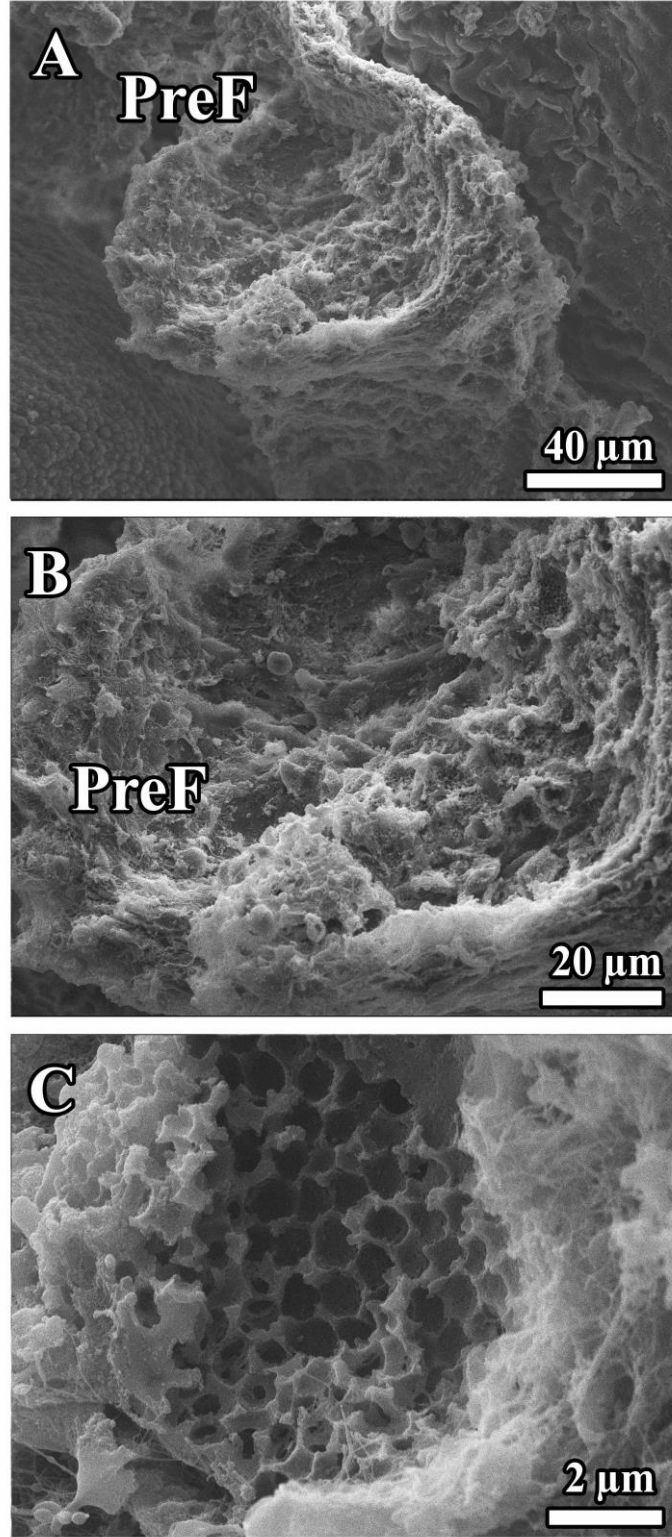
Sham grubu ovaryum dokularına ait SEM görüntüleri incelendiğinde; ovaryumu örten epitel ve epitel hücreler arasındaki aralık normal görünümdeydi. Epitelin altındaki tunika albugineanın iyi geliştiği ve hemen altındaki bağ dokusuna ait liflerin normal olduğu gözlemlendi (Şekil 89, 92). Ovaryum korteksinde yer alan preantral ve antral foliküllerin normal morfolojiye sahip olduğu görüldü. Folikül hücrelerinin yapısının iyi korunduğu ve hücre sınırları belirgindi (Şekil 90, 91).



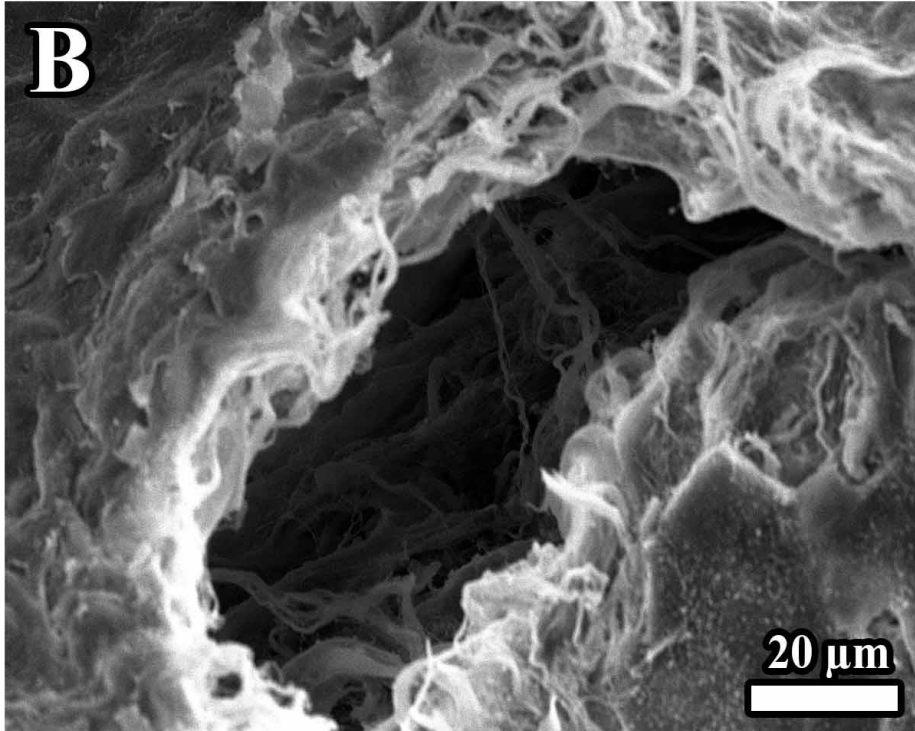
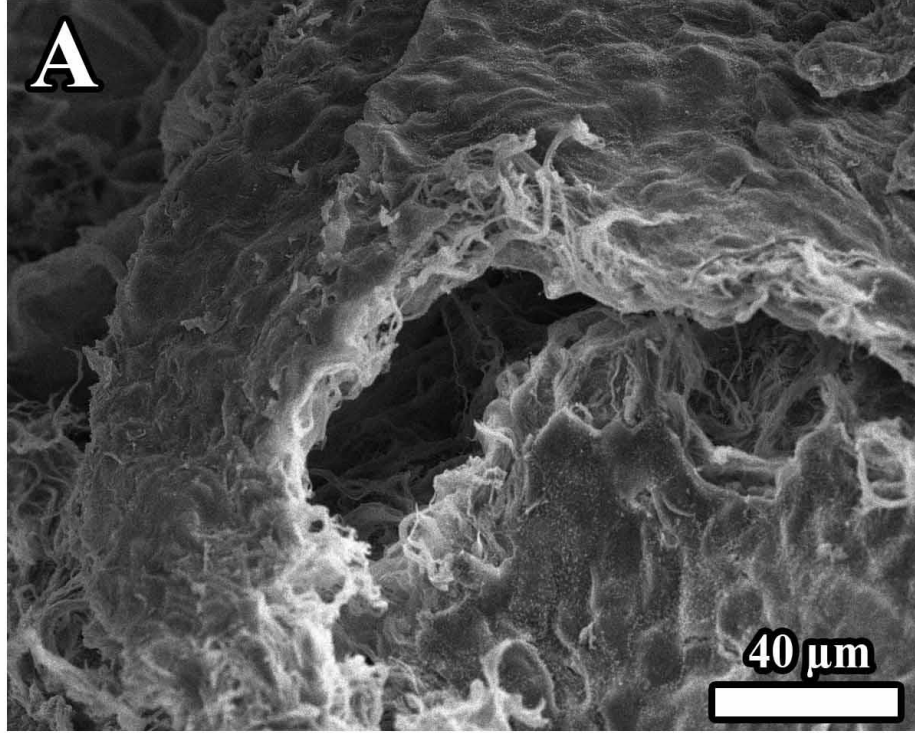
**Şekil 89.** SEM’de Sham grubuna ait ovaryumun dışını örten tek katlı epitel görülmektedir. Epitelin altındaki tunika albuginea iyi gelişmiştir. Hücreler arasındaki aralık normal görünümündedir. Örtü epiteli (EP); tunika albuginea (TA)



**Şekil 90.** (A, B) SEM’de Sham grubuna ait ovaryumda bir antral folikül gözlenmektedir. Granülozum hücrelerinin normal yapıda olduğu ve bu hücre topluluğunun etrafını belirgin bir bazal membran çevrelediği görülmektedir. Antral folikül (AF)



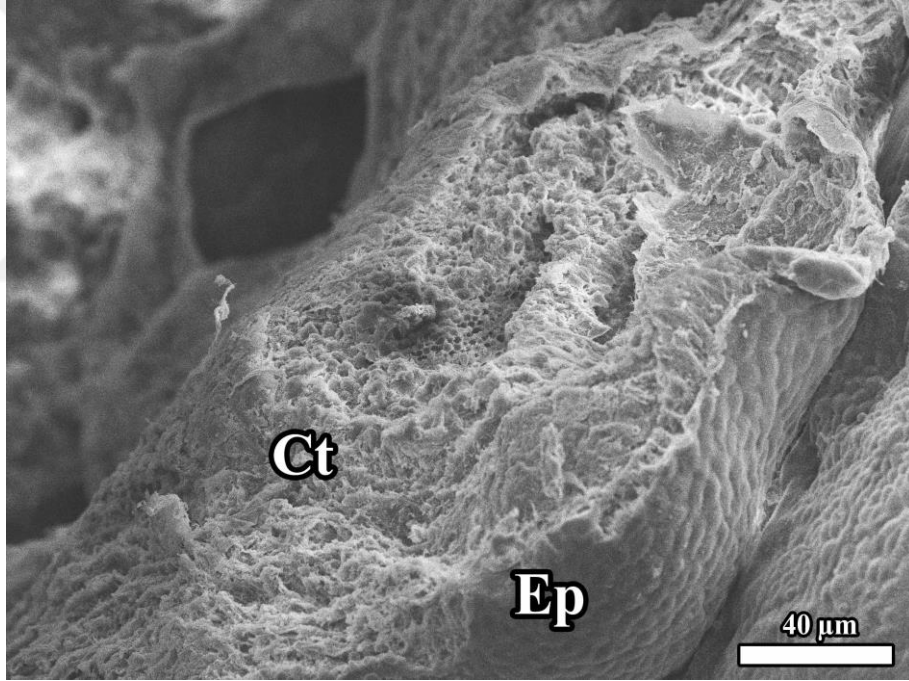
**Şekil 91.** (A, B, C) SEM’de Sham grubuna ait ovaryumda bir preantral folikül gözlenmektedir. Folikül yapısının iyi korunduğu ve hücre sınırlarının belirgin olduğu fark edilmektedir. Preantral folikül (PreF)



**Şekil 92.** (A, B) SEM'de Sham grubuna ait ovaryumun yüzey epiteli ve altındaki bağ dokusu gözlenmektedir. Epitel hücreleri normal yapıda olup tunika albugineadaki bağ dokusu lifleri belirgindir

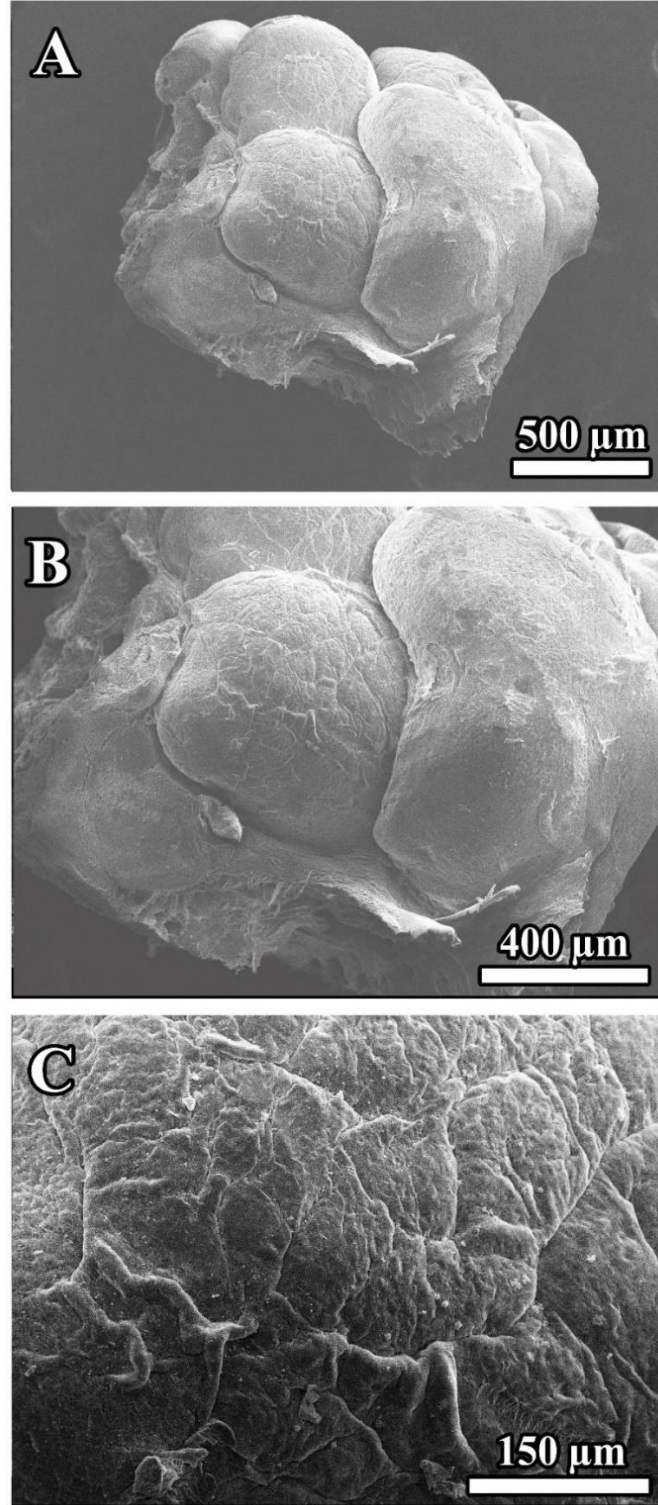
### Hipertiroid Grubuna Ait SEM Bulguları

Hipertiroidi grubu ovaryum dokularına ait SEM görüntüleri incelendiğinde; ovaryumu örten epitel hücrelerinin sınırlarının belirsizleştiği, hücre yüksekliğinin azaldığı fark edildi (Şekil 93, 94, 95, 101). Ovaryumda epitelin hemen altında yerleşen preantral ve primordiyal foliküllerin çevre doku ile bütünlüğünün kaybolduğu, folikül ile çevre doku arasındaki aralıkların genişlediği gözlemlendi (Şekil 96, 99). Hücrelerden fakir olan bağ dokusunun çok fazla miktarda aralığa sahip olduğu, liflerinin aralıklı yerleşim gösterdiği görüldü (Şekil 101). Korpus luteumun yapısında bulunan hücre sınırlarının ve hücrelerin arasında yerleşen kapillerlerin sınırlarının belirgin olmadığı fark edildi (Şekil 97, 98). Hipertiroid grubuna ait ovaryumun medullasında bulunan kan damarlarının sınırlarının belirsizliği ve lümeninde çok sayıda kan hücrelerinin varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 100, 102).



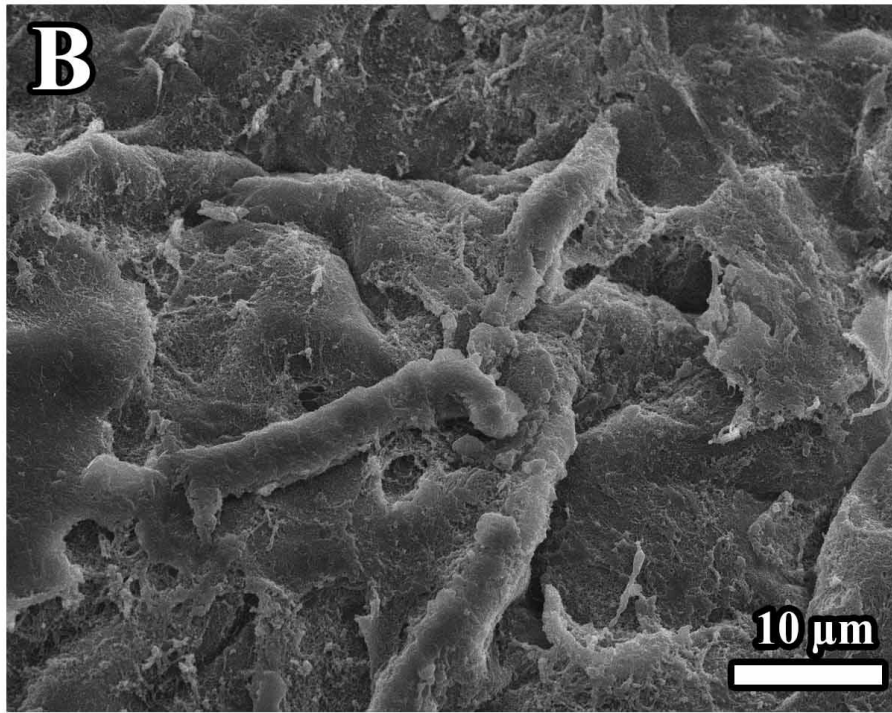
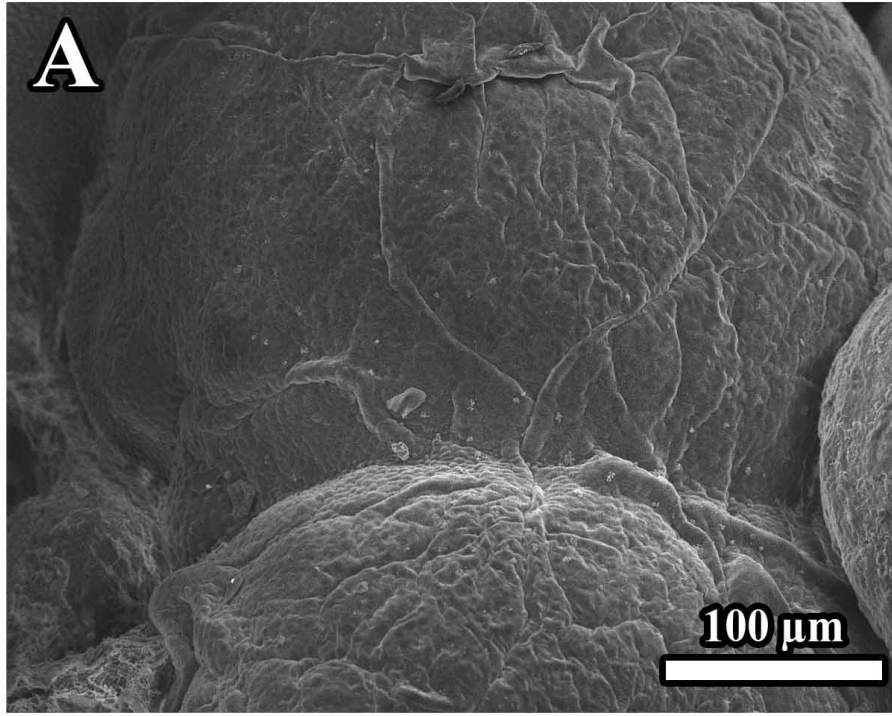
**Şekil 93.** SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumun dış yüzeyini örten epitel ve altındaki bağ dokusu görülmektedir. Dokudaki elemanların sınırlarının düzgün olmadığı fark edildi. Bağ doku (Ct); Örtü epiteli (Ep)



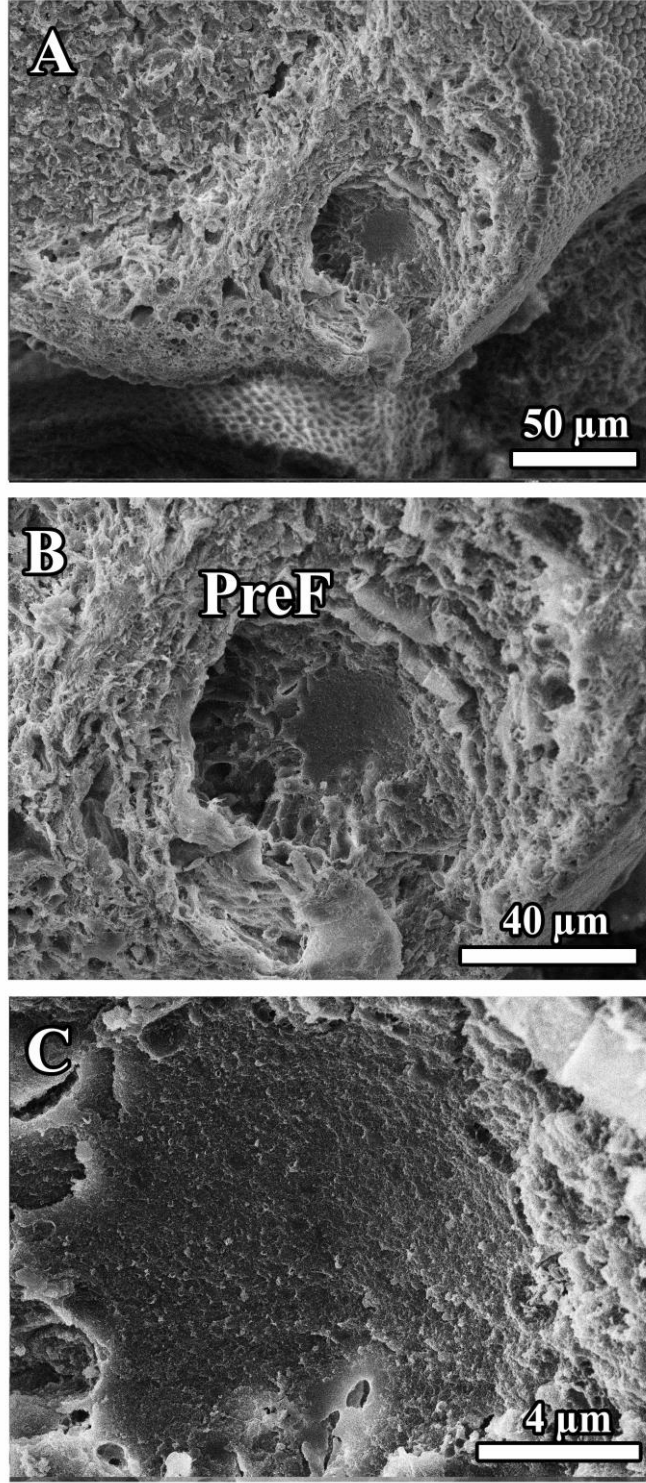


**Şekil 94.** (A, B, C) SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumun dış yüzeyi görülmektedir. Organ, yapısında bulunan elemanlara göre bir lobülasyon göstermekteydi. Yüzeyi örten epitelin yassılaştığı ve hücre sınırlarının belirsizleştiği gözlemlendi. Örtü epiteli, altındaki bağ dokusuna bağlı olarak katlantı göstermektedir

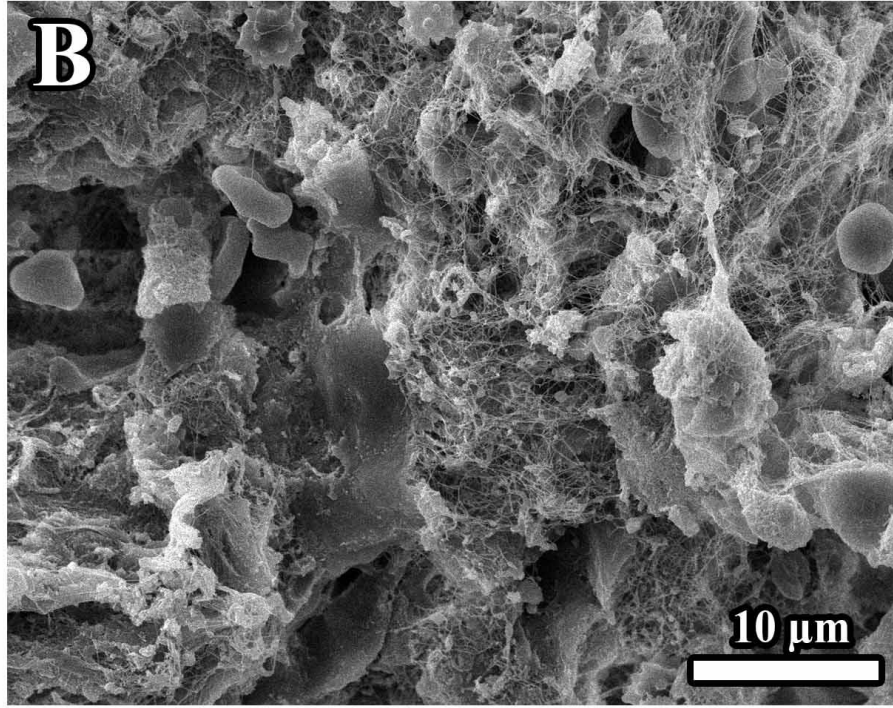
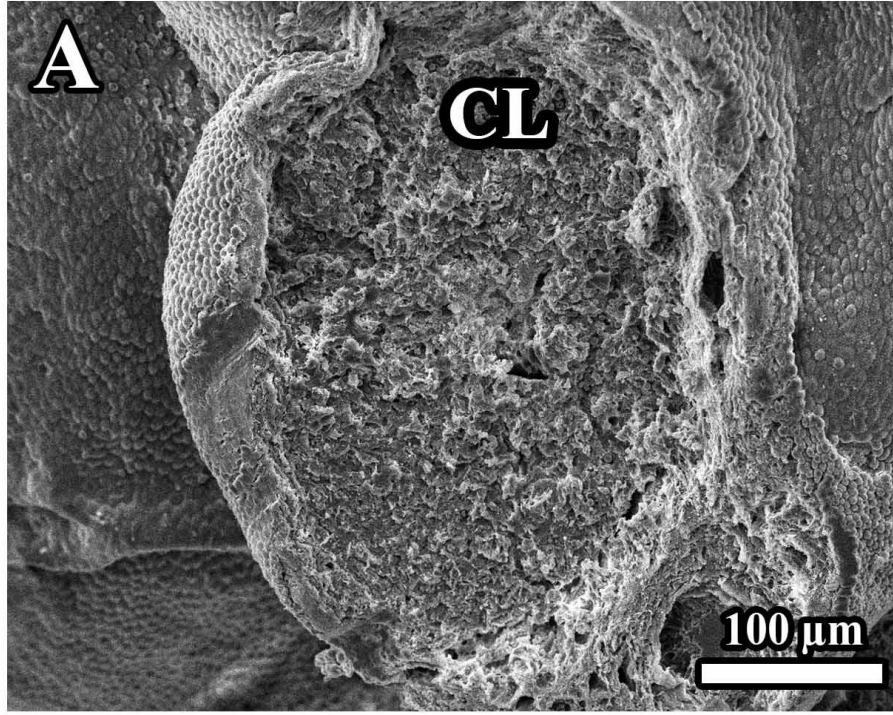




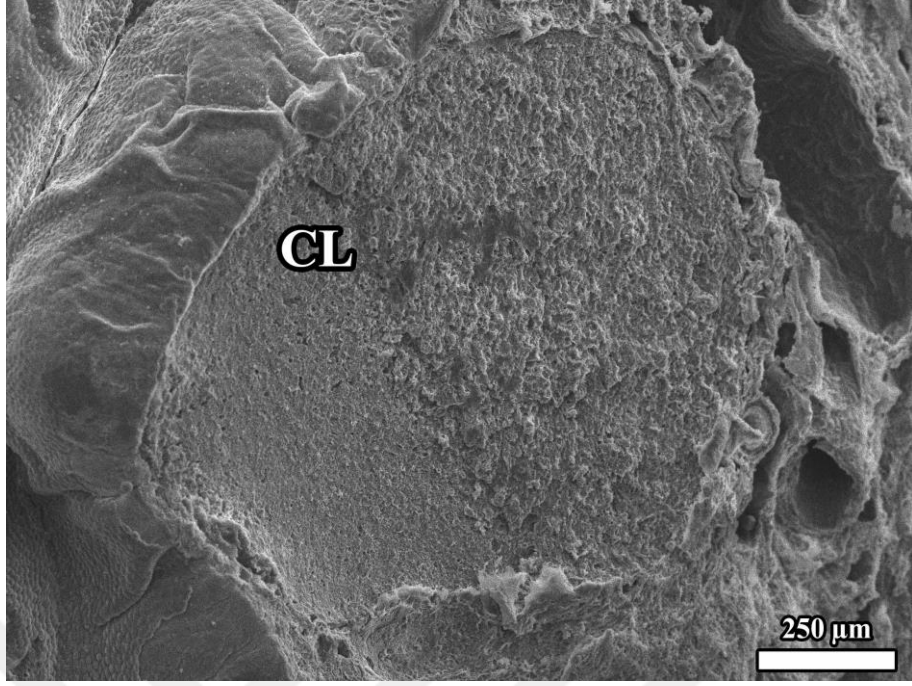
**Şekil 95.** (A, B) SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumun yapısında bulunan bir folikülün dışa doğru kubbe biçiminde yapmış olduğu çıkıntı görülmektedir. Yüzeyi örten epitel hücrelerinin sınırlarının belirsizleştiği fark edildi. (A) Folikülün tepe kısmında yassılaştırmış, epitel hücreleri görünümünde olan bir yapı fark edilmektedir. Bunun dişi cins hücresinin ovulasyonla atıldığı yer olan stigmaya karşılık geldiği düşünülmektedir



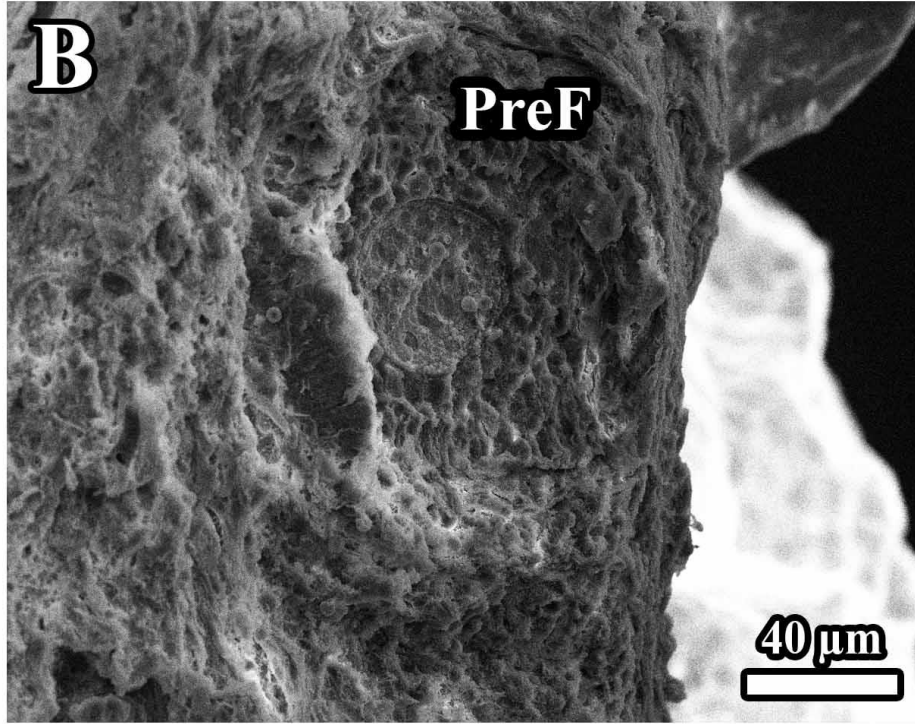
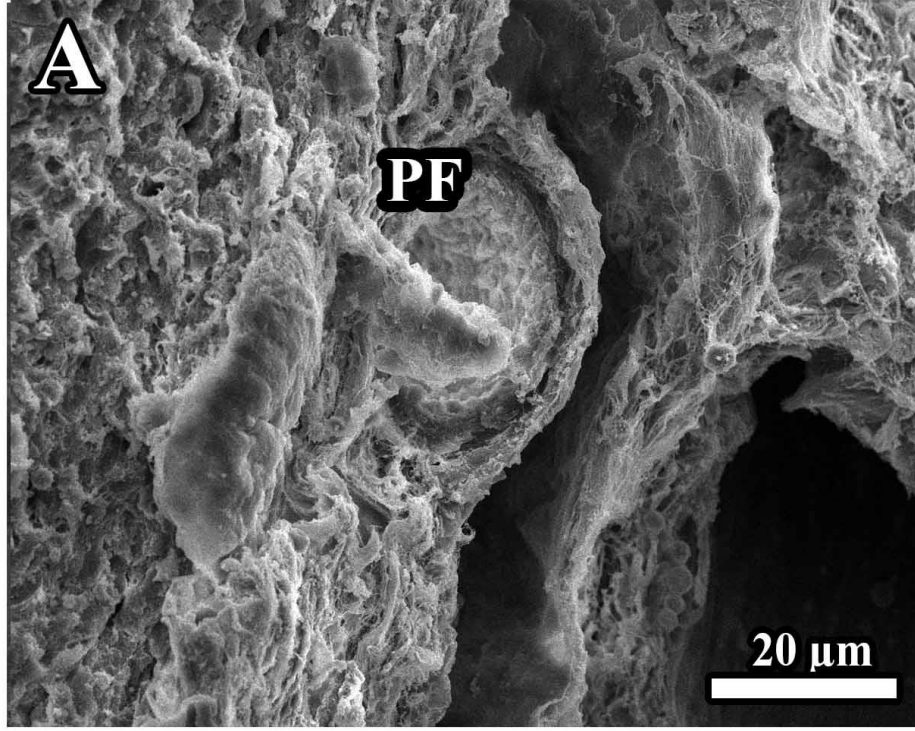
**Şekil 96.** (A, B, C) SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumda yüzey epiteline yakın yerleşim gösteren bir preantral folikül gözlenmektedir. Bu yapının içerisinde oosite ait membran kalıntısının varlığı dikkat çekmektedir. Preantral folikül (PreF)



Şekil 97. (A, B) SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumda bir korpus luteum gözlenmektedir. Lütein hücreleri ve aralarında yerleşen kapillerlerin sınırlarının belirgin olmadığı fark edildi. Korpus luteum (CL)

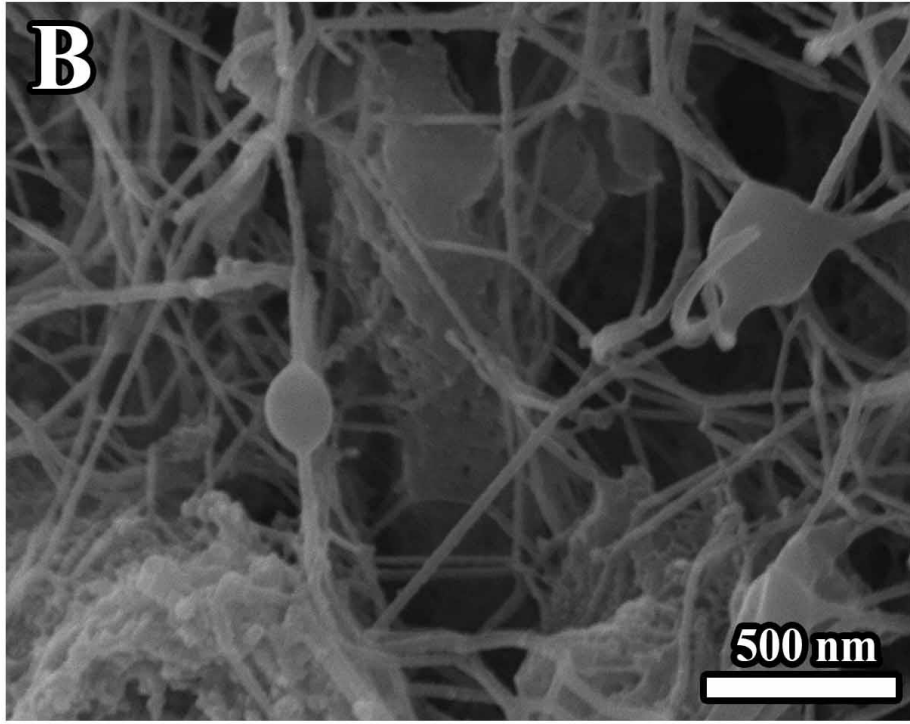
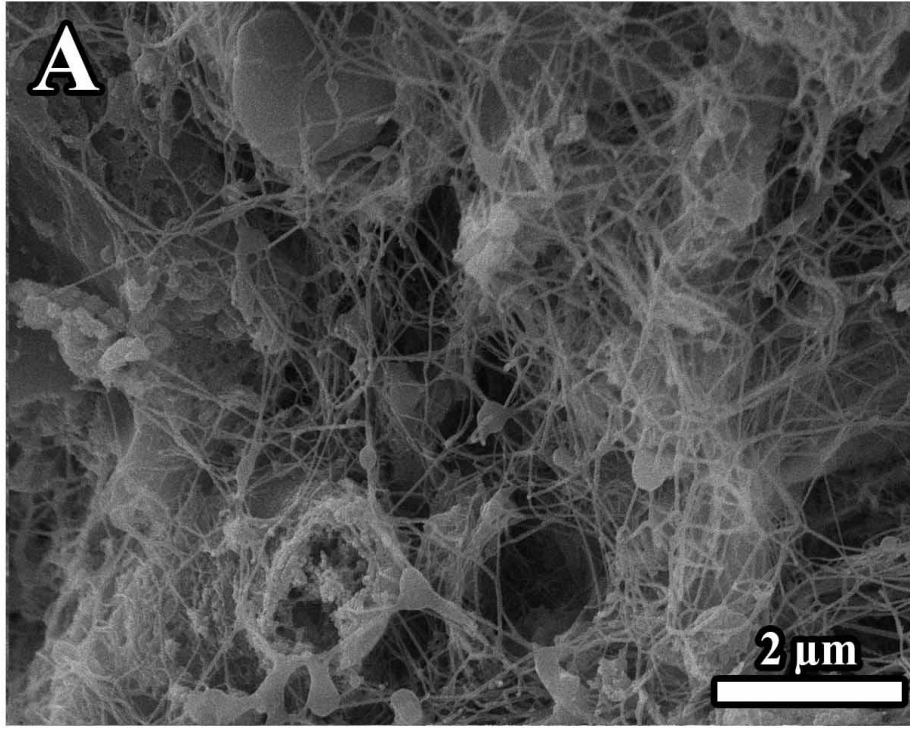


**Şekil 98.** SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumda büyük boyutlu bir korpus luteum görülmektedir. Korpus luteumun yapısını oluşturan hücrelerin sınırlarının belirsiz olduğu kolayca gözlenmektedir. Korpus luteumun (CL)



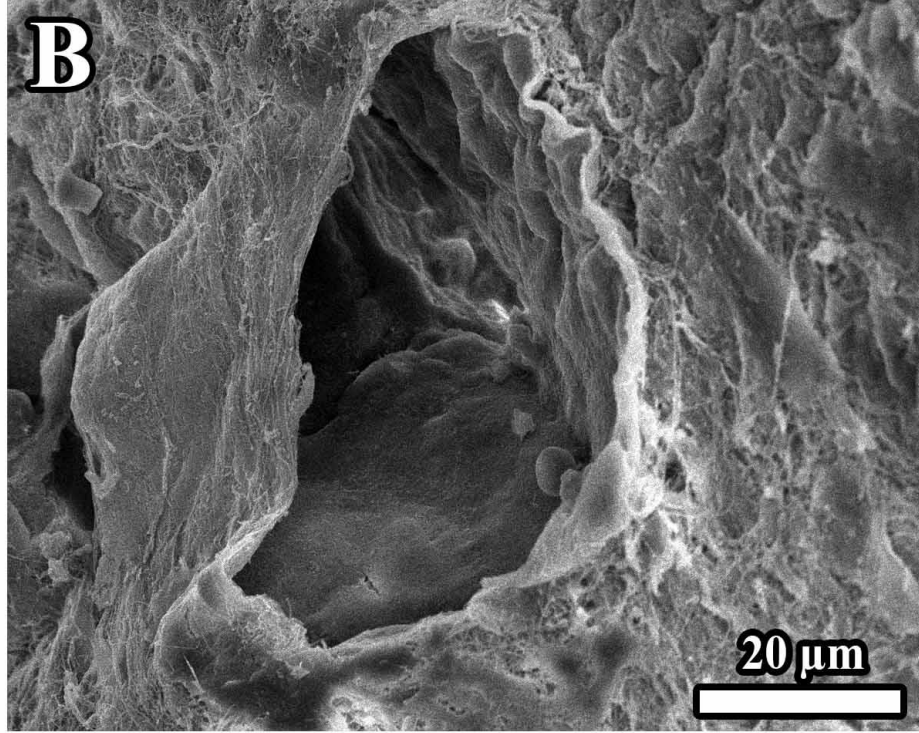
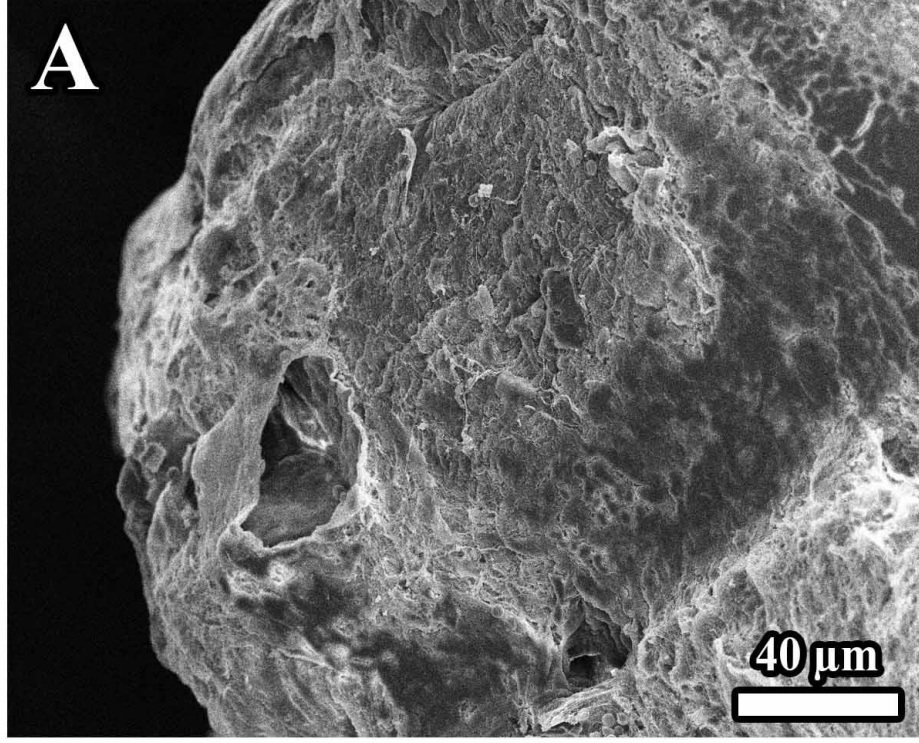
**Şekil 99.** (A) SEM’de Hipertiroidi grubuna ait ovaryumda epitelin hemen altında yerleşen bir primordiyal folikül olduğunu düşündüğümüz yapı görülmektedir. Folikülün çevre doku ile olan bütünlüğünün kaybolduğu gözlemlendi. (B) Preantral foliküle ait yapı görülmektedir. Preantral folikül (PreF); primordiyal folikül (PF)



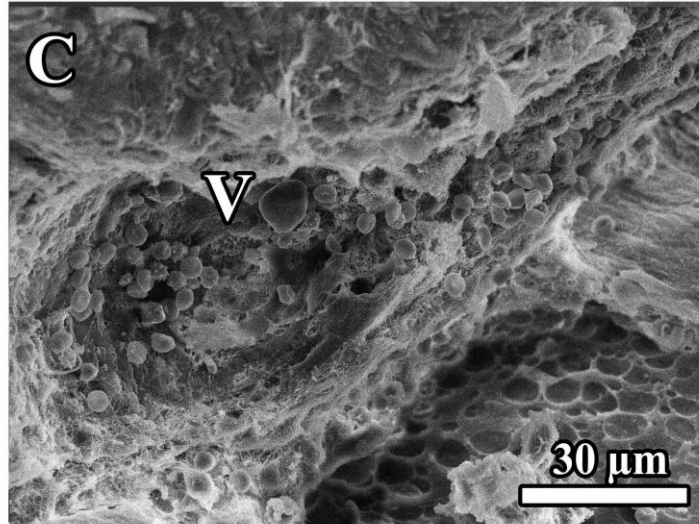
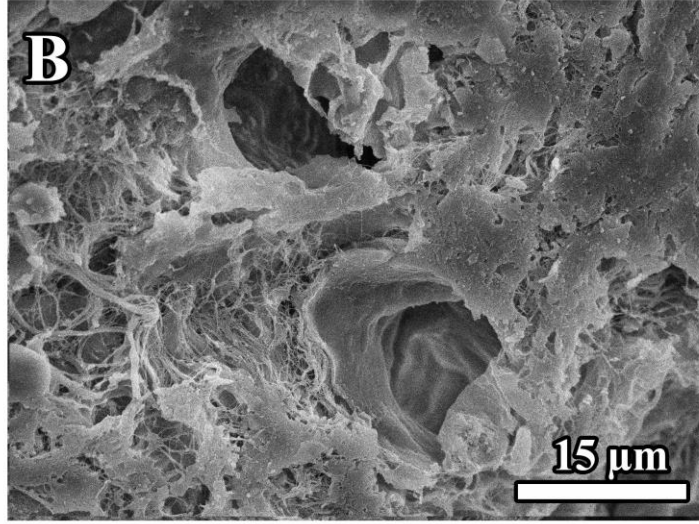
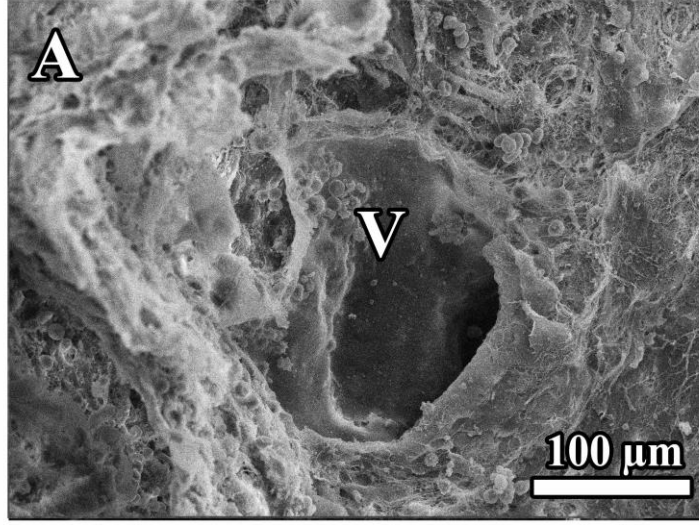


**Şekil 100.** (A, B) SEM'de Hipertiroid grubuna ait ovaryumdaki bağ dokusu görülmektedir. Hücrelerden fakir olan dokunun fazla miktarda aralığa sahip olduğu, liflerin aralıklı yerleşimi dikkat çekmektedir





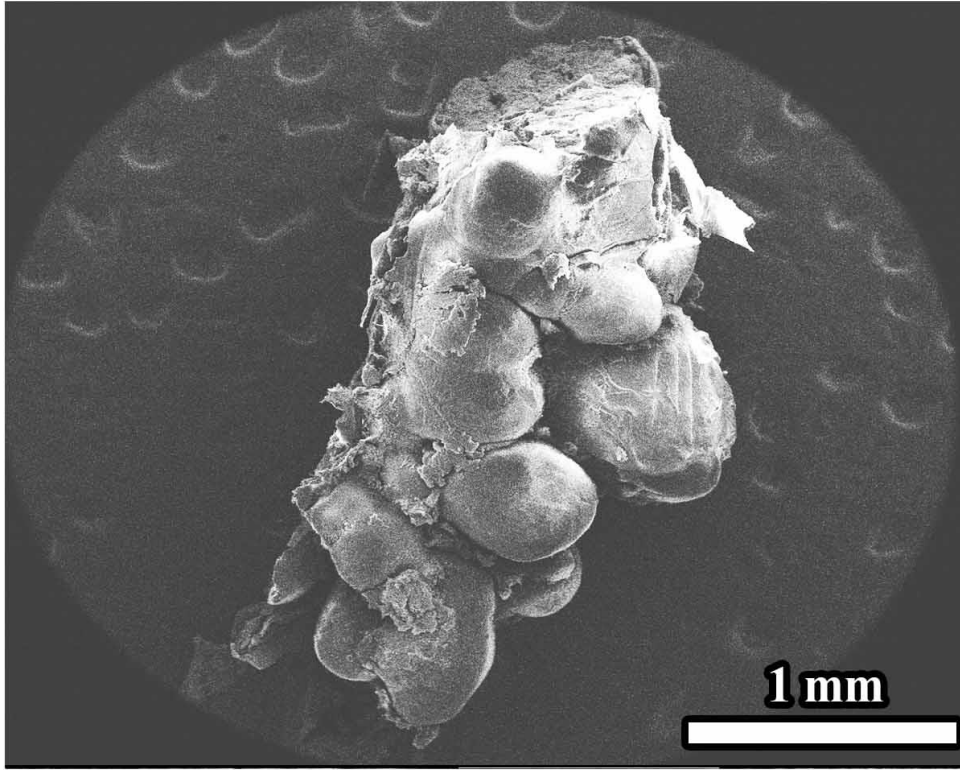
**Şekil 101.** (A, B) SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumun dış yüzeyi görülmektedir. Örtü epiteli hücrelerinin sınırlarının belirsizleştiği ve hücre yüksekliğinin azaldığı fark edildi



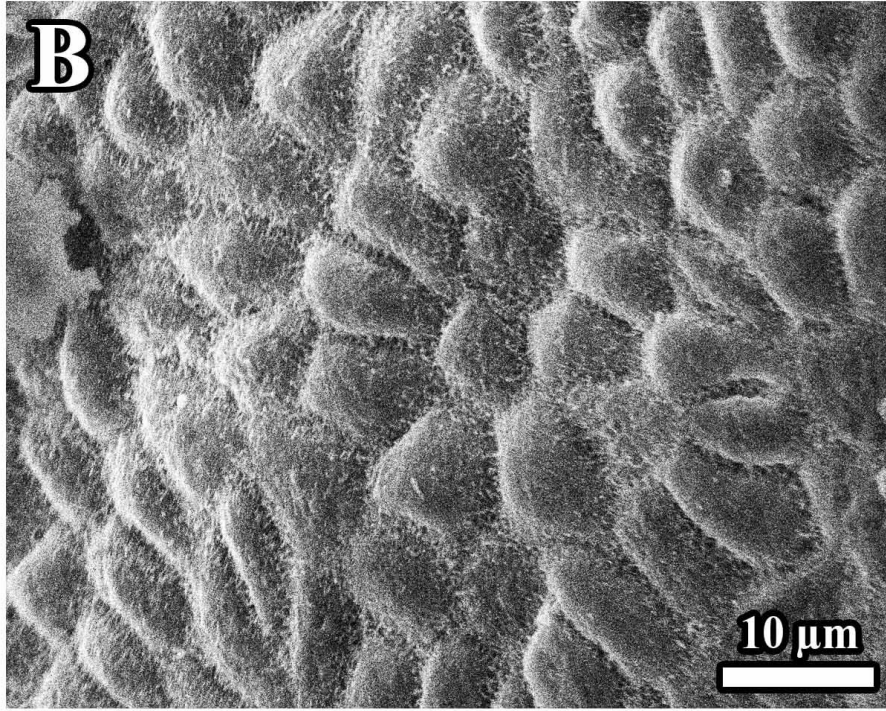
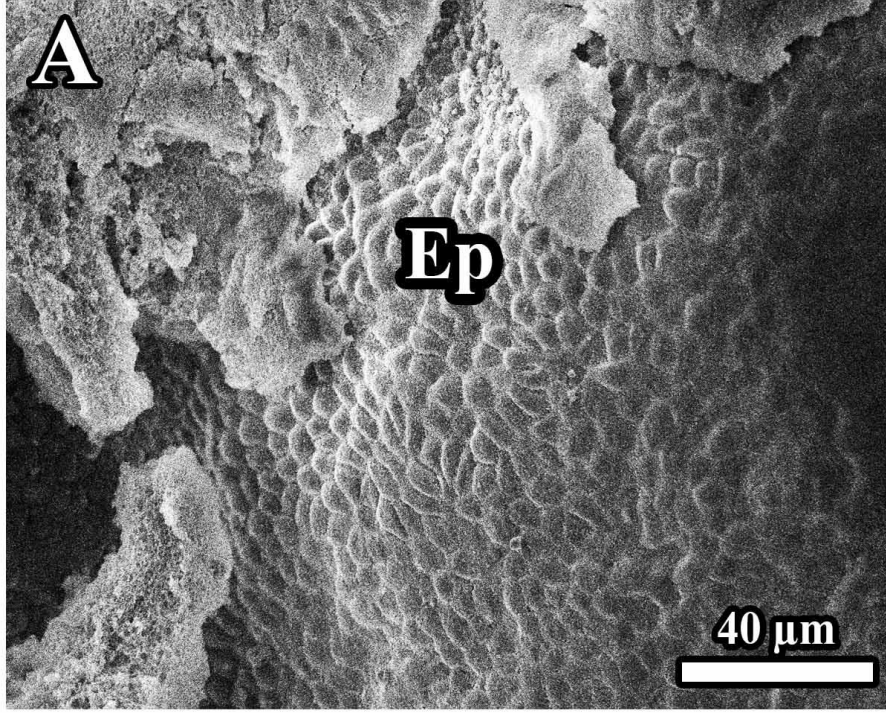
**Şekil 102.** (A, B, C) SEM’de Hipertiroid grubuna ait ovaryumun medullasında bulunan kan damarları gözlenmektedir. Damar sınırlarının belirsiz olduğu ve lümeninde çok sayıda eritrositlerin varlığı dikkat çekmektedir. Damar (V)

### **Hipertiroidi+Vitamin E Grubuna Ait SEM Bulgular**

Hipertiroidi+Vit E grubu ovaryum dokularına ait SEM görüntüleri incelendiğinde; Ovaryumun yapısındaki elemanlara göre bir lobülasyon gösterdiği gözlemlendi (Şekil 103). Ovaryumu örten yüzey epitelin iyi korunduğu, hücreler arası aralığın normal olduğu, apikallerinde farklı genişlik ve uzunlukta sitoplazmik uzantıların varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 104). Ovaryumun yapısında bulunan korpus luteumların düzgün sınırlara sahip olduğu ve yapısındaki lütein hücrelerinin iyi korunduğu gözlemlendi. Bazı korpus luteumların merkezinde görülen açıklığın oositin bıraktığı boşluktu (Şekil 105, 107). Ovaryumda gözlenen tüm foliküllerin ve damarların morfolojik yapılarını koruduğu gözlemlendi (Şekil 106, 108, 109). Damar duvar yapısının normal görünümde olduğu ve sınırlarının kolayca ayırt edilebildiği, bazılarının lümeninde çok sayıda eritrositlerin varlığı dikkat çekmekteydi (Şekil 106).

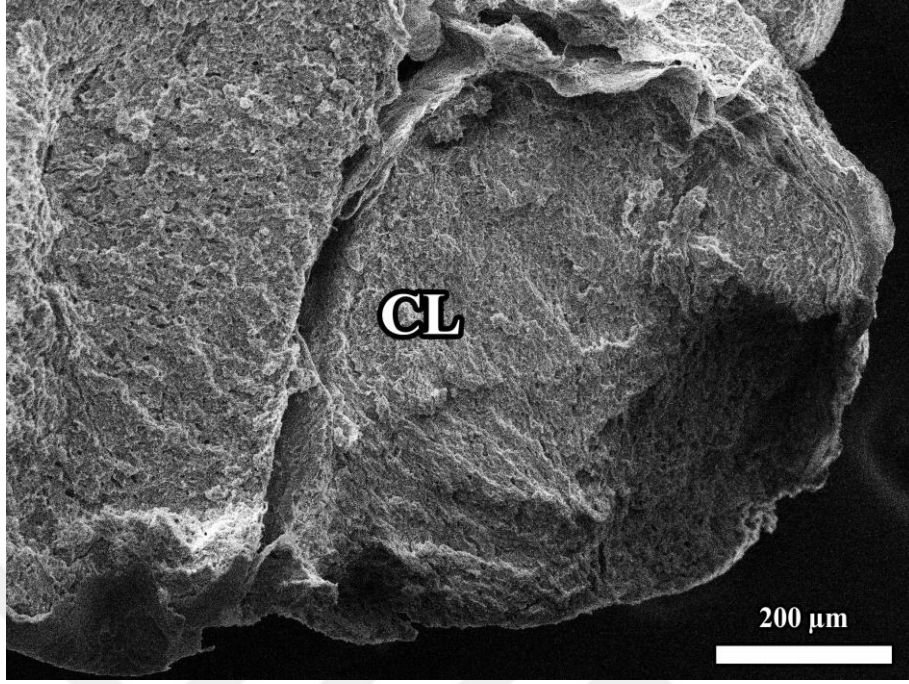


**Şekil 103.** SEM’de Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumun dış yüzeyi görülmektedir. Organın yapısında bulunan elemanlara göre bir lobülasyon gösterdiği gözlemlendi

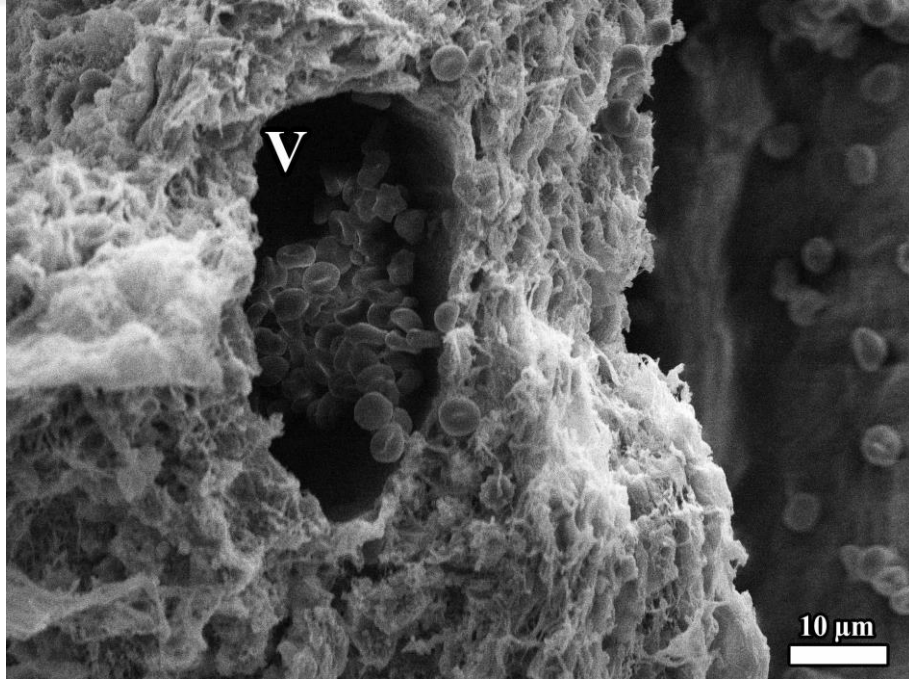


**Şekil 104.** (A, B) SEM’de Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryum yüzey epiteli gözlenmektedir. Epitelin iyi korunduğu, hücreler arası aralığın normal olduğu, apikallerinde farklı boyutta ve uzunlukta sitoplazmik uzantıların varlığı dikkat çekmekteydi. (A) Organın yüzeyinde kan pıhtısı olduğunu düşündüğümüz yapı bulunmaktadır. Örtü epiteli (Ep)

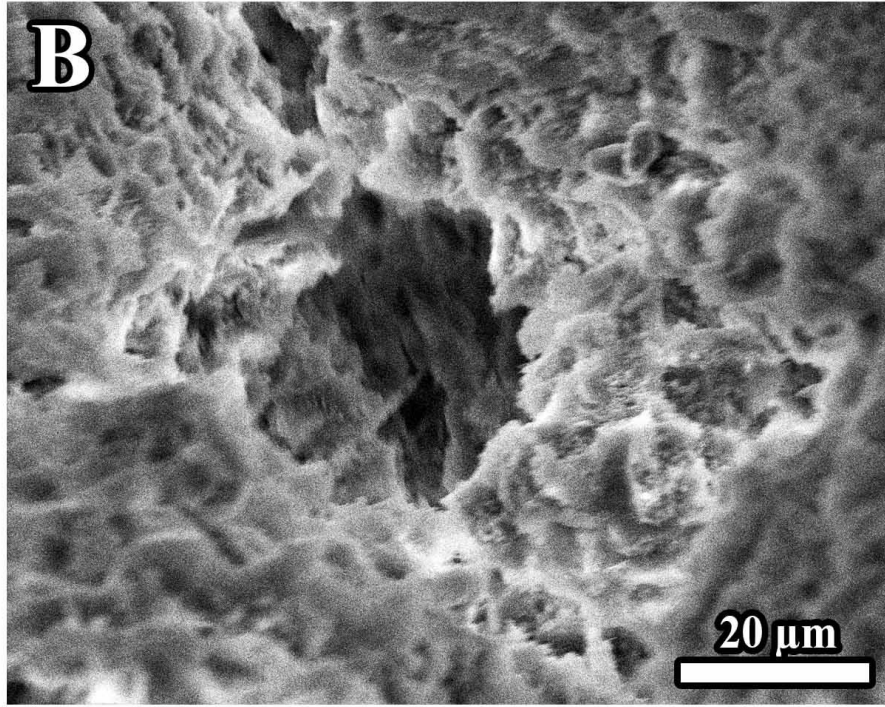
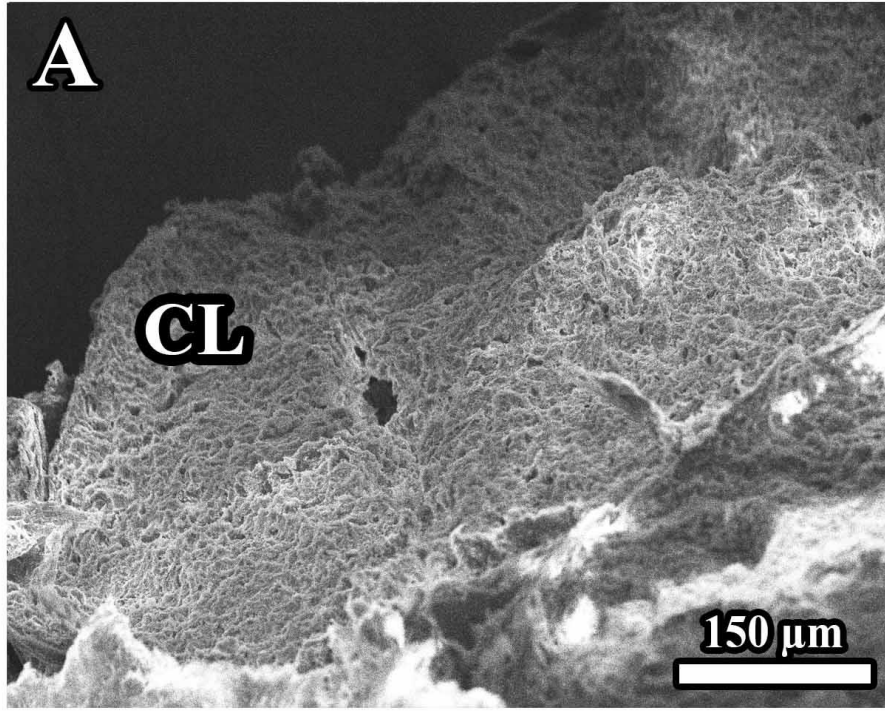




**Şekil 105.** SEM’de Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumun yapısında bulunan bir korpus luteum görülmektedir. Yapı düzgün sınırlara sahipti ve yapısındaki lütein hücreleri belirgindi. Korpus luteum (CL)

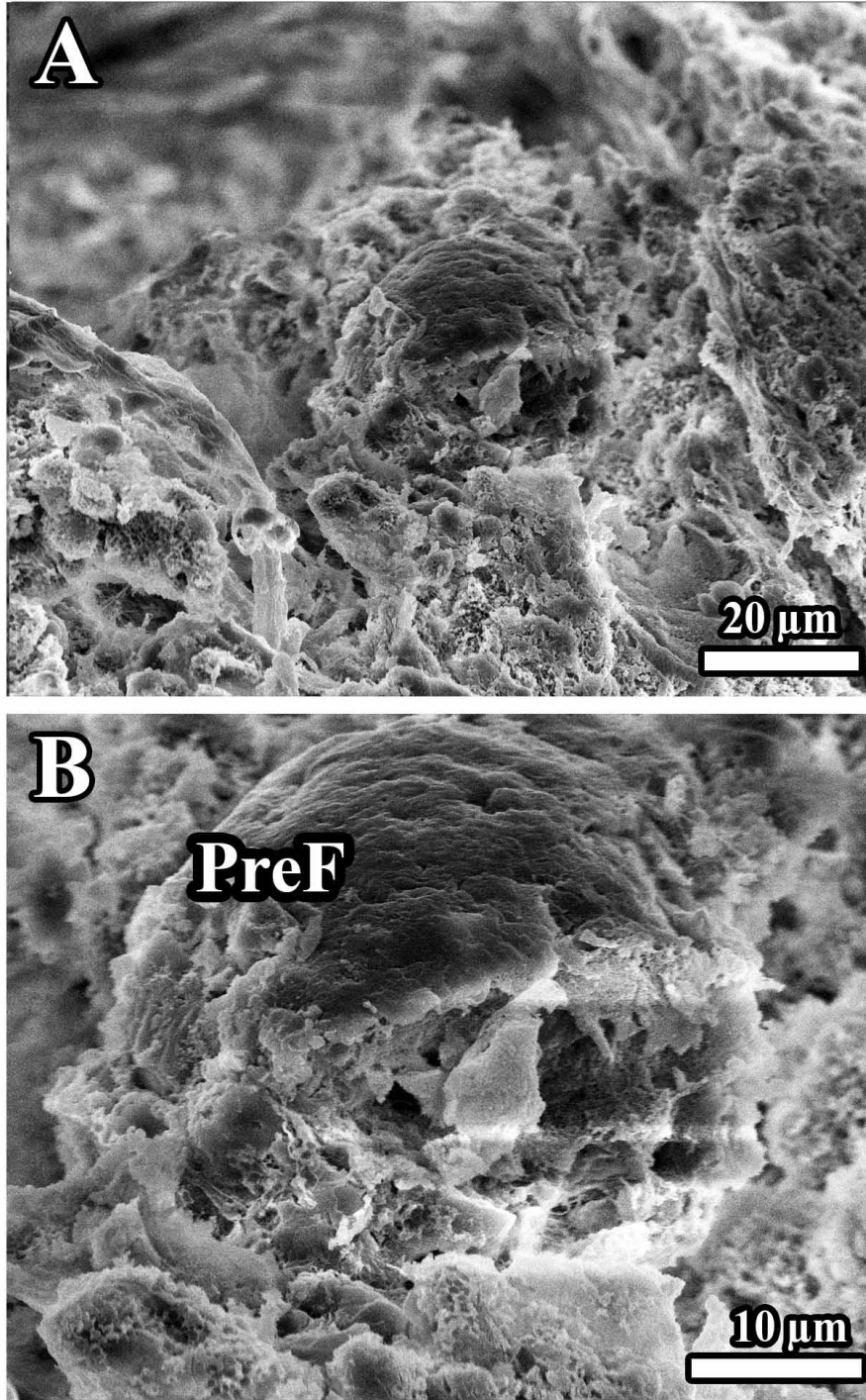


**Şekil 106.** Hipertiroidi+Vitamin E grubunda bulunan kan damarı gözlenmektedir. Damar duvar yapısının normal görünümde olduğu ve lümeninde çok sayıda kan hücrelerinin kümeleştiği gözlemlendi. Damar (V)

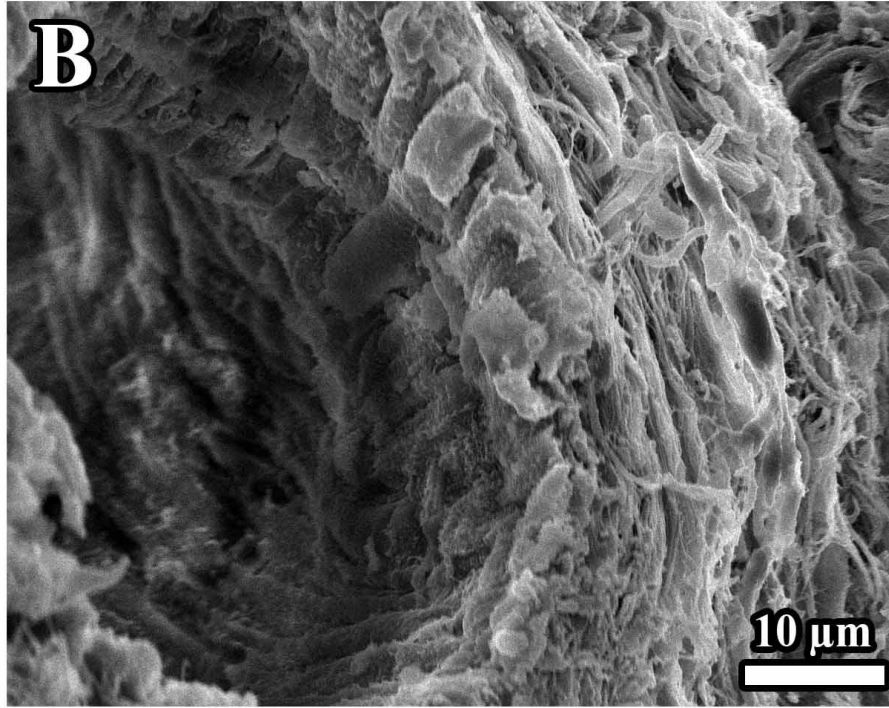
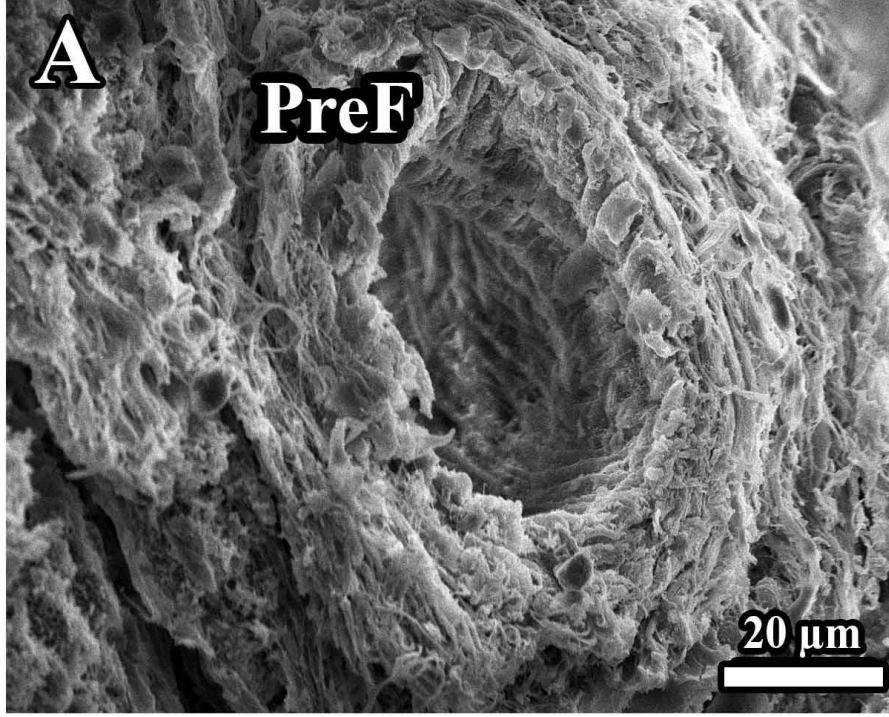


**Şekil 107.** (A, B) SEM'de Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumun yapısında bulunan bir korpus luteum görülmektedir. Yapı düzgün sınırlara sahip olup, lütein hücreleri belirgindi. Korpus luteumun merkezinde görülen boşluk oositin ovulasyonu sonrası oluşan boşluk olduğu düşünülmektedir. Korpus luteum (CL)





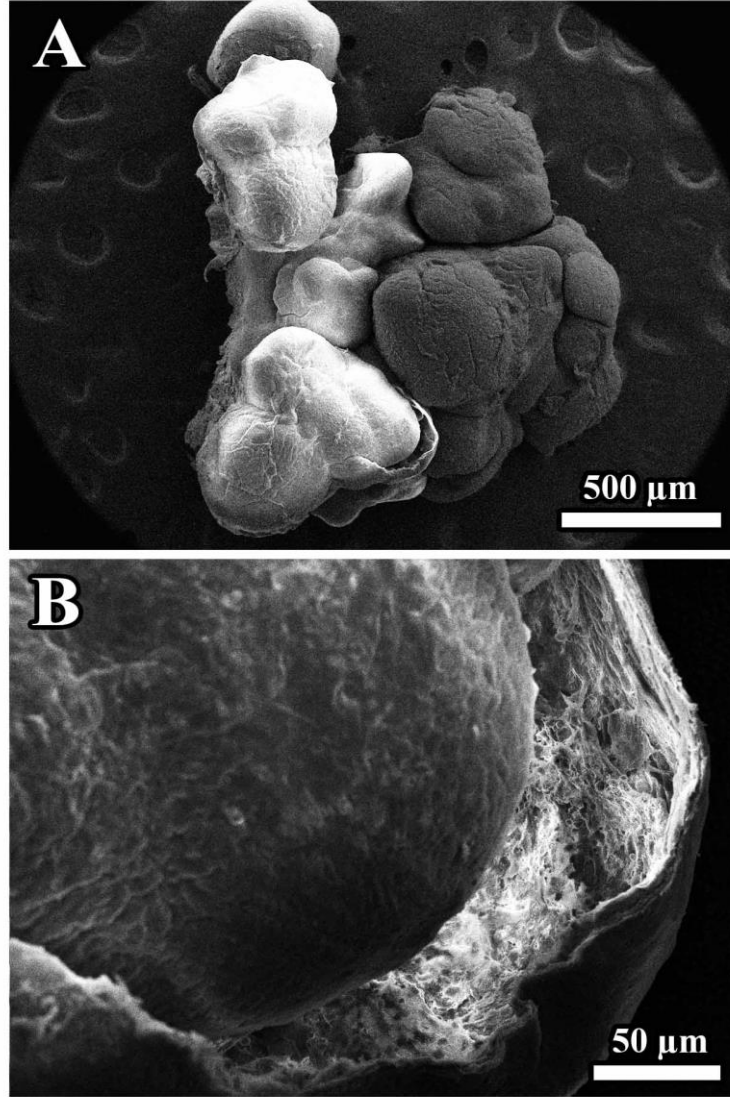
**Şekil 108.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumda preantral folikül yapısı gözlenmektedir. Folikül ve çevresindeki hücrelerin normal görünümüne sahip olduğu gözlemlendi. Preantral folikül (PreF)



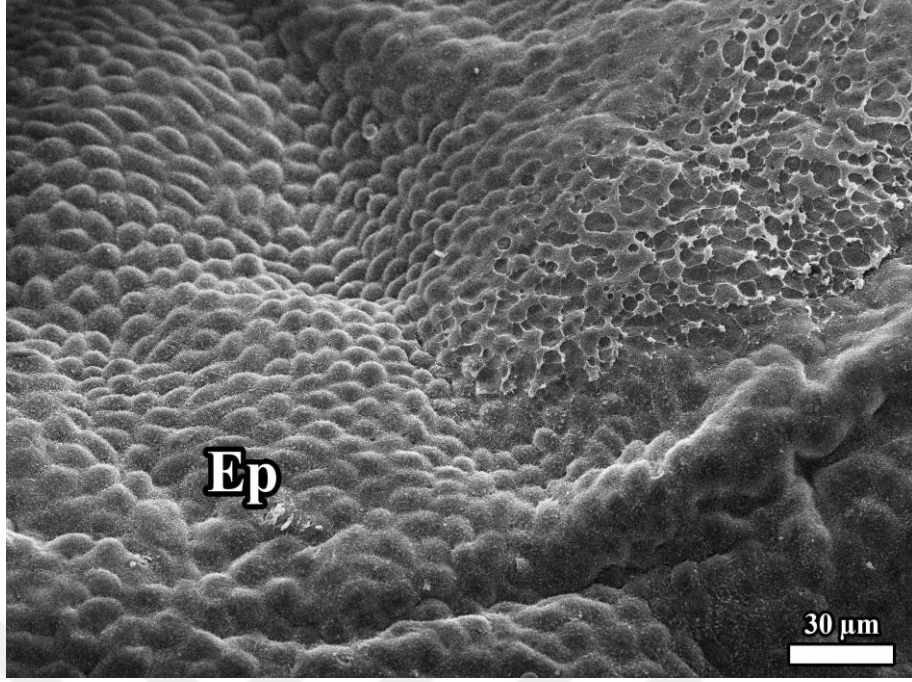
**Şekil 109.** (A, B) Hipertiroidi+Vitamin E grubuna ait ovaryumda preantral folikül gözlenmektedir. Folikülün normal morfolojik yapıda olduğu, yapısındaki foliküler hücrelerin iyi korunduğu ve hücre sınırlarının belirgin olduğu gözlemlendi. Preantral folikül (PreF)

### Vitamin E Grubuna Ait SEM Bulguları

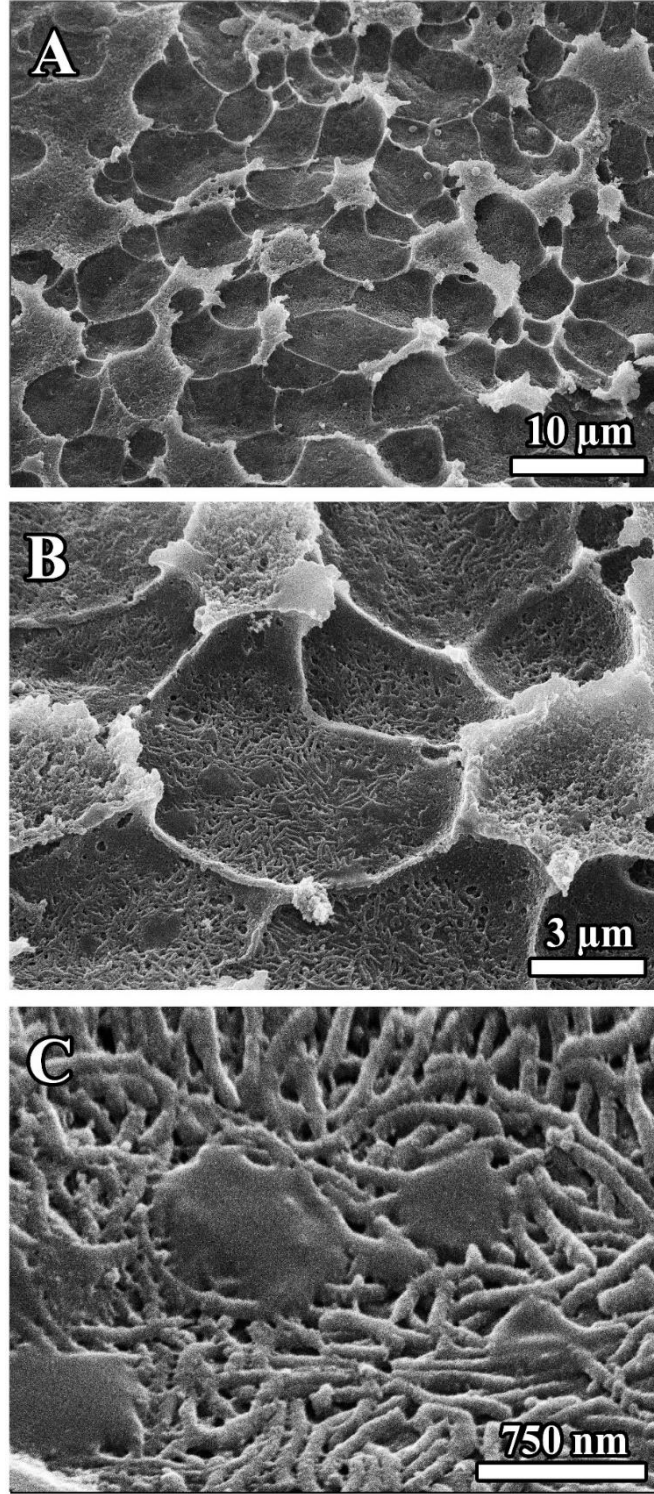
Vitamin E grubu ovaryum dokularına ait SEM görüntüleri incelendiğinde; organın yapısında bulunan elemanlara göre bir lobülasyon gösterdiği ve epitelin altındaki tunika albuginealarının iyi geliştiği görüldü (Şekil 110). Ovaryumu çevreleyen epitel hücrelerinin arasındaki aralığın normal olduğu gözlemlendi (Şekil 111). Epitel hücrelerinin altındaki bazal membran belirgindi (Şekil 112), bağ dokusunda farklı tipte liflerinin varlığı ve lif yoğunluğunun fazlalığı dikkat çekmekteydi (Şekil 113).



**Şekil 110.** (A, B) Vitamin E grubuna ait ovaryumun dış yüzeyi görülmektedir. Organın yapısında bulunan elemanlara göre bir lobülasyon gösterdiği gözlemlendi. (B) Organı çevreleyen tek katlı kübik epitelin hücre sınırları belirgin olup altındaki tunika albuginea iyi gelişmiştir

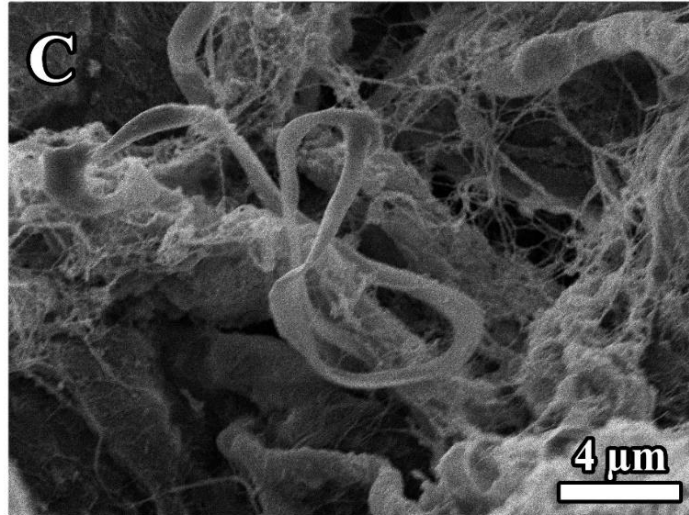
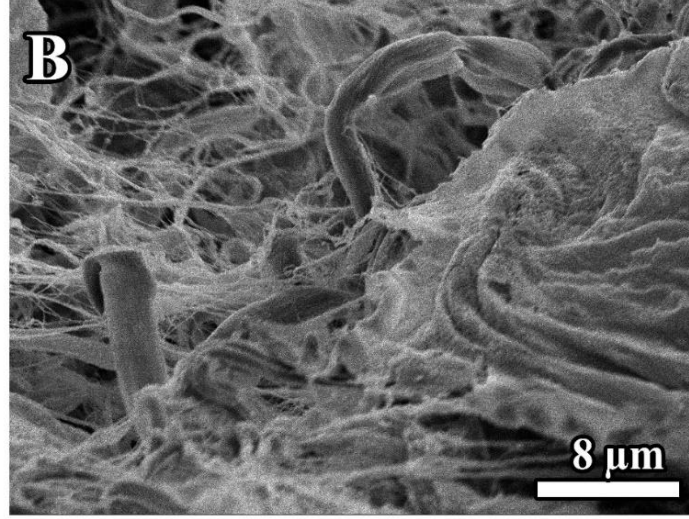
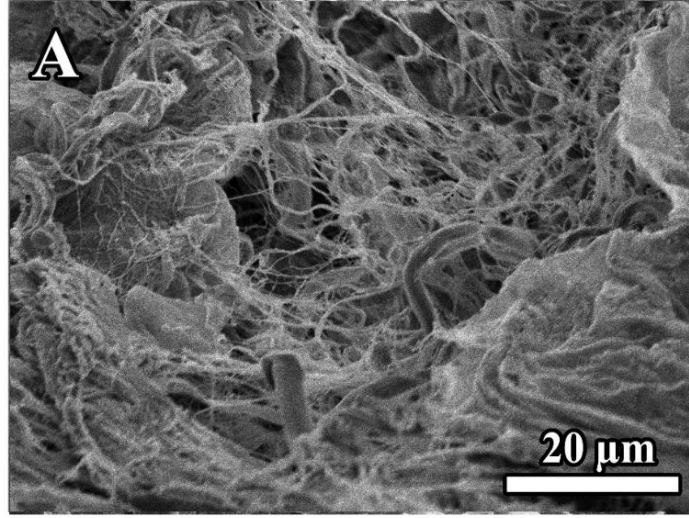


**Şekil 111.** Vitamin E grubuna ait ovaryum yüzey epiteli gözlenmektedir. Tek katlı kübik epitel hücreler arası aralığın normal ve apikallerinin kubbe biçimli olduğu gözlemlendi. Örtü epitelinin bir bölümünde preparasyon sırasında tahrip olduğu (hücrelerin patladığı) görülmektedir. Örtü epiteli (Ep)



**Şekil 112.** (A, B, C) Vitamin E grubuna ait ovaryumda yüzey epitelinin tahribi sonucu ortaya çıkan görüntüler gözlenmektedir. Epitel hücrelerinin altındaki bazal membran olduğu düşündüğümüz yapı görülmektedir





**Şekil 113.** (A, B, C) Vitamin E grubuna ait ovaryumdaki bağ dokusu görülmektedir. Bağ dokuda çeşitli tipte bağ doku liflerinin varlığı ve lif yoğunluğunun fazla olduğu dikkat çekmektedir



## 5. TARTIŞMA

Tiroid hormonları vücuttaki çoğu hücreye etki ederek sistemlerin fonksiyonlarını düzenler. Bu hormonlar, ovaryumlarla sürekli etkileşim halinde olup, üremenin tüm aşamalarında rol oynar (Carp ve ark., 2012). TAI, üreme çağındaki kadınların %5-20'sini etkileyen en yaygın endokrin hastalıktır ve doğurganlığı çeşitli şekillerde etkileyebilmektedir. Son yıllarda, infertilite merkezlerine başvuran tiroid hastalarının prevalansında artış olduğu bildirilmektedir. TAI'nin endometriozis, over yetmezliği ve polikistik over sendromu gibi diğer kısırlık nedenleriyle doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir (Janssen ve ark., 2004; Carp ve ark., 2012).

Üreme sistemi bozuklukları, hipotalamik-hipofiz-over eksenindeki birtakım problemlerden oluşmaktadır. Yaygın olan bu bozukluklar kısırlığa yol açabilmektedir (Idrose, 2015). Hipertiroidizm sonucunda foliküllerde gözlenen morfolojik değişiklikler, gonadotropinlerin hem sekresyonunu hem de etkisini bloke edebilen azalan TSH üretiminin bir sonucu olabilir (Krassas ve ark., 2010). Hipertiroidizm durumunda, hormonal profil değişmekle birlikte serum LH ve FSH artış mekanizmaları belirsizdir ve konunun anlaşılması açısından yeni prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hipertiroidizmde artan metabolizma hızı mitokondriyal fonksiyonları etkileyerek oksidatif strese neden olabilmektedir. Hipertiroidizm kaynaklı oksidatif stres, folikül gelişimini zayıflatarak infertiliteye neden olabilmektedir (Mishra ve ark., 2000; Demirpençe ve ark., 2014). Oositler, kümülüs hücreleri ve granülosa hücreleri tiroid hormon reseptörleri içermektedirler, bu nedenle hipertiroidizmden en çok etkilenen organlardan biri de ovaryum dokusudur. Tiroid hormon seviyelerindeki değişiklikler, bu hücreleri sayı ve/veya kalite açısından olumsuz etkileyebilmektedir (Colicchia ve ark., 2014). Ayrıca, meydana gelen patogenezin hipertiroidizm kaynaklı yüksek ROS seviyelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Hulbert ve Else, 2004; Silvestri ve ark., 2005; Kim, 2008).

E vitamini güçlü antioksidan etkisi nedeniyle uzun yıllardır çalışılmakta ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. E vitamininin hücre içi antioksidan enzimlerini harekete geçirerek ve hücre zarlarının membran bileşenleri üzerinde meydana gelen lipid peroksidasyonundan koruyarak doğrudan serbest radikal süpürücü olarak rol oynadığı düşünülmektedir (Azzi, 2018). Nedeni açıklanamayan infertil hastalarda, E vitamini

takviyesinin kontrollü over stimülasyonunu, folikül sayısını ve endometriyal kalınlığı arttırdığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Molavi ve ark., 2016).

Sunulan çalışmada, hipertiroidinin hipofiz-ovaryum eksenini üzerindeki olumsuz etkileri ve aynı zamanda güçlü bir antioksidan özelliği olan E vitamininin ovaryum üzerindeki olası koruyucu etkisinin olup olmadığı stereolojik, biyokimyasal ve histopatolojik yaklaşımlar kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular, güncel araştırma sonuçları ışığında aşağıdaki şekilde irdelenmiştir.

### **5.1. Hipertiroidi ve Hipofiz-Ovaryum Eksenini**

Çalışmamızda L-tiroksini verilmesi yoluyla hayvanlarda oluşturulan deneysel hipertiroidi modeli, yöntem olarak değerlendirildiğinde daha önce literatürde tanımlandığı şekliyle başarılı bir biçimde uygulandı. Hipertiroidi modelini doğrulamak üzere, 21 günlük deney sonunda hayvanlardan elde edilen serum örneklerinde TSH ve ST<sub>4</sub> hormon düzeyleri değerlendirildi. Elde edilen verilere göre; Hipert grubu, Kont, Vit E ve Sham grupları ile karşılaştırıldığında, TSH değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi (sırasıyla  $p<0,05$ ;  $p<0,01$ ). TSH değerlerinin, Hipert+Vit E grubunda Kont, Sham ve Vit E gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptandı ( $p<0,05$ ). Gruplara ait ST<sub>4</sub> hormon değerleri karşılaştırıldığında; Hipert grubunda ST<sub>4</sub> düzeylerinin Kont, Sham ve Vit E gruplarına kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı arttığı gözlemlendi ( $p<0,01$ ). Benzer biçimde, ST<sub>4</sub> değerlerinin, Hipert+Vit E grubunda Kont, Sham ve Vit E gruplarına kıyasla anlamlı derecede artış gösterdiği saptandı ( $p<0,05$ ). Elde edilen çalışma verileri ışığında hipertiroidi modelinin oluştuğu söylenebilir.

Çalışmamızda ovaryum folikül sayıları stereolojik olarak değerlendirildiğinde, Kont ve Sham gruplarına göre Hipert grubunda primordiyal folikül sayısının anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Benzer şekilde, ovaryumdaki preantral, antral ve toplam folikül sayısı bakımından karşılaştırıldığında Kont grubuna göre, Hipert grubunda ileri derecede bir azalma bulundu ( $p<0,01$ ). Ovaryumdaki foliküllerin hacimsel değerlendirmeleri sonucunda; Kont grubuna göre Hipert grubunda preantral folikül hacminin önemli ölçüde azaldığı gözlemlendi ( $p<0,01$ ). Benzer şekilde, Hipert grubunda antral folikül ve korpus luteum hacimlerinin anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı ( $p<0,01$ ).

Tiroid hormonları ovaryumdaki foliküllerin gelişimi, olgunlaşması ve çeşitli endokrin fonksiyonlarının korunmasında kritik bir rol oynamaktadır (Cecconi ve ark., 1999; Aghajanova ve ark., 2009; Fedail ve ark., 2014). Bununla birlikte, granülosa hücreleri ve oositler de dahil olmak üzere dişi üreme sisteminde tiroid hormon reseptörleri yoğun bir biçimde bulunmaktadır (Colicchia ve ark., 2014). Bu nedenle tiroid hormonlarının büyüme, hücrel oksijen tüketimi, metabolizma, embriyonik gelişim, doku farklılaşması ve olgunlaşma dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçleri düzenlediği bilinmektedir (Wagner ve ark., 2009). Diğer yandan yüksek tiroid hormon konsantrasyonları, granülosa hücrelerinin aromataz aktivitesini azaltarak ve folikül gelişimini bozabilmektedir (Cecconi ve ark., 2004). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, insan ovaryumlarındaki granülosa hücrelerinde fonksiyonel TSHR ekspresyonu bulunmuş ve TSHR'nin yumurtalık fonksiyonunun düzenlenmesinde rol alabileceği gösterilmiştir (Kumar ve ark., 2000; Vischer ve Bogerd, 2003). Ayrıca bazı çalışmalarda TSHR'nin insan ön hipofizindeki folikülostellat hücrelerinde de ekspresyonunun olduğu ve TSHR sinyalinin TSH tarafından parakrin bir şekilde düzenlendiği tespit edilmiştir (Theodoropoulou ve ark., 2000; Brokken ve ark., 2004; Brokken ve ark., 2005). Literatürde var olan tüm bu bilgiler, hipertiroidinin direkt veya dolaylı olarak hipofiziyal eksen üzerinden genital sistem üzerinde kaçınılmaz etkileri olduğunu doğrular niteliktedir.

Tiroid hormonlarının ovaryum dokusu üzerine etkilerini göstermek için yapılan çalışmalarda, hipertiroidinin ovaryum foliküllerini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Skjoldebrand ve ark. yaptıkları çalışmada, hipertiroidizm tedavisi gören üreme çağındaki on sekiz kadının yumurtalıklarına ait ultrasonografi görüntüleri incelenmiş ve sonuç olarak foliküllerin anormal bir boyut ve sayıda olduğu gösterilmiştir (Skjoldebrand Sparre ve ark., 2002). Silva ve ark. çalışmalarında tiroid fonksiyon bozukluğu olan dişi sıçanların korpus luteumlarında proliferatif aktivite, anjiyogenez, apoptoz ve siklooksijenaz ekspresyonunu incelemişler, sonuç olarak hipertiroidizmin, korpus luteumdaki apoptoz düzeyini arttırdığı ve yeni korpus luteum oluşumunu baskıladığını göstermişlerdir (Silva ve ark., 2013).

Hayvan çalışmaları ile tiroid hormonunun, kısmen nitrik oksit sentaz (NOS) yoluyla ovaryum fonksiyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2011; Ding ve ark., 2012). Nitrik oksit (NO) birçok fizyolojik süreçte temel rol oynamaktadır.

Çalışmalar, oositlerin sitoplazmasında üç tür NOS'un olduğunu ve aynı zamanda NOS'un folikül gelişimine önemli derecede etki ettiğini göstermiştir. Fedail ve ark. over foliküllerinin gelişimi üzerine tiroid hormonlarının rolünü araştırmışlardır. Yeni doğan dişi sıçanların ovaryumlarında yaptıkları immünohistokimyasal boyamalar sonucunda yüzey epiteli, büyüyen oositler, granülosa hücreleri ve antral foliküllerde NOS'ın eksprese edildiğini göstermişlerdir. Çalışma sonucunda, hipertroidinin ovaryumda lokalize olmuş NOS sinyal yolağını değiştirerek folikül gelişimi olumsuz etkilediğini ve primordiyal, primer, sekonder folikül sayısını kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır (Fedail ve ark., 2014). Zheng ve ark. hipertroidi modeli oluşturdukları hayvanlarda, hipertroidinin ovaryumdaki NOS aktivitesini değiştirerek büyük çaplı antral folikül sayılarını kontrol grubundaki folikül sayılarına göre anlamlı derecede azalttığını bulmuşlardır (Zheng ve ark., 2015).

Çalışmamızda, Sham grubunda foliküllerdeki sayısal ve hacimsel azalmanın nedeninin gavaj uygulamasından kaynaklanan bir strese cevap olarak geliştiğini düşünmekteyiz. Oral gavaj yöntemi fiziksel strese neden olabilir ve dolayısıyla kan basıncını, kalp atış hızını ve kan katekolamin seviyelerini artırabilir (Kramer ve ark., 2000). Sham grubundaki hayvanlara uygulanan çözeltinin yoğunluğu ve hacmi işlemin oluşturduğu stres düzeyini arttırabilir (Brown ve ark., 2000; Bennink ve ark., 2003; Balcombe ve ark., 2004). Bazı durumlarda, istemeden trakeal uygulama, reflü, aspirasyon, travma, özofagus tahrişi gibi ciddi komplikasyonlar da hayvanlarda önemli derecede strese neden olabilir (Murphy ve ark., 2001; Damsch ve ark., 2011; Eichenbaum ve ark., 2011). Bir çalışmada mısır yağının (40 mL/kg) gavaj yoluyla uygulanması hacme bağlı şekilde bir stres tepkisi yarattığı ve bunun da plazma kortikosteron seviyesini yükselttiği bildirilmiştir (Brown ve ark., 2000). Herhangi bir toksik madde kullanılmadan gavaj uygulamasının yarattığı stresin nedeninin, glutamaterjik transmisyon aktivasyonunun indüklenmesi sonucunda ortaya çıktığı söylenebilir, bu durumun N-metil-D-aspartik asit reseptörleri üzerinden gerçekleştiği bildirilmektedir (McEwen, 2007). Çalışmamızın sonuçları, hipertroidizmin ovaryumda toplam folikül sayısını azalttığını gösteren çalışmaların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Fakat literatürde stereolojik teknikler kullanılarak hipertroidinin ovaryum folikül sayıları üzerindeki etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Hipertiroidinin ovaryum folikül sayıları üzerindeki etkilerini araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Çalışmamıza ait tüm gruplardaki ovaryum dokularında Cavalieri yöntemiyle hesaplanan korteks hacim analizlerinin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; Hipert grubunda korteks hacmi, Kont ve Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma göstermiştir. Buna karşın, bağ doku hacim değerleri karşılaştırıldığında Hipert grubunun hacim değerlerinin Kont grubu değerlerine göre önemli derecede arttığı gözlendi. Çalışmada, Hipert grubunda ovaryum korteks haciminde görülen azalmanın nedeninin ovaryum foliküllerinin hem sayısal hem de hacimsel olarak azalmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çalışmamızda ovaryum dokularında görülen korteks hacminin azalması ve artan bağ dokusu hacim bulguları over fibrozunun patolojik özellikleri (primer kalın bir kapsül, artmış bağ dokusu ve azalmış veya yok olmuş foliküller) ile benzerlik göstermektedir. Over fibrozisi temel olarak cerrahi, inflamasyon, immün anormallikler ya da dokularda artan ROS ile tetiklenen bir durumdur (Libby, 2007; Sziksz ve ark., 2015). Doku onarımı sırasında, çok sayıda sitokin etkileşime girer, ekstrasellüler matriksin birikmesini kolaylaştırır ve sonuç olarak dokuda fibrojeniz meydana gelir (Wynn ve Ramalingam, 2012; Briley ve ark., 2016; Zhou ve ark., 2017). Ovaryum fibrozu olan hastalar kısırlığa duyarlıdır ve fertilitte tedavisine verilen yanıtları azaltma eğilimindedirler. Transformasyon büyüme faktörü- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) fibrozisin oluşumunda ve gelişiminde önemli rol oynayan bir sitokindir. Ovaryumda TGF- $\beta 1$  düzeylerinde anormal artış, foliküler displaziye ve yumurtlama yetmezliğine neden olabilir. alışmalar hipertiroidinin dokularda TGF- $\beta 1$ 'i arttırdığını göstermektedir (Yokota ve ark., 2000; Kotajima ve ark., 2010). Hipertiroidli hastalarda TGF- $\beta 1$ 'in anormal derecede artış göstermesi hipotezimizi destekler niteliktedir. Her ne kadar literatürde ovaryum fibrozu ile hipertiroidizmi bağdaştıran çalışmaya rastlanmasa da var olan bu problemin tüm yönleriyle aydınlatılması için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Çalışmamızda Cavalieri yöntemiyle hesaplanan damar hacimleri, gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemişti. Hipertiroidizmin kardiyovasküler sistem üzerindeki en önemli etkileri bazal metabolizma hızının arttırması ve buna bağlı olarak gelişen taşıkardi, kalp yetmezliği ve kalp debisindeki artıştır. Treesh ve Khair çalışmalarında 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'lık eltroksin

uygulamasını ile oluşturulan hipertiroidi modelinde ovaryum damarları üzerine en çarpıcı etkinin damar tıkanıklığı olduğunu bildirmişlerdir (Treesh, 2014). Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada 40 µg/kg L-tiroksin verilerek oluşturulan hipertiroidi grubuna ait dişi ovaryumlarında belirgin damar tıkanıklıklarının olduğu gözlenmiştir (Abd-El, 2011). Literatür kapsamlı bir şekilde incelendiğinde, hipertiroidinin damar hacmi üzerine etkisini değerlendiren stereolojik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda hipertiroidinin damar hacmi üzerinde bir değişikliğe neden olmaması, hipertiroid modeli için uygulanan L-tiroksinin dozunun (0,3 mg/kg/gün) damar hacmini değiştirecek düzeyde bir etki oluşturmaması olabilir. Bu konunun açığa kavuşturulması için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Çalışmamıza ait ovaryum dokularından elde edilen ışık ve elektron mikroskopik görüntüler değerlendirildiğinde, Kont, Sham ve Vit E gruplarına ait ovaryumlarının yüzey epitelinin ve tunika albugineasının normal görünümüne sahip olmasına karşın, Hipert grubunda tek katlı epitelin bazı alanlarda kübik, bazı yerlerde ise yassılaştığı ve aynı zamanda epitel hücreleri arasında çok sayıda koyu boyanan hücrelerin olduğu gözlemlendi. Hipert grubunda, foliküllerin duvarında koyu boyanan ve apoptoza gittiğini düşündüğümüz hücreler ile granülozom hücrelerinin belirsiz denebilecek hücre sınırlarının olduğu fark edildi. Hücreler arasında çok sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı burada oksidatif stresin oluşturduğu dejenerasyonunun şiddetli olduğunu düşündürmektedir. Aynı zamanda Hipert grubunda, oositi çevreleyen zona pellusidanın diğer gruplara nazaran daha ince olması dikkat çekmekteydi. Korpus luteuma ait görüntüde lütein hücrelerinin sınırlarının belirsiz olduğu, hücre çekirdeklerinin nispeten küçüldüğü ve kapiller lümenlerinin genişlediği gözlemlendi. Sonuç olarak, hipertiroidi kaynaklı oksidatif stresin ovaryum dokusunda foliküllerin morfolojik yapılarında dejenerasyona neden olduğu, normal gelişim süreçlerini ve fonksiyonlarını etkilediğini düşünmekteyiz.

Çalışmalarda hipertiroidi ve hipotiroidinin hipotamik-overyel eksen üzerinde oluşturduğu olumsuz etki ikili arasındaki dengenin bozulmasına yol açarak, hormonal seviyelerinin değişmesine neden olduğu ve bu durumun da foliküler gelişimi önemli derecede etkilediği bilinmektedir (Hrabovszky ve ark., 2006; Ajayi ve ark., 2013).

Çalışmamızda Hipert grubu, FSH düzeyleri bakımından Kont ve Sham gruplarıyla karşılaştırıldığında önemli bir derecede azalmanın olduğu saptanmıştır



( $p < 0,01$ ). Buna karşın, kan serum örneklerinden elde edilen LH değerleri, gruplar arası karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmiştir ( $p > 0,05$ ). Liu ve ark. çalışmalarında tiroid hormonlarındaki düzensizliğin, sıçanlardaki üreme hormonları üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Oluşturdukları hem hipertiroid hem de hipotiroid sıçan modellerinde kontrol grubuna göre serum GnRH ve FSH düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı, ancak LH hormon düzeylerinde bir değişiklik olmadığını bulmuşlardır (Liu ve ark., 2018). Çalışmamızın sonuçları, bu çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir. Lal isimli araştırmacı, bir çalışmada infertilite kliniğine başvuran üreme çağındaki 100 infertil kadında tiroid hormonlarının FSH, LH ve prolaktin hormon düzeyleri ile ilişkisini değerlendirmiştir. Çalışmanın sonunda hipertiroidizm görülen kadınlarda FSH ve LH düzeylerinin tiroid kadınlardaki hormon düzeylerine göre azaldığı gözlenmiştir (Lal, 2016). Yapılan başka bir çalışmada ise yüksek konsantrasyondaki tiroid hormonlarının hem olgunlaşmamış hem de yetişkin farelerden elde edilen kültüre granüloza hücrelerinde, FSH ile uyarılmış aromataz aktivitesinde ciddi bir düşüşe neden olduğu bulunmuştur. Aromataz aktivitesindeki bu azalmanın preantral dönemde folikül gelişimini olumsuz yönde etkilediğini göstermişlerdir (Cecconi ve ark., 1999). Başka bir çalışmada ise tiroid hormonlarının dişi üreme sistemi üzerindeki rolünü aydınlatmak amacıyla sıçanlarda oluşturulan hipertiroid modelinde kontrol grubuna göre FSH hormon düzeyinin önemli ölçüde arttığı, LH hormon düzeyinin ise belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir (Wei ve ark., 2018). Krassas ve ark. yaptıkları çalışmada, tiroid hormon bozukluğunun granüloza hücrelerinde FSH ile indüklenen aromataz aktivitesini zayıflattığını, bu etkiden dolayı ovulasyon ve folikül gelişimini inhibe ettiğini ileri sürmüşlerdir (Krassas ve ark., 2010). Dişilerde görülen FSH eksikliği zayıf over fonksiyonu (over yetmezliği) ile sonuçlanmaktadır. Sonuçlarımız yukarıda yapılan yorum ve sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Tiroid hormonlarının düşük veya yüksek düzeyde olması, ovaryum foliküllerinin normal şekilde gelişimini olumsuz etkileyebilmekte, sonuçta ovulasyon kısıtlanabilmekte ve infertilite problemleri ortaya çıkabilmektedir. Çalışmamızda hipertiroidinin, hipofizden FSH salınımını olumsuz etkileyerek ovaryumda folikül gelişimini etkilediği, folikül sayısı ve hacimlerinde azalmaya neden olduğunu düşünmekteyiz. Literatürde hipertiroidinin serum FSH ve LH düzeyleri üzerindeki etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmış değildir. Literatürde var olan çelişkili sonuçlara

istinaden hipertiroidinin hipofiz hormonları üzerindeki etkisinin, biyokimyasal ve organizma türleri zenginleştirilerek kapsamlı bir biçimde araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kan serum örneklerinden elde edilen biyokimyasal analizler sonucunda; SOD enzim düzeyleri bakımından Kont ve Sham grupları ile Hipert grubu karşılaştırıldığında, SOD düzeyinde önemli derecede bir azalma olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p<0,01$ ;  $p<0,05$ ). CAT enzim aktivitesi bakımından gruplar karşılaştırıldığında ise; Kont ve Sham gruplarına göre CAT enzim aktivitesinin Hipert grubunda anlamlı derecede artış gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Tiroid hormonları, bazal metabolik hızın ve oksidatif metabolizmanın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Klein ve Danzi, 2007). Hipertiroidizm, metabolik hızdaki artışa neden olarak mikrozomal oksidatif kapasiteyi ve ROS üretimini artırır (Hulbert ve Else, 2004; Silvestri ve ark., 2005; Kim, 2008). Artan ROS üretimi, dokulardaki protein, lipid ve DNA gibi hücrel makromoleküllerde oksidatif hasara yol açabilir (Mikhed ve ark., 2015). Bununla birlikte, patofizyolojik koşullar altında aşırı artan ROS, oositlerde, kümülüs hücrelerinde ve foliküler sıvıda antioksidan seviyelerinin azalmasına, ovaryumda folikül sayısı ve oosit kalitesinde düşüşe neden olmaktadır (Das ve ark., 2006; Tatone ve ark., 2006). Ayrıca, artan ROS düzeyleri dokularda inflamasyonu ve fibrozisi tetiklemektedir (Sedeek ve ark., 2013).

SOD, CAT ve GPx gibi antioksidanlar, ovaryumda dişi cins hücrelerinin oksidatif strese karşı korunmasında önemli rol oynarlar (Matzuk ve ark., 1998). Serumdaki SOD ve CAT düzeyleri, peroksidasyon seviyesini ve hücre hasarının derecesini yansıtmaktadır (Sharma ve ark., 2004). Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar hipertiroidizmin serbest radikal üretimindeki ve lipid peroksit seviyelerindeki artışla ilişkili olduğunu göstermektedir (Vitale ve ark., 2000; Araujo ve ark., 2006).

Hipertiroidizm kaynaklı antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki artış veya azalış mekanizmaları çelişkilidir (Komosinska-Vassev ve ark., 2000). Chattopadhyay ve ark. çalışmalarında hipertiroid modeli oluşturulan sıçanlarda SOD, GPx ve CAT düzeylerinde ve nonenzimatik GSH konsantrasyonlarında bir düşüş olduğunu bulmuşlardır (Chattopadhyay ve ark., 2007). Erişkin sıçanlarda yapılan bir çalışmada, hipertiroidizmin uterusdaki total SOD aktivitesini azalttığı, CAT ve GPx aktivitelerini ise arttırdığı gösterilmiştir (Kong ve ark., 2015). SOD enziminin ekspresyonu ve

aktivitesi doğrudan oosit kalitesiyle ilişkilidir ve yardımcı üreme tekniklerinde önemli bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (Matos ve ark., 2009). Çalışmamızın sonuçları, hipertiroidinin SOD aktivitesini azalttığını göstermektedir. Bu durumun hipertiroidinin, sistemlerde oksidatif stresi indükleyen ve folikül gelişimini engelleyen süperoksit birikiminden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Wei ve ark. çalışmalarında, hipertiroidinin ovaryumdaki NO miktarını ve NOS aktivitesini artırarak antioksidan durumu değiştirdiğini (CAT ve SOD aktivitelerinde arttırdığını) gözlemişlerdir. Aynı zamanda, oksidatif strese bağlı olarak gelişen bu durumun hayvanların ovaryumlarındaki sekonder ve antral folikül ile korpus luteum sayılarının ötroid grubuna göre azalmasının bir nedeni olduğu belirtilmiştir (Wei ve ark., 2018). NOS vücutta NO üretmek için kullanılan bir enzimdir. Dokularda aşırı artış gösteren NO düzeyleri, GSH, proteinler, lipitler ve DNA gibi makromolekülleri oksitlemek ve nitratlamak için bir süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek hücre hasarına neden olmaktadır (Omar ve ark., 2016). Ayrıca, artan NO düzeyi hücre içi GSH'yi azaltarak dokuların oksidatif strese duyarlılığını arttırmaktadır (Kaygusuzoglu ve ark., 2018). NO seviyelerindeki artış, ROS üretimini indükleyen ve aynı zamanda ovaryum doku hasarlarında önemli biyobelirteç olan sitokin seviyelerinde ve nükleer faktör-kappa B'nin aktivasyonunda artışa neden olmaktadır (Huang ve ark., 2000; Alvero, 2010; Arias-Salvatierra ve ark., 2011; Kaygusuzoglu ve ark., 2018). Çalışmamızda hipertiroid gruplarına ait ovaryum dokularında gelişen oksidatif stresin yukarıda bahsedilen benzer mekanizmalarla gerçekleştiğini ve bu durumun ovaryum dokusuna zarar vererek folikül gelişimini olumsuz yönde etkilediğini düşünmekteyiz.

Costilla ve ark. çalışmalarında, hipertiroidinin dokulardaki ROS üretimini üzerindeki etkilerini incelemişler, ROS ile birlikte CAT, GPx-1 ekspresyonunda artış olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada hipertiroid kaynaklı ROS'daki artışın, dokularda Nrf-2 faktörünü aktive ederek, antioksidan enzim transkripsiyonunu indüklediği savunulmaktadır (Costilla ve ark., 2019). Nrf-2 proteini, ovaryum, böbrek, karaciğer ve beyin gibi çeşitli dokularda eksprese edilir. Nrf-2, hücreyi oksidatif stres ve yangından korumada anahtar rol oynayan bir transkripsiyon aktivatörüdür. Normal şartlar altında sitoplazmada bulunur, ancak oksidatif stres koşulları altında Nrf-2, antioksidan cevap elemanları ile ilgili genlerin ekspresyonunu arttırmak için çekirdeğe göç eder ve aktive olan Nrf-2, enzimatik antioksidanların transkripsiyonunu uyarır. Sonuç olarak,

çalışmamızda hipertiroidi grubunda CAT aktivitesi ve SOD düzeylerinde görülen değişikliklerin yukarıda bahsedilen mekanizma üzerinden gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

Oksidatif stres ve dişi ovaryum antioksidan savunma enzimleriyle ilgili olarak incelenen biyokimyasal parametrelerdeki değişimler hipotezimizi destekler niteliktedir. Hipertiroidizm nedeniyle oluşan hiper-metabolik durumun bir sonucu olarak azalan antioksidan kapasitelerinin, artan ROS'u etkisiz hale getirmek için yeterli olmadığı gözlemlendi. Sonuç olarak, çalışmamızdaki SOD düzeyi ve CAT aktivitesi ölçüm değerleri, hipertiroidinin vücudun hormonal dengesini bozan ve ovaryum hasarına neden olan oksidatif stresi indüklediğini göstermiştir.

Deney sonunda gruplara ait kan örneklerinden elde edilen açlık kan şekeri sonuçları değerlendirildiğinde; Sham ve Hipert gruplarında ortalama açlık kan şekerinin Kont ve Sham gruplarına göre ileri derecede artış gösterdiği saptanmıştır (sırasıyla  $p<0,01$ ;  $p<0,05$ ). Çalışmalar, artan tiroid hormonlarının karaciğerde fosforilaz kinaz ve lizozomal alfa oksidaz aktivitesini artırarak, karaciğerde glikojen depolarının mobilizasyonuna neden olduğunu göstermiştir (Wu ve ark., 2001; Brenta, 2011). Tam ve ark. diyabetik olmayan 43 hipertiroidli ve 20 hipotiroidli hasta ile 29 ötiroidili bireylerde açlık kan şekeri düzeylerini incelemiştir. Açlık kan şekeri açısından gruplar karşılaştırıldığında hipertiroidi grubunda açlık kan şekeri seviyesinin hipotiroidi ve kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Tam ve ark., 2015). Sonuç olarak çalışmada, hipertiroidinin insülin direncini tetiklemiş olabileceği düşünülmektedir (Tam ve ark., 2015). Toksik oksijen serbest radikalleri ve azalan antioksidan düzeyleri diyabet patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Diyabet kronik oksidatif hasarın örnek bir modelini oluşturmaktadır ve antioksidan takviyesi ile tedavisi mümkün olan bir hastalıktır (Maxwell, 1995). Hipertiroidi ile indüklenen oksidatif stresin ve azalan antioksidan kapasitesinin açlık kan şekeri seviyelerinde artışa neden olduğunu ve diyabet hastalığını tetiklediğini düşünmekteyiz. Tüm bu bilgiler, hipertirodi hastalarına uygun aralıklarla kan şekeri takibi yapılmasının erken dönemde tip 2 diyabet tanısı açısından fayda sağlayabileceği düşündürmektedir.

Tüm gruplara ait hayvanların DÖ ve DS vücut ağırlıklarının ölçülmesiyle elde edilen relatif ağırlık kaybı değerlendirildiğinde; ağırlık kaybının Hipert grubunda Kont ve Vit E gruplarına göre önemli derecede artış gösterdiği saptanmıştır (sırasıyla  $p<0,01$ ;  $p<0,05$ ). Tiroid hormonu düzeylerindeki anormalliklerin bir yansıması olarak gıda

alımında ve vücut ağırlığında farklılıklar görülmektedir. Yüksek düzeydeki tiroid hormonları gıda alımını arttırırken, vücut ağırlığında azaltmaya neden olur (Dutta ve ark., 2012). Hipertiroidizm durumunda bazal metabolizma hızı normalin %60 ile %100'ü kadar artmaktadır. Metabolizma hızındaki bu artışın, sıçanların toplam enerji tüketimini %38 oranında arttırdığı bilinmektedir (Bianco ve ark., 2005; Klieverik ve ark., 2009; Guyton, 2011). Çalışmamızda gözlenen vücut ağırlıklarındaki azalma, bazal metabolizma Hipert grubunda hızının artmasına ve aşırı aktif olmasına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Leptin, adiponektin ve ghrelin düzeylerinin, tiroid disfonksiyonu durumlarında değiştiği gösterilmiştir (Hsieh ve ark., 2002; Iglesias ve Diez, 2007). Hipertiroidli hastalarda artan leptin düzeyinin termogenezi tetikleyerek iştah artışına rağmen kilo kaybına neden olduğu savunulmaktadır (Ishii ve ark., 2003; Klieverik ve ark., 2009). Çalışma sonuçlarımıza dayanarak, tiroid hormonlarının enerji homeostazının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını söyleyebiliriz. İnsan ve laboratuvar hayvanlarındaki çalışmalardan elde edilen bulgular çelişkilidir. Çalışmamızda Hipert grubunda görülen kilo kaybı yukarıda bahsedilen bu nedenlerden dolayı olabilir, fakat bu durumun daha net anlaşılabilmesi için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## **5.2. E vitamini**

Çalışmamızda hipertiroidinin ovaryum folikülleri üzerindeki etkilerine karşı E vitamininin koruyucu rolü stereolojik olarak incelendi. Üç grup (Kont, Sham ve Hipert grupları) Hipert+Vit E ve Vit E grupları ile karşılaştırıldığında, primordiyal folikül sayısında önemli bir derecede farkın olmadığı gözlenmiştir ( $p>0,05$ ). Preantral folikül ve toplam folikül sayılarının ise Hipert+Vit E grubunda Kont grubuna kıyasla önemli derecede azaldığı saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Ayrıca E vitamininin folikül hacimleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde, antral folikül ve korpus luteum hacimlerinin Hipert+Vit E ve Vit E gruplarında, Hipert grubuna göre önemli derecede artış gösterdiği gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Hipertiroidinin ovaryum folikülleri üzerindeki olumsuz etkilerine karşı E vitamininin antral foliküllerin ve korpus luteum hacimlerinin üzerinde protektif bir rol oynadığı söylenebilir. Optik parçalama yöntemiyle elde edilen sayısal verilerde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmamasının nedeni, hipertiroididen kaynaklanan

oksidatif strese karşı günlük uygulanan E vitamini dozunun ve uygulama süresinin yetersiz kalması olabilir.

Ovaryum dokularının hacimsel analizleri; Hipert+Vit E grubunda, Hipert grubuna göre ovaryum korteks hacmini anlamlı derecede arttırdığını göstermiştir ( $p<0,05$ ). Vit E grubunun korteks hacimi, Kont ve Sham gruplarıyla kıyaslandığında korteks haciminde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir ( $p>0,05$ ). Analizlerimiz E vitamininin ovaryum dokusu üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığını göstermiştir.

Işık ve elektron mikroskobuna ait histopatolojik görüntüler değerlendirildiğinde; E vitamini uygulanan gruplarda ovaryum dokusuna ait foliküllerin, korpus luteumlarının ve damar yapılarının morfolojik yapılarını koruduğu gözlendi. Hipert grubuna göre, Hipert+Vit E grubuna ait ovaryumların folikül yapısındaki granülozum hücreleri arasında az sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı, bu grupta kullanılan E vitamininin koruyucu olduğunu düşündürmektedir. Aynı zamanda, folikülü çevreleyen bazal membranın, oositin etrafındaki zona pellusida ve korona radiata hücrelerinin normal görünümünü korudukları gözlendi. Benzer şekilde korpus luteum hücrelerinin ve teka foliküllerinin korunmuş yapıları, hipertirodin ovaryum dokusunda neden olduğu oksidatif strese karşı E vitamininin korucuyu bir rol üstlendiğini düşünmekteyiz.

Cicek ve ark.'larının çalışmasında infertil hastalarda Vit E desteğinin, kontrollü ovaryum uyarımında, folikül sayısında ve endometrial kalınlığın iyileşmesinde yararlı etkileri olduğu savunulmaktadır (Cicek ve ark., 2012). Molavi ve ark. çalışmalarında sipermetrin uyguladıkları dişi sıçanların ovaryumlarında atretik foliküllerin sayısının arttığını buna karşın antioksidan olarak uyguladıkları E vitamininin glikoz taşıyıcı-1 biyosentezini regüle ederek foliküler hücrelerinde ve oositte glikoz alımını iyileştirdiğini göstermişlerdir (Molavi ve ark., 2016). Mehranjani ve ark. yaptıkları stereolojik bir çalışmada para-nonilfenol'e (p-NP) maruz bırakılan sıçanlarda, p-NP'nin ovaryum dokusu üzerinde meydana getirdiği zararlı etkilere karşı E vitamininin koruyucu rolünü araştırmışlar. p-NP'ye maruz bırakılan deney grubunda, kontrol grubuna göre ovaryum ağırlığının, ortalama ovaryum ve korteks hacminin, antral ve graff folikül sayılarının anlamlı derecede azaldığı, buna karşın E vitamini uygulanan hayvanların ovaryum ve korteks hacimlerinin, folikül sayılarının (primer, sekonder ve antral) arttığı ve ovaryumda önemli derecede bir iyileşmenin olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, çalışmamız sonucunda elde edilen folikül sayısı ve hacim değerleri



Mehranjani ve ark.'nın sonuçlarıyla uyumluydu (Mehranjani, 2010). Başka bir çalışmada ise farenin ovaryum dokusunun vitrifikasyonu sonrasında antral folikül gelişimi üzerine E vitamininin etkileri araştırılmıştır. Deney sonunda, vitrifiye oositlerde ROS seviyelerinin arttığı ve oosit kalitesinde azalma olduğu, buna karşın 100 µM dozunda E vitamini takviyesi yapılan gruplarda antral folikül canlılığının ve morfolojisinin iyileştiği gözlenmiştir. Ayrıca, uygulanan E vitamininin mayoz II aşamasına ulaşan oositlerin yüzdesini ve blastosist oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir (Farzollahi ve ark., 2016). Mevcut literatüre bakıldığında, hipertiroidinin ovaryum folikül sayısı ve hacimlerini azaltan etkisine karşın, E vitamininin koruyucu rolünü inceleyen stererolojik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu özelliğiyle çalışmamız özgün olma niteliğindedir. Yukarıda belirtilen çalışmalarda görüldüğü gibi oksidatif stres kaynakları farklı da olsa, E vitamininin antral folikül ve korpus luteum hacimlerini arttırması ve aynı zamanda hipertiroidin preantral foliküller üzerindeki negatif etkisini azaltması yönündeki bulgularımız daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda ovaryum bağ dokusu hacim analizleri sonucunda; Hipert+Vit E grubunda bağ doku hacminin Hipert grubuna göre önemli derecede azaldığı gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Hipert grubuna ait ovaryum dokularında görülen korteks hacmindeki azalma ve bağ dokusu hacimindeki artış ovaryumda gözlenen patolojik fibrozis ile benzerlik göstermektedir. Çalışmalarda, over fibrozunun başlıca nedenleri arasında TGF-β1 ve ROS değerlerinin aşırı miktarda artışı gösterilmektedir (Kotajima ve ark., 2010; Zhou ve ark., 2017). Over fibrozisine neden olan TGF-β1 konsantrasyonunu E vitamini uygulamasının sonucunda azaldığı gözlenmiştir (Cojocel ve ark., 2005; Yiang ve ark., 2016). Çalışmamızda kullanılan E vitamininin, hipertiroidinin bir sonucu olarak dokularda aşırı artan ROS ve TGF-β1 konsantrasyonunu baskılayarak over fibrozunu engellediğini düşünmekteyiz. Mevcut bilgilerimize göre literatürde hipertiroidii ve over fibrozunu ilişkilendiren çalışmalara rastlanmamıştır. Bu durumun net bir şekilde aydınlatılabilmesi için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Gruplara ait kan serum örneklerinden elde edilen biyokimyasal analizler değerlendirildiğinde; Hipert+Vit E grubunda CAT enzim aktivitesinin Hipert grubuna göre önemli ölçüde azalma gösterdiği tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Buna karşın SOD

düzeyleleri açısından Hipert ve Hipert+ Vit E grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli derecede bir farkın olmadığı bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Ovaryumlar, A, C ve E vitaminlerini içeren antioksidan savunmalara ve ayrıca serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyabilecek SOD, GPX, CAT gibi çeşitli antioksidan enzimlere sahiptir (Messarah ve ark., 2007; Marcocci ve ark., 2012). Çalışmalar, sıçanlarda dokuların düşük antioksidan kapasite ve oksidatif strese karşı yüksek duyarlılık gösterdiğini göstermiştir (Venditti ve ark., 1997; Sahoo ve ark., 2005). Bir çalışmada hipertiroidli 30 hasta ve 30 sağlıklı bireye ait kan serum örneklerinde oksidatif durum incelenmiş, toplam antioksidan kapasite (TAK) ve toplam oksidan kapasiteleri (TOK) değerlendirilmiştir (Aslan ve ark., 2011). Sonuç olarak, hipertiroidli hastalarda TOK seviyesinin arttığı ve TAK seviyesinin ise azaldığı görülmüştür. Ayrıca, bu çalışmada C ve E vitaminleri gibi antioksidan vitamin takviyesinin hastalar için yararlı olabileceği savunulmaktadır (Aslan ve ark., 2011). Wang ve ark. yaptıkları bir çalışmada, 12-forbol 13-miristat asetat ile indüklenmiş ROS'un *in vitro* fare embriyosu gelişimi üzerindeki olumsuz etkilerine karşı E ve C vitaminlerinin ROS kaynaklı embriyo toksitesini azaltmadaki koruyucu etkisini incelemişlerdir. Deney sonunda fare embriyolarının ROS'a uzun süre maruz bırakılmasının embriyo toksitesine neden olduğunu, E ve C vitaminlerinin oksidatif stres kaynaklı embriyo toksitesini azaltarak blastosist gelişim hızını arttırdığını bulmuşlardır (Wang ve ark., 2002). Sargazi ve ark. yaptıkları bir çalışmada diazinon (organik fosforlu pestisit) uygulamasının ardından artan oksidatif strese karşı E vitamininin yumurtalık folikülleri üzerindeki koruyucu etkisini araştırmışlardır. Diazinonun sekonder ve graff foliküllerinde proliferasyonu azalttığı ve buna karşın E vitamininin antioksidan aktivitesi sayesinde diazinonun neden olduğu toksitesiyi azaltarak sekonder ve graff foliküllerinin gelişimini olumlu yönde arttırdığı gözlenmiştir (Sargazi ve ark., 2019). Mevcut çalışmalar incelendiğinde, E vitamininin güçlü antioksidan etkisiyle vücutta artan oksidan değerlerini azaltarak oksidatif strese karşı dokularda protektif etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Gruplara ait kan serum örneklerinden elde edilen FSH ve LH hormon düzeyleri değerlendirildiğinde; Hipert+Vit E grubundaki FSH düzeyinin, Hipert ve Vit E gruplarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Gruplar LH düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmiştir ( $p>0,05$ ). Çalışmamızın sonucunda hipertiroidi ile indüklenen gruplarda E vitamini

takviyesinin FSH düzeylerini iyileştirdiği gözlenmiştir. Çalışmalar, E vitamininin hipofizyal-gonadal ekseninde hormon üretimini düzenlemede önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Saki ve ark., 2013; Bassey ve ark., 2018). Karanth ve ark. E vitamininin hipotalamustan askorbik asit ve hipofizden LH ve FSH salınımını uyaran LHRH hormonunun üzerindeki etkisini radioimmunoassay ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ölçerek incelemişler ve çalışma sonucunda E vitamininin hipotalamustan askorbik asit ve LHRH'nın salınımını uyardığını göstermişlerdir (Karanth ve ark., 2003). Umeda ve ark. erkek sıçanlarda E vitamininin, hipofizyal-gonadal eksen üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Mevcut çalışmalar incelendiğinde, E vitamininin FSH ve LH salgılayan hipofiz üzerine etkilerini araştıran çalışmaların daha çok erkek bireylerde olduğu, dişi bireyler de ise az olduğunu göstermektedir. E vitamininin cinsel hormon üretimi üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olup olmadığını veya düşük FSH ve LH seviyelerinin yüksek östrojen ya da progesteron seviyelerini telafi edici bir mekanizmadan kayanabileceğini açıklamak için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Deneyimizin sonunda gruplara ait kan örneklerinden elde edilen açlık kan şekeri sonuçları değerlendirildiğinde; Sham, Hipert, Hipert+Vit E ve Vit E gruplarında ortalama açlık kan şekerinin Kont grubuna göre istatistiksel olarak ileri derecede artış gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Benzer şekilde, Hipert grubunda ortalama açlık kan şekerinin Hipert +Vit E grubuna göre anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir ( $p<0,01$ ). Artan kan şekeri seviyeleri ile vücutta azalan antioksidan düzeyleri arasında önemli bir ilişki olduğu ve antioksidan seviyelerindeki bu azalmanın komplikasyonların gelişimi için önemli bir risk faktörü oluşturduğu ileri sürülmektedir (Maxwell, 1995; Brownlee, 2001; Jain ve ark., 2002). E ve C vitamini gibi antioksidanların kullanılması bu risk faktörünün önüne geçilebilmesinde önemli rol oynamaktadır. Manning ve ark. aşırı kilolu bireylerde yüksek doz E vitamini uygulamasının insülin direnci ve ilişkili parametreleri üzerindeki etkisini incelemişler ve çalışmalarının sonucunda E vitamininin oksidatif stresi ve karaciğer hücre fonksiyonlarını iyileştirerek üç ay içerisinde açlık plazma glukozu ve insülin konsantrasyonlarını önemli derecede azalttığını göstermişlerdir (Manning ve ark., 2004). E vitamininin (900 IU/gün) kronik uygulanması sonucunda plazma zarlarının kimyasal-fiziksel durumundaki iyileşmeyi oksidatif stresi azaltarak insülinin etkisini arttırdığı ileri sürülmüştür (Paolisso ve

Giugliano, 1996). Çalışmamızda E vitamini uygulamasının, hipertiroid kaynaklı oksidatif stresi azaltarak açlık kan glukoz düzeyini azalttığını düşünmekteyiz.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızdan elde edilen sayısal stereolojik sonuçlar değerlendirildiğinde, Hipert grubunda primer, preantral, antral ve toplam folikül sayılarının Kont grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir.

2. Cavalieri yöntemi ile elde edilen hacim değerleri bakımından sonuçlar incelendiğinde, Hiper grubunda preantral, antral folikül ve korpus luteum hacimlerinin Kont grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, korteks hacminin Hipert grubunda Kont grubuna göre önemli derecede azalma gösterdiği saptanmıştır.

3. Kont grubuna göre Hipert grubunda bağ dokusu hacmi önemli derecede artış göstermiştir. Ovaryum dokularına ait medulla ve damar hacim değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

4. E vitamininin folikül hacimleri üzerindeki etkileri stereolojik olarak değerlendirildiğinde, antral folikül ve korpus luteum hacimlerinin Hipert+Vit E ve Vit E gruplarında, Hipert grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir. Vit E grubunda antral folikül ve korpus luteum hacimleri Kont ve Sham grupları ile kıyaslandığında ise anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmiştir. Hipertiroidinin antral folikül ve korpus luteum hacimleri üzerindeki olumsuz etkilerine karşı E vitamininin koruyucu bir rol üstlendiği söylenebilir.

5. Hipert+Vit E grubunda, Hipert grubuna göre ovaryum korteks hacim değerlerinin anlamlı derecede artış gösterdiği gözlenmiştir. Sham grubu korteks hacim değeri diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı bir farkın olmadığı bulunmuştur. Bağ dokusu hacim değerleri bakımından karşılaştırma yapıldığında, Hipert+Vit E grubunun Hipert grubuna göre daha düşük düzeyde bir bağ dokusu hacmine sahip olduğu gözlemlendi.

6. Çalışmamıza ait ovaryum dokularından elde edilen ışık ve elektron mikroskopik görüntülerinin değerlendirildiğinde, Hipert grubunda foliküllerin duvarında koyu boyanan ve apoptoza gittiğini düşündüğümüz çok sayıda granülozum hücrelerinin olduğunu gözledik. Ayrıca, bu gruptaki granülozum hücrelerinin sınırları belirgin değildi. Hipert grubunda, oositi çevreleyen zona pellusidanın diğer gruplara nazaran daha ince bir kalınlığa sahip olması dikkat çekmekteydi. Hücreler arasında çok sayıda koyu boyanan yapıların varlığı, buradaki oksidatif stresin derecesini ve sonuçta yüksek orandaki bir dejenerasyonu düşündürmektedir.

7. Işıık ve elektron mikroskopuna ait histopatolojik görüntülerin değerlendirilmesi sonucunda; E vitamini uygulanan grupta ovaryum dokusuna ait foliküllerin, korpus luteumun ve damar yapılarının normal morfolojik yapılarını korudukları gözlemlendi. Foliküle ait granülozum hücreleri arasında çok az sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı, bu grupta kullanılan E vitamininin koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

8. Sıçanların kan serum örneklerinin TSH ve ST4 biyokimyasal analiz sonuçları değerlendirildiğinde, Kont, Sham ve Vit E grupları ile Hipert ve Hipert+Vit E grupları karşılaştırıldığında, Hipert ve Hipert+Vit E gruplarında TSH değerlerinin önemli derece azaldığı gözlemlenmiştir. ST4 hormon düzeylerinin Hipert ve Hipert+Vit E gruplarında, Kont, Sham ve Vit E gruplarına göre anlamlı derecede artış olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler çalışmamızda deneysel hipertiroid modelinin oluştuğunu göstermektedir.

9. Kont grubuna kıyasla Hipert grubunda SOD enzim düzeyinde önemli derecede bir azalma olduğu gözlemlendi. Kont ve Sham gruplarına oranla CAT enzim aktivitesinin Hipert grubunda anlamlı derecede artış gösterdiği saptandı. SOD miktarı ve CAT aktivitesinde görülen değişiklikler, hipertiroidizm kaynaklı hiper-metabolik durumun bir sonucu olarak ortaya çıkan süperoksit radikallerini ve hidrojen peroksiti etkisiz hale getirmek için oksidatif strese karşı gelişen adaptif bir cevap olduğu söylenebilir.

10. Gruplara ait CAT enzim aktivitesi ve SOD enzim düzeyi değerlendirildiğinde; Hipert grubunda CAT enzim aktivitesinin Hipert+Vit E grubuna göre önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşın SOD değerlerinin Hipert+Vit E grubunda Hipert grubuna göre artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

11. Çalışmamızda kan serum örneklerinden elde edilen FSH ve LH hormon düzeyleri değerlendirildiğinde; Hipert grubunda FSH düzeylerinin Kont ve Sham gruplarına göre anlamlı bir azalmanın olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşın, kan serum örneklerinden elde edilen LH değerleri, gruplar arasında karşılaştırılma yapıldığında ise anlamlı bir farkın olmadığı gözlemlenmiştir. Hipert grubunda FSH düzeyinde görülen azalma, sayısal bulgularımızı destekler nitelikte olup hipertiroidinin folikül gelişimini olumsuz yönde etkilediğini düşündürmektedir.



12. Gruplara ait kan serum örneklerinden elde edilen FSH ve LH hormon düzeyleri değerlendirildiğinde; FSH düzeyinin, Hipert+Vit E grubunda, Hipert grubuna göre önemli derecede bir artış gösterdiği saptanmıştır. Gruplar LH düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmiştir.

13. Hayvanlarının vücut ağırlıklarının DÖ ve DS ölçülmesiyle elde edilen relatif ağırlık kaybı sonuçları değerlendirildiğinde; Hipert grubunda ağırlık kaybının, Kont ve Vit E gruplarına göre artış gösterdiği gözlenmiştir.

14. Ortalama açlık kan şekeri düzeyinin, Sham ve Hipert gruplarında Kont grubuna göre ileri derecede yüksek olduğu saptanmıştır.

15. Deney sonunda gruplara ait kan örneklerinden elde edilen açlık kan şekeri sonuçları değerlendirildiğinde; Hipert+Vit E ve Vit E gruplarındaki ortalama açlık kan şekeri düzeyinin Kont grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca, Hipert grubunda ortalama açlık kan şekeri düzeyi, Hipert+Vit E grubuna göre anlamlı derecede artışı göstermiştir.

16. Deney sonunda ölçülen gonadosomatik indeks sonuçları, gruplar arasında farklılık göstermiyordu.

Sonuç olarak, hipertiroidinin ovaryum foliküllerini azaltarak infertilite problemlerine neden olabileceği, hipofiz-ovaryum ekseninde gözlenen hipertiroidinin bu olumsuz etkilerine karşı E vitamininin oksidan-antioksidan homeostazisini sağlayarak hipofiz-ovaryum ekseninde düzenleyici rol oynadığı biyokimyasal, histopatolojik ve stereolojik bulgularımızla gösterilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Abd-El F. Thyroid gland dysfunction modulates ovarian response to estrogen and androgen receptors in albino rats. *The Egyptian Journal of Histology* 2011;34:182–190.
- Abedelahi A, Salehnia M, Allameh AA, Davoodi D. Sodium selenite improves the in vitro follicular development by reducing the reactive oxygen species level and increasing the total antioxidant capacity and glutathione peroxide activity. *Hum Reprod* 2010;25(4):977-985.
- Acevedo CG, Carrasco G, Burotte M, Rojas S, Bravo I. Ethanol inhibits L-arginine uptake and enhances NO formation in human placenta. *Life Sci* 2001;68(26):2893-2903.
- Agarwal A, Gupta S, Sharma R. Oxidative stress and its implications in female infertility - a clinician's perspective. *Reprod Biomed Online* 2005;11(5):641-650.
- Aghajanova L, Lindeberg M, Carlsson IB, Stavreus-Evers A, Zhang P, Scott JE, Hovatta O, Skjöldebrand-Sparre L. Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. *Reprod Biomed Online* 2009;18(3):337-347.
- Ahn HJ, Sohn IP, Kwon HC, Jo DH, Park YD, Min CK. Characteristics of the cell membrane fluidity, actin fibers, and mitochondrial dysfunctions of frozen-thawed two-cell mouse embryos. *Mol Reprod Dev* 2002;61(4):466-476.
- Ajayi AF, Akhigbe RE, Ajayi LO. Hypothalamic-pituitary-ovarian Axis in Thyroid Dysfunction. *West Indian Medical Journal* 2013;62(9):835-838.
- Akande EO, Hockaday TD. Plasma luteinizing hormone levels in women with thyrotoxicosis. *J Endocrinol* 1972;53(1):173-174.
- Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol* 2010;42(10):1634-1650.
- Alvero AB. Recent insights into the role of NF-kappaB in ovarian carcinogenesis. *Genome Med* 2010;2(8):56.
- Andersen BB, Pakkenberg B. Stereological quantitation in cerebella from people with schizophrenia. *Br J Psychiatry* 2003;182:354-361.
- Araujo AS, Ribeiro MF, Enzweiler A, Schenkel P, Fernandes TR, Partata WA, Irigoyen MC, Llesuy S, Bello-Klein A. Myocardial antioxidant enzyme activities and concentration and glutathione metabolism in experimental hyperthyroidism. *Mol Cell Endocrinol* 2006;249(1-2):133-139.

- Arias-Salvatierra D, Silbergeld EK, Acosta-Saavedra LC, Calderon-Aranda ES. Role of nitric oxide produced by iNOS through NF-kappa B pathway in migration of cerebellar granule neurons induced by Lipopolysaccharide. *Cellular Signalling* 2011;23(2):425-435.
- Armada-Dias L, Carvalho JJ, Breitenbach MMD, Franci CR, Moura EG. Is the infertility in hypothyroidism mainly due to ovarian or pituitary functional changes? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2001;34(9):1209-1215.
- Asayama K, Kato K. Oxidative Muscular Injury and Its Relevance to Hyperthyroidism. *Free Radical Biology and Medicine* 1990;8(3):293-303.
- Aslan M, Cosar N, Celik H, Aksoy N, Dulger AC, Begenik H, Soyoral YU, Kucukoglu ME, Selek S. Evaluation of oxidative status in patients with hyperthyroidism. *Endocrine* 2011;40(2):285-289.
- Atici E, Mogulkoc R, Baltaci AK, Menevse E. The effect of thyroid dysfunction on nesfatin-1 and adiponectin levels in rats. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2017;32(3).
- Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, Goldberg JM, Miller KF, Agarwal A, Sharma RK. The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of in vitro fertilization. *Int J Fertil Womens Med* 2000;45(5):314-320.
- Azzi A. Many tocopherols, one vitamin E. *Mol Aspects Med* 2018;61:92-103.
- Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. Laboratory routines cause animal stress. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2004;43(6):42-51.
- Baltaci AK, Mogulkoc R. Leptin, NPY, Melatonin and Zinc Levels in Experimental Hypothyroidism and Hyperthyroidism: The Relation to Zinc. *Biochem Genet* 2017;55(3):223-233.
- Bassey IE, Gali RM, Udoh AE. Fertility hormones and vitamin E in active and passive adult male smokers in Calabar, Nigeria. *PLoS One* 2018;13(11):e0206504.
- Basu G, Mohapatra A. Interactions between thyroid disorders and kidney disease. *Indian J Endocrinol Metab* 2012;16(2):204-213.
- Bedaiwy MA, Falcone T, Mohamed MS, Aleem AA, Sharma RK, Worley SE, Thornton J, Agarwal A. Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species. *Fertil Steril* 2004;82(3):593-600.
- Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S. Oxidative stress and the ovary. *J Soc Gynecol Investig* 2001;8(1 Suppl Proceedings):S40-42.
- Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010;28(1):155-161.

- Bennink RJ, De Jonge WJ, Symonds EL, van den Wijngaard RM, Spijkerboer AL, Benninga MA, Boeckxstaens GE. Validation of gastric-emptying scintigraphy of solids and liquids in mice using dedicated animal pinhole scintigraphy. *J Nucl Med* 2003;44(7):1099-1104.
- Bernal J, Guadano-Ferraz A, Morte B. Perspectives in the study of thyroid hormone action on brain development and function. *Thyroid* 2003;13(11):1005-1012.
- Bianco AC, Anderson G, Forrest D, Galton VA, Gereben B, Kim BW, Kopp PA, Liao XH, Obregon MJ, Peeters RP, Refetoff S, Sharlin DS, Simonides WS, Weiss RE, Williams GR, American Thyroid Association Task Force on A, Strategies to Investigate Thyroid Hormone E, Action. American Thyroid Association Guide to investigating thyroid hormone economy and action in rodent and cell models. *Thyroid* 2014;24(1):88-168.
- Bianco AC, Maia AL, da Silva WS, Christoffolete MA. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure. *Biosci Rep* 2005;25(3-4):191-208.
- Bieri JG, Evarts RP. Gamma tocopherol: metabolism, biological activity and significance in human vitamin E nutrition. *Am J Clin Nutr* 1974;27(9):980-986.
- Brabant G, Beck-Peccoz P, Jarzab B, Laurberg P, Orgiazzi J, Szabolcs I, Weetman AP, Wiersinga WM. Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur J Endocrinol* 2006;154(5):633-637.
- Brant G. The molecular basis of thyroid hormone action. *New England J Med* 1994;331:13.
- Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *J Clin Invest* 2012;122(9):3035-3043.
- Brenta G. Why can insulin resistance be a natural consequence of thyroid dysfunction? *J Thyroid Res* 2011;2011:152850.
- Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J* 1999;13(10):1145-1155.
- Briley SM, Jasti S, McCracken JM, Hornick JE, Fegley B, Pritchard MT, Duncan FE. Reproductive age-associated fibrosis in the stroma of the mammalian ovary. *Reproduction* 2016;152(3):245-260.
- Brokken LJ, Bakker O, Wiersinga WM, Prummel MF. Functional thyrotropin receptor expression in the pituitary folliculo-stellate cell line TtT/GF. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005;113(1):13-20.
- Brokken LJ, Leendertse M, Bakker O, Wiersinga WM, Prummel MF. Expression of adenohipophyseal-hormone receptors in a murine folliculo-stellate cell line. *Horm Metab Res* 2004;36(8):538-541.

- Brown AP, Dinger N, Levine BS. Stress produced by gavage administration in the rat. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2000;39(1):17-21.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414(6865):813-820.
- Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011;25(3):287-299.
- Carp HJ, Selmi C, Shoenfeld Y. The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. *J Autoimmun* 2012;38(2-3):J266-274.
- Cecconi S, Rossi G, Coticchio G, Macchiarelli G, Borini A, Canipari R. Influence of thyroid hormone on mouse preantral follicle development in vitro. *Fertil Steril* 2004;81 Suppl 1:919-924.
- Cecconi S, Rucci N, Scaldaferrri ML, Masciulli MP, Rossi G, Moretti C, D'Armiento M, Ulisse S. Thyroid hormone effects on mouse oocyte maturation and granulosa cell aromatase activity. *Endocrinology* 1999;140(4):1783-1788.
- Chandra A, Surti N, Kesavan S, Agarwal A. Significance of oxidative stress in human reproduction. *Arch Med Sci* 2009;5(1a):S28-S42.
- Channing CP, Coudert SP. Contribution of granulosa cells and follicular fluid to ovarian estrogen secretion in rhesus monkey in vivo. *Endocrinology* 1976;98(3):590-597.
- Channing CP, Tsai V, Sachs D. Role of insulin, thyroxin and cortisol in luteinization of porcine granulosa cells grown in chemically defined media. *Biol Reprod* 1976;15(2):235-247.
- Chattopadhyay S, Sahoo DK, Subudhi U, Chainy GB. Differential expression profiles of antioxidant enzymes and glutathione redox status in hyperthyroid rats: a temporal analysis. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2007;146(3):383-391.
- Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev* 2010;31(2):139-170.
- Cicek N, Eryilmaz OG, Sarikaya E, Gulerman C, Genc Y. Vitamin E effect on controlled ovarian stimulation of unexplained infertile women. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(4):325-328.
- Cindrova-Davies T, Yung HW, Johns J, Spasic-Boskovic O, Korolchuk S, Jauniaux E, Burton GJ, Charnock-Jones DS. Oxidative stress, gene expression, and protein changes induced in the human placenta during labor. *Am J Pathol* 2007;171(4):1168-1179.

- Cojocel C, Al-Maghrebi M, Thomson MS, Rawoot P, Raghupathy R. Modulation of the transforming growth factor beta1 by vitamin E in early nephropathy. *Med Princ Pract* 2005;14(6):422-429.
- Colicchia M, Campagnolo L, Baldini E, Ulisse S, Valensise H, Moretti C. Molecular basis of thyrotropin and thyroid hormone action during implantation and early development. *Hum Reprod Update* 2014;20(6):884-904.
- Costanzo M, Caruso LA, Veroux M, Messina DC, Marziani A, Cannizzaro MA. [The lobe of Zuckerkandl: an important sign of recurrent laryngeal nerve]. *Ann Ital Chir* 2005;76(4):337-340; discussion 340-331.
- Costilla M, Macri Delbono R, Klecha A, Cremaschi GA, Barreiro Arcos ML. Oxidative Stress Produced by Hyperthyroidism Status Induces the Antioxidant Enzyme Transcription through the Activation of the Nrf-2 Factor in Lymphoid Tissues of Balb/c Mice. *Oxid Med Cell Longev* 2019;2019:7471890.
- Cuevas E, Auso E, Telefont M, Morreale de Escobar G, Sotelo C, Berbel P. Transient maternal hypothyroxinemia at onset of corticogenesis alters tangential migration of medial ganglionic eminence-derived neurons. *Eur J Neurosci* 2005;22(3):541-551.
- Damsch S, Eichenbaum G, Tonelli A, Lammens L, Van den Bulck K, Feyen B, Vandenberghe J, Megens A, Knight E, Kelley M. Gavage-related reflux in rats: identification, pathogenesis, and toxicological implications (review). *Toxicol Pathol* 2011;39(2):348-360.
- Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell* 2004;116(2):205-219.
- Das P, Chowdhury M. Vitamin E-deficiency induced changes in ovary and uterus. *Mol Cell Biochem* 1999;198(1-2):151-156.
- Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Ghosh S, Goswami SK, Chakravarty BN, Chaudhury K. Reactive oxygen species level in follicular fluid--embryo quality marker in IVF? *Hum Reprod* 2006;21(9):2403-2407.
- Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone on the heart. *Thyroid* 2002;12(6):459-466.
- Day WA, Jr., Sajecki JL, Pitts TM, Joens LA. Role of catalase in *Campylobacter jejuni* intracellular survival. *Infect Immun* 2000;68(11):6337-6345.
- De Leo S, Lee SY, Braverman LE. Hyperthyroidism. *Lancet* 2016;388(10047):906-918.
- Demirpence O, Sevim B, Yildirim M, Ayan Nurlu N, Mert D, Evliyaoglu O. Serum paraoxonase, TAS, TOS and ceruloplasmin in brucellosis. *Int J Clin Exp Med*
- Deniz ÖG, Kıvrak EG, Kaplan AA, Altunkaynak BZ. Effects of folic acid on rat kidney exposed to 900 MHz electromagnetic radiation. *J Microsc Ultrastruct* 2017;5(4):198-205.



- Dierenfeld ES, Sheppard CD, Langenberg J, Mirande C, Spratt J, Dein FJ. Vitamin E in cranes: reference ranges and nutrient interactions. *J Wildl Dis* 1993;29(1):98-102.
- Dietrich JW, Landgrafe G, Fotiadou EH. TSH and Thyrotropic Agonists: Key Actors in Thyroid Homeostasis. *J Thyroid Res* 2012;2012:351864.
- Dillmann WH. The thyroid, In: Cecil Textbook of Medicine, Goldman, L.&Ausrello. Saunders, Philadelphia. 2004;1391-1411.
- Ding J, Cheng HD, Huang J, Zhang Y, Liu J. An improved quantitative measurement for thyroid cancer detection based on elastography. *Eur J Radiol* 2012;81(4):800-805.
- Duleba AJ, Foyouzi N, Karaca M, Pehlivan T, Kwintkiewicz J, Behrman HR. Proliferation of ovarian theca-interstitial cells is modulated by antioxidants and oxidative stress. *Hum Reprod* 2004;19(7):1519-1524.
- Dutta P, Bhansali A, Walia R, Khandelwal N, Das S, Masoodi SR. Weight homeostasis & its modulators in hyperthyroidism before & after treatment with carbimazole. *Indian Journal of Medical Research* 2012;136(2):242-248.
- Eichenbaum G, Damsch S, Looszova A, Vandenberghe J, Van den Bulck K, Roels K, Megens A, Knight E, Hillsamer V, Feyen B, Kelley MF, Tonelli A, Lammens L. Impact of gavage dosing procedure and gastric content on adverse respiratory effects and mortality in rat toxicity studies. *J Appl Toxicol* 2011;31(4):342-354.
- El Mouatassim S, Guerin P, Menezo Y. Expression of genes encoding antioxidant enzymes in human and mouse oocytes during the final stages of maturation. *Mol Hum Reprod* 1999;5(8):720-725.
- Evans HM, Bishop KS. On the Existence of a Hitherto Unrecognized Dietary Factor Essential for Reproduction. *Science* 1922;56(1458):650-651.
- Evers JLH. Female subfertility. *Lancet* 2002;360(9327):151-159.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002;18(10):872-879.
- Farzollahi M, Tayefi-Nasrabadi H, Mohammadnejad D, Abedelahi A. Supplementation of culture media with vitamin E improves mouse antral follicle maturation and embryo development from vitrified ovarian tissue. *J Obstet Gynaecol Res* 2016;42(5):526-535.
- Fazio S, Palmieri EA, Lombardi G, Biondi B. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:31-50.

- Fedail JS, Zheng K, Wei Q, Kong L, Shi F. Roles of thyroid hormones in follicular development in the ovary of neonatal and immature rats. *Endocrine* 2014;46(3):594-604.
- Fernandez V, Llesuy S, Solari L, Kipreos K, Videla LA, Boveris A. Chemiluminescent and respiratory responses related to thyroid hormone-induced liver oxidative stress. *Free Radic Res Commun* 1988;5(2):77-84.
- Fujii J, Iuchi Y, Okada F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod Biol Endocrin* 2005;3.
- Garcia-Finana M, Cruz-Orive LM, Mackay CE, Pakkenberg B, Roberts N. Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. *Neuroimage* 2003;18(2):505-516.
- Gartner LP, Hiatt, J.L., . *Color Textbook of Histology*. Saunders. 2007
- Gartner LP HJ. *Color Textbook of Histology 2nd Edition*. Pennsylvania WB Saunders Company. 2001;310-314.
- Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeold A, Bianco AC. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr Rev* 2008;29(7):898-938.
- Giese S, Duggan S, Gebicki JM. Peroxidation of proteins before lipids in U937 cells exposed to peroxy radicals. *Biochem J* 2000;350 Pt 1:215-218.
- Guerrero A, Pamplona R, Portero-Otin M, Barja G, Lopez-Torres M. Effect of thyroid status on lipid composition and peroxidation in the mouse liver. *Free Radic Biol Med* 1999;26(1-2):73-80.
- Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc* 1986;143(Pt 1):3-45.
- Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988;96(5):379-394.
- Gundersen HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987;147(Pt 3):229-263.
- Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. *J Microsc* 1999;193(Pt 3):199-211.
- Guyton AC, Hall, J.E., . *Thyroid Metabolic Hormones*. *Textbook of Medical Physiology Philadelphia* : Saunders,, 2011, 907-915.

- Guyton AC HJ. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. United States of America: Elsevier. 2011
- Guyton ACH, JE. Textbook of Medical Physiology (eleventh edition). Elsevier 31 Sanders, 0&7216&0240&1, Philadelphia. 2006
- Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease. *Hum Toxicol* 1988;7(1):7-13.
- Hammond MG. Evaluation of the infertile couple. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14(4):821-830.
- Harris RB. Chronic and acute effects of stress on energy balance: are there appropriate animal models? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2015;308(4):R250-265.
- Healy DL, Trounson AO, Andersen AN. Female Infertility - Causes and Treatment. *Lancet* 1994;343(8912):1539-1544.
- Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 2001;57(2):43-56.
- Heuer H, Visser TJ. Minireview: Pathophysiological importance of thyroid hormone transporters. *Endocrinology* 2009;150(3):1078-1083.
- Hoermann R, Midgley JE, Larisch R, Dietrich JW. Homeostatic Control of the Thyroid-Pituitary Axis: Perspectives for Diagnosis and Treatment. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015;6:177.
- Horwitt MK. Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-tryptophan, and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B-6. *Am J Clin Nutr* 1986a;44(6):973-985.
- Horwitt MK. The promotion of vitamin E. *J Nutr* 1986b;116(7):1371-1377.
- Howard CV, Reed, M.G. Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy,. 1nd Ed.United Kingdom: Bios Scientific Publishers. 1998
- Hoxsey R, Rinehart JS. Infertility and subsequent pregnancy. *Clin Perinatol* 1997;24(2):321-&.
- Hrabovszky E, Kallo I, Turi GF, May K, Wittmann G, Fekete C, Liposits Z. Expression of vesicular glutamate transporter-2 in gonadotrope and thyrotrope cells of the rat pituitary. Regulation by estrogen and thyroid hormone status. *Endocrinology* 2006;147(8):3818-3825.
- Hsieh CJ, Wang PW, Wang ST, Liu RT, Tung SC, Chien WY, Lu YC, Chen JF, Chen CH, Kuo MC. Serum leptin concentrations of patients with sequential thyroid function changes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;57(1):29-34.

- Huang S, Robinson JB, Deguzman A, Bucana CD, Fidler IJ. Blockade of nuclear factor-kappaB signaling inhibits angiogenesis and tumorigenicity of human ovarian cancer cells by suppressing expression of vascular endothelial growth factor and interleukin 8. *Cancer Res* 2000;60(19):5334-5339.
- Hulbert AJ, Else PL. Basal metabolic rate: history, composition, regulation, and usefulness. *Physiol Biochem Zool* 2004;77(6):869-876.
- Idrose AM. Acute and emergency care for thyrotoxicosis and thyroid storm. *Acute Med Surg* 2015;2(3):147-157.
- Iglesias P, Diez JJ. Influence of thyroid dysfunction on serum concentrations of adipocytokines. *Cytokine* 2007;40(2):61-70.
- Ingbar DH. The Pulmonary System in Thyrotoxicosis,. Werner & Ingbar's The Thyroid: A Fundamental & Clinical Text, 2012, 912.
- Ishii S, Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Sugihara H, Oikawa S. Hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway activated by a reduction in circulating leptin, but not by an increase in circulating ghrelin, contributes to hyperphagia associated with triiodothyronine-induced thyrotoxicosis. *Neuroendocrinology* 2003;78(6):321-330.
- Ishii T, Miyazawa M, Takanashi Y, Tanigawa M, Yasuda K, Onouchi H, Kawabe N, Mitsushita J, Hartman PS, Ishii N. Genetically induced oxidative stress in mice causes thrombocytosis, splenomegaly and placental angiodysplasia that leads to recurrent abortion. *Redox Biol* 2014;2:679-685.
- Jain S, Gaiha M, Bhattacharjee J, Anuradha S. Effects of low-dose omega-3 fatty acid substitution in type-2 diabetes mellitus with special reference to oxidative stress--a prospective preliminary study. *J Assoc Physicians India* 2002;50:1028-1033.
- Jameson JLW, A.P. . Disorders of the thyroid gland. In: Harrison's 33 Endocrinology, Jameson, JL, pp (62&69),. The McGraw&Hill Companies, Inc., 978&0&34 07&174147&7, New York 2010.
- Janssen OE, Mehlmauer N, Hahn S, Offner AH, Gartner R. High prevalence of autoimmune thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2004;150(3):363-369.
- Joshi JV, Bhandarkar SD, Chadha M, Balaiah D, Shah R. Menstrual irregularities and lactation failure may precede thyroid dysfunction or goitre. *J Postgrad Med* 1993;39(3):137-141.
- Jozwik M, Wolczynski S, Jozwik M, Szamatowicz M. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod* 1999;5(5):409-413.
- Junqueira LaC, J, . Basic Histology. McGraw-Hill, New York. 2005

- Kannappan R, Gupta SC, Kim JH, Aggarwal BB. Tocotrienols fight cancer by targeting multiple cell signaling pathways. *Genes Nutr* 2012;7(1):43-52.
- Karant S, Yu WH, Mastronardi CA, McCann SM. Vitamin E stimulates luteinizing hormone-releasing hormone and ascorbic acid release from medial basal hypothalamus of adult male rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003;228(7):779-785.
- Kaya H. “Erişkin erkek sıçanlarda lityum karbonat ile oluşturulan testis hasarı üzerine E vitamininin etkisi”. Eskişehir; 2014.
- Kaygusuzoglu E, Caglayan C, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Kilinc MA, Saglam YS. Zingerone ameliorates cisplatin-induced ovarian and uterine toxicity via suppression of sex hormone imbalances, oxidative stress, inflammation and apoptosis in female wistar rats. *Biomed Pharmacother* 2018;102:517-530.
- Kim B. Thyroid hormone as a determinant of energy expenditure and the basal metabolic rate. *Thyroid* 2008;18(2):141-144.
- Kimura S, Hara Y, Pineau T, FernandezSalguero P, Fox CH, Ward JM, Gonzalez FJ. The T/eap null mouse thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. *Gene Dev* 1996;10(1):60-69.
- Kitagawa Y, Suzuki K, Yoneda A, Watanabe T. Effects of oxygen concentration and antioxidants on the in vitro developmental ability, production of reactive oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos. *Theriogenology* 2004;62(7):1186-1197.
- Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. *Circulation* 2007;116(15):1725-1735.
- Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 2001;344(7):501-509.
- Klieverik LP, Coomans CP, Endert E, Sauerwein HP, Havekes LM, Voshol PJ, Rensen PC, Romijn JA, Kalsbeek A, Fliers E. Thyroid hormone effects on whole-body energy homeostasis and tissue-specific fatty acid uptake in vivo. *Endocrinology* 2009;150(12):5639-5648.
- Klieverik LP, Sauerwein HP, Ackermans MT, Boelen A, Kalsbeek A, Fliers E. Effects of thyrotoxicosis and selective hepatic autonomic denervation on hepatic glucose metabolism in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;294(3):E513-520.
- Kobayashi H, Kanno C, Yamauchi K, Tsugo T. Identification of alpha-, beta-, gamma-, and delta-tocopherols and their contents in human milk. *Biochim Biophys Acta* 1975;380(2):282-290.

- Kodaman PH, Behrman HR. Endocrine-regulated and protein kinase C-dependent generation of superoxide by rat preovulatory follicles. *Endocrinology* 2001;142(2):687-693.
- Komosinska-Vassev K, Olczyk K, Kucharz EJ, Marcisz C, Winsz-Szczotka K, Kotulska A. Free radical activity and antioxidant defense mechanisms in patients with hyperthyroidism due to Graves' disease during therapy. *Clinica Chimica Acta* 2000;300(1-2):107-117.
- Kong L, Wei Q, Fedail JS, Shi F, Nagaoka K, Watanabe G. Effects of thyroid hormones on the antioxidative status in the uterus of young adult rats. *J Reprod Dev* 2015;61(3):219-227.
- Kotajima N, Yanagawa Y, Aoki T, Tsunekawa K, Morimura T, Ogiwara T, Nara M, Murakami M. Influence of thyroid hormones and transforming growth factor-beta1 on cystatin C concentrations. *J Int Med Res* 2010;38(4):1365-1373.
- Kramer K, Voss HP, Grimbergen JA, Mills PA, Huetteman D, Zwiers L, Brockway B. Telemetric monitoring of blood pressure in freely moving mice: a preliminary study. *Lab Anim* 2000;34(3):272-280.
- Krassas GE, Poppe K, Glinoe D. Thyroid function and human reproductive health. *Endocr Rev* 2010;31(5):702-755.
- Kravets I. Hyperthyroidism: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician* 2016;93(5):363-370.
- Kumar RS, Ijiri S, Kight K, Swanson P, Dittman A, Alok D, Zohar Y, Trant JM. Cloning and functional expression of a thyrotropin receptor from the gonads of a vertebrate (bony fish): potential thyroid-independent role for thyrotropin in reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2000;167(1-2):1-9.
- Lal RZ, Biyani, S., Lodha, R. . Correlation of thyroid hormones with FSH, LH and prolactin in infertility in the reproductive. *IAIM* 2016;3(5):146-150.
- Lanir A, Schejter A. On the sixth coordination position of beef liver catalase. *FEBS Lett* 1975;55(1):254-256.
- Larsen PR, Davies, T.F., Schlumberger, M.J. & Hay, I.D. . Thyroid physiology and 36 diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders In: *Williams Textbook of 37 Endocrinology*, Larsen, PR, Kronenberg, HM, Melmed, S&Polonsky, KS. Saunders, Philadelphia, 2003.
- Lechan RM, Fekete C. Feedback regulation of thyrotropin-releasing hormone (TRH): mechanisms for the non-thyroidal illness syndrome. *J Endocrinol Invest* 2004;27(6 Suppl):105-119.



- Letur-Konirsch H, Delanian S. Successful pregnancies after combined pentoxifylline-tocopherol treatment in women with premature ovarian failure who are resistant to hormone replacement therapy. *Fertil Steril* 2003;79(2):439-441.
- Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007;65(12 Pt 2):S140-146.
- Lisboa LA, Andrade, E.R., Hertel, M.F., et al. . Viability and growth of cattle preantral follicles after in vitro culture of ovarian fragments in  $\alpha$ -tocopherol. *Reprod Fertil Dev* 2009;22:318–319.
- Liu J, Guo M, Hu X, Weng X, Tian Y, Xu K, Heng D, Liu W, Ding Y, Yang Y, Zhang C. Effects of Thyroid Dysfunction on Reproductive Hormones in Female Rats. *Chin J Physiol* 2018;61(3):152-162.
- Lyttle CR, DeSombre ER. Uterine peroxidase as a marker for estrogen action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(8):3162-3166.
- Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, Williams SM, De Jong SA, Ryalls AR, Berry EA. Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care* 2004;27(9):2166-2171.
- Mano T, Sinohara R, Sawai Y, Oda N, Nishida Y, Mokuno T, Kotake M, Hamada M, Masunaga R, Nakai A, et al. Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. *J Endocrinol* 1995;145(1):131-136.
- Marcocci C, Leo M, Altea MA. Oxidative stress in graves' disease. *Eur Thyroid J* 2012;1(2):80-87.
- Martin AJ, Moore T. Some effects of prolonged vitamin E deficiency in the rat. *J Hyg (Lond)* 1939;39(6):643-650 641.
- Maruo T, Hiramatsu S, Otani T, Hayashi M, Mochizuki M. Increase in the Expression of Thyroid-Hormone Receptors in Porcine Granulosa-Cells Early in Follicular Maturation. *Acta Endocrinol-Cop* 1992a;127(2):152-160.
- Maruo T, Katayama K, Matuso H, Anwar M, Mochizuki M. The role of maternal thyroid hormones in maintaining early pregnancy in threatened abortion. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1992b;127(2):118-122.
- Maxwell SR. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49(3):345-361.
- Mayhew TM, Gundersen HJ. If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 1996;188 ( Pt 1):1-15.

- Mccann UD, Shaw EA, Kaplan MM. Iodothyronine Deiodination Reaction Types in Several Rat-Tissues - Effects of Age, Thyroid Status, and Glucocorticoid Treatment. *Endocrinology* 1984;114(5):1513-1521.
- McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 2007;87(3):873-904.
- Mehranjani MS, Noorafshan, A., Hamta, A., Momeni, H.R., Abnosi, M.H., Mahmoodi, M., Anvari M., Hazaveh, M.,. Effects of vitamin E on ovarian tissue of rats following treatment with p-nonylphenol: A stereological study. *Int J Reprod Biomed* 2010;8:1-9.
- Messarah M, Boulakoud MS, Boumendjel A, Abdennour C, El Feki A. The impact of thyroid activity variations on some oxidizing-stress parameters in rats. *C R Biol* 2007;330(2):107-112.
- Mikhed Y, Gorlach A, Knaus UG, Daiber A. Redox regulation of genome stability by effects on gene expression, epigenetic pathways and DNA damage/repair. *Redox Biol* 2015;5:275-289.
- Miller FR. Surgical anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Otolaryngol Clin North Am* 2003;36(1):1-7, vii.
- Minoo P, Hamdan H, Bu D, Warburton D, Stepanik P, deLemos R. TTF-1 regulates lung epithelial morphogenesis. *Dev Biol* 1995;172(2):694-698.
- Mintziori G, Anagnostis P, Toulis KA, Goulis DG. Thyroid diseases and female reproduction. *Minerva Med* 2012;103(1):47-62.
- Mishra V, Kumar S, Siwach V, Sharma NK, Angral R, Mujumdar A, Sharma AK. Need for bringing in a change in biochemistry curriculum to make it clinically oriented? *J Assoc Physicians India* 2000;48(6):635-638.
- Modugno F. Ovarian cancer and polymorphisms in the androgen and progesterone receptor genes: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2004;159(4):319-335.
- Modugno F, Ness RB, Allen GO, Schildkraut JM, Davis FG, Goodman MT. Oral contraceptive use, reproductive history, and risk of epithelial ovarian cancer in women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(3):733-740.
- Mohamedali M, Reddy Maddika S, Vyas A, Iyer V, Cheriya P. Thyroid disorders and chronic kidney disease. *Int J Nephrol* 2014;2014:520281.
- Mohd Mutalip SS, Ab-Rahim S, Rajikin MH. Vitamin E as an Antioxidant in Female Reproductive Health. *Antioxidants (Basel)* 2018;7(2).
- Molavi M, Razi M, Cheraghi H, Khorramjouy M, Ostadi A, Gholirad S. Protective effect of vitamin E on cypermethrin-induced follicular atresia in rat ovary:

- Evidence for energy dependent mechanism. *Vet Res Forum* 2016;7(2):125-132.
- Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and Infertility in the United-States - Incidence and Trends. *Fertil Steril* 1991;56(2):192-193.
- Muller-Schmehl K, Beninde J, Finckh B, Florian S, Dudenhausen JW, Brigelius-Flohe R, Schuelke M. Localization of alpha-tocopherol transfer protein in trophoblast, fetal capillaries' endothelium and amnion epithelium of human term placenta. *Free Radic Res* 2004;38(4):413-420.
- Mullur R, Liu YY, Brent GA. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev* 2014;94(2):355-382.
- Murdoch WJ, Martinchick JF. Oxidative damage to DNA of ovarian surface epithelial cells affected by ovulation: carcinogenic implication and chemoprevention. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004;229(6):546-552.
- Murphy SJ, Smith P, Shaivitz AB, Rossberg MI, Hurn PD. The effect of brief halothane anesthesia during daily gavage on complications and body weight in rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2001;40(2):9-12.
- Ness RB. Endometriosis and ovarian cancer: thoughts on shared pathophysiology. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(1):280-294.
- Olson KR, Gao Y, DeLeon ER, Arif M, Arif F, Arora N, Straub KD. Catalase as a sulfide-sulfur oxido-reductase: An ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox Biol* 2017;12:325-339.
- Olson SE, Seidel GE, Jr. Culture of in vitro-produced bovine embryos with vitamin E improves development in vitro and after transfer to recipients. *Biol Reprod* 2000;62(2):248-252.
- Omar HA, Mohamed WR, Arafa el SA, Shehata BA, El Sherbiny GA, Arab HH, Elgendy AN. Hesperidin alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its antitumor activity. *Pharmacol Rep* 2016;68(2):349-356.
- Oppenheimer JH. Role of plasma proteins in the binding, distribution and metabolism of the thyroid hormones. *N Engl J Med* 1968;278(21):1153-1162.
- Ortiga-Carvalho TM, Chiamolera MI, Pazos-Moura CC, Wondisford FE. Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. *Compr Physiol* 2016;6(3):1387-1428.
- P'An SY, Van Dyke HB, et al. Effect of vitamin-E deficiency on amount of gonadotrophin in the anterior pituitary of rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;72(3):523-526.
- Paolisso G, Giugliano D. Oxidative stress and insulin action: is there a relationship? *Diabetologia* 1996;39(3):357-363.

- Pedersen T, Peters H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J Reprod Fertil* 1968;17(3):555-557.
- Pereira B, Rosa LFBPC, Safi DA, Bechara EJH, Curi R. Control of Superoxide-Dismutase, Catalase and Glutathione-Peroxidase Activities in Rat Lymphoid Organs by Thyroid-Hormones. *Journal of Endocrinology* 1994;140(1):73-77.
- Poppe K, Velkeniers B. Female infertility and the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004;18(2):153-165.
- Potenza M, Via MA, Yanagisawa RT. Excess thyroid hormone and carbohydrate metabolism. *Endocr Pract* 2009;15(3):254-262.
- Ransay I. *Thyroid disease and muscle dysfunction*. Chicago: Heinemann, 1974, 1.
- Refetoff S. Resistance to thyroid hormone: one of several defects causing reduced sensitivity to thyroid hormone. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4(1):1.
- Roberts N, Puddephat MJ, McNulty V. The benefit of stereology for quantitative radiology. *Br J Radiol* 2000;73(871):679-697.
- Ross MH, & Pawlina, W. *Histology: A text and atlas : with correlated cell and molecular biology.* : MD: Lippincott Williams & Wilkins. 2006a
- Ross MH, & Pawlina, W.,. *Histology: A text and atlas : with correlated cell and molecular biology.:* MD: Lippincott Williams & Wilkins. 2006b
- Ross MH, Pawlina, W., Kaye, GI. *Histology A Text and Atlas*. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins,, 2003, 655-659.
- Ruder EH, Hartman TJ, Goldman MB. Impact of oxidative stress on female fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2009;21(3):219-222.
- Sabatini L, Wilson C, Lower A, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999;72(6):1027-1034.
- Sahin N, Tuzcu M, Orhan C, Onderci M, Eroksuz Y, Sahin K. The effects of vitamin C and E supplementation on heat shock protein 70 response of ovary and brain in heat-stressed quail. *Br Poult Sci* 2009;50(2):259-265.
- Sahoo DK, Roy A, Bhanja S, Chainy GB. Experimental hyperthyroidism-induced oxidative stress and impairment of antioxidant defence system in rat testis. *Indian J Exp Biol* 2005;43(11):1058-1067.
- Saki G, Jasemi M, Sarkaki AR, Fathollahi A. Effect of administration of vitamins C and E on fertilization capacity of rats exposed to noise stress. *Noise Health* 2013;15(64):194-198.

- Sanchezfranco F, Fernandez L, Fernandez G, Cacicedo L. Thyroid-Hormone Action on Acth-Secretion. *Horm Metab Res* 1989;21(10):550-552.
- Sapin R, Schlienger JL. [Thyroxine (T4) and tri-iodothyronine (T3) determinations: techniques and value in the assessment of thyroid function]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2003;61(4):411-420.
- Sargazi Z, Reza Nikravesht M, Jalali M, Reza Sadeghnia H, Rahimi Anbarkeh F. The protective effect of vitamin E on rats' ovarian follicles following an administration of diazinon: An experimental study. *Int J Reprod Biomed (Yazd)* 2019;17(2).
- Schneider C, Feller M, Bauer DC, Collet TH, da Costa BR, Auer R, Peeters RP, Brown SJ, Bremner AP, O'Leary PC, Feddema P, Leedman PJ, Aujesky D, Walsh JP, Rodondi N. Initial evaluation of thyroid dysfunction - Are simultaneous TSH and fT4 tests necessary? *PLoS One* 2018;13(4):e0196631.
- Schneider MJ, Fiering SN, Thai B, Wu SY, St Germain E, Parlow AF, St Germain DL, Galton VA. Targeted disruption of the type 1 selenodeiodinase gene (*Dio1*) results in marked changes in thyroid hormone economy in mice. *Endocrinology* 2006;147(1):580-589.
- Scully RE, Cohen RB. Oxidative-Enzyme Activity in Normal and Pathologic Human Ovaries. *Obstet Gynecol* 1964;24:667-681.
- Sedeek M, Nasrallah R, Touyz RM, Hebert RL. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney: friend and foe. *J Am Soc Nephrol* 2013;24(10):1512-1518.
- Segerson TP, Kauer J, Wolfe HC, Mobtaker H, Wu P, Jackson IM, Lechan RM. Thyroid hormone regulates TRH biosynthesis in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Science* 1987;238(4823):78-80.
- Sheahan P, Murphy MS. Thyroid Tubercle of Zuckermandl: Importance in Thyroid Surgery. *Laryngoscope* 2011;121(11):2335-2337.
- Sikka SC. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem* 2001;8(7):851-862.
- Silva JE, Bianco SD. Thyroid-adrenergic interactions: physiological and clinical implications. *Thyroid* 2008;18(2):157-165.
- Silva JF, Ocarino NM, Vieira AL, Nascimento EF, Serakides R. Effects of hypo- and hyperthyroidism on proliferation, angiogenesis, apoptosis and expression of COX-2 in the corpus luteum of female rats. *Reprod Domest Anim* 2013;48(4):691-698.
- Silvestri E, Schiavo L, Lombardi A, Goglia F. Thyroid hormones as molecular determinants of thermogenesis. *Acta Physiol Scand* 2005;184(4):265-283.

- Sinha RA, Singh BK, Yen PM. Thyroid hormone regulation of hepatic lipid and carbohydrate metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2014;25(10):538-545.
- Siti N HA, Shukri A,. Thyroid Gland Resection in Euthanised Rat: A Practical Guide *International Medical Journal* 2013;20 1-4.
- Skandalakis JE SP, Skandalakis LJ. . Anatomy of the thyroid gland. In: (ed) SJ, editor. *Surgical Anatomy and Technique* New York: Springer – Verlag, 1995, 31-44.
- Skjoldebrand Sparre L, Kollind M, Carlstrom K. Ovarian ultrasound and ovarian and adrenal hormones before and after treatment for hyperthyroidism. *Gynecol Obstet Invest* 2002;54(1):50-55.
- Southren AL, Olivo J, Gordon GG, Vittek J, Brener J, Rafii F. The conversion of androgens to estrogens in hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;38(2):207-214.
- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 1984;134(Pt 2):127-136.
- Stondring S. *Gray's Anatomy. The Anatomical Basis of Clinical Practice* London: Churchill Livingstone Elsevier, 2008, 462-463.
- Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura Y, Kato H. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Mol Hum Reprod* 2000;6(1):19-25.
- Switala J, Loewen PC. Diversity of properties among catalases. *Arch Biochem Biophys* 2002;401(2):145-154.
- Szafarowska M, Jerzak M. [Ovarian aging and infertility]. *Ginekol Pol* 2013;84(4):298-304.
- Szikosz E, Pap D, Lippai R, Beres NJ, Fekete A, Szabo AJ, Vannay A. Fibrosis Related Inflammatory Mediators: Role of the IL-10 Cytokine Family. *Mediators Inflamm* 2015;2015:764641.
- Tam AA, Tam, H., Usluoğulları, C.A., Dede, I., Balkan, F., Kaya, C., Üçler, R., Eskioglu, R.,. The levels of HbA1c in patients with thyroid dysfunction. *Gaziantep Med J* 2015;21(1):5-8.
- Tareq KM, Akter QS, Khandoker MA, Tsujii H. Selenium and vitamin E improve the in vitro maturation, fertilization and culture to blastocyst of porcine oocytes. *J Reprod Dev* 2012;58(6):621-628.
- Tatone C, Carbone MC, Falone S, Aimola P, Giardinelli A, Caserta D, Marci R, Pandolfi A, Ragnelli AM, Amicarelli F. Age-dependent changes in the expression of superoxide dismutases and catalase are associated with ultrastructural modifications in human granulosa cells. *Mol Hum Reprod* 2006;12(11):655-660.

- Tatone C, Eichenlaub-Ritter U, Amicarelli F. Dicarbonyl stress and glyoxalases in ovarian function. *Biochem Soc Trans* 2014;42(2):433-438.
- Theodoropoulou M, Arzberger T, Gruebler Y, Korali Z, Mortini P, Joba W, Heufelder AE, Stalla GK, Schaaf L. Thyrotrophin receptor protein expression in normal and adenomatous human pituitary. *J Endocrinol* 2000;167(1):7-13.
- Thijssen JH. Progesterone receptors in the human uterus and their possible role in parturition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005;97(5):397-400.
- Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007;43(1):4-15.
- Treesh SAaK, N.S.,. Effect of Thyroid Disorders on the Adult Female Albino Rats. *J Cytol Histol* 2014;5:245.
- Turgut M, Turkkani Tunc A, Aslan H, Yazici AC, Kaplan S. Effect of pinealectomy on the morphology of the chick cervical spinal cord: a stereological and histopathological study. *Brain Res* 2007;1129(1):166-173.
- Umeda F, Kato K, Muta K, Ibayashi H. Effect of vitamin E on function of pituitary-gonadal axis in male rats and human subjects. *Endocrinol Jpn* 1982;29(3):287-292.
- Van Lente F, Pepoy M. Coupled-enzyme determination of catalase activity in erythrocytes. *Clin Chem* 1990;36(7):1339-1343.
- Vattai A, Ziegelmuller B, Kost B, Kuhn C, Hofmann S, Bayer B, Anslinger K, Jeschke U, Ditsch N. The expression of thyroid hormone receptors (THR) is regulated by the progesterone receptor system in first trimester placental tissue and in BeWo cells in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015;195:31-39.
- Vendemiale G, Grattagliano I, Altomare E. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *Int J Clin Lab Res* 1999;29(2):49-55.
- Venditti P, Balestrieri M, Di Meo S, De Leo T. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol* 1997;155(1):151-157.
- Vischer HF, Bogerd J. Cloning and functional characterization of a testicular TSH receptor cDNA from the African catfish (*Clarias gariepinus*). *J Mol Endocrinol* 2003;30(2):227-238.
- Vissenberg R, Manders VD, Mastenbroek S, Fliers E, Afink GB, Ris-Stalpers C, Goddijn M, Bisschop PH. Pathophysiological aspects of thyroid hormone disorders/thyroid peroxidase autoantibodies and reproduction. *Hum Reprod Update* 2015;21(3):378-387.



- Vitale M, Di Matola T, D'Ascoli F, Salzano S, Bogazzi F, Fenzi G, Martino E, Rossi G. Iodide excess induces apoptosis in thyroid cells through a p53-independent mechanism involving oxidative stress. *Endocrinology* 2000;141(2):598-605.
- Vural P, Akgul C, Yildirim A, Canbaz M. Antioxidant defence in recurrent abortion. *Clin Chim Acta* 2000;295(1-2):169-177.
- Wagner MS, Wajner SM, Maia AL. Is there a role for thyroid hormone on spermatogenesis? *Microsc Res Tech* 2009;72(11):796-808.
- Wakim AN, Paljug WR, Jasnosz KM, Alhakim N, Brown AB, Burholt DR. Thyroid hormone receptor messenger ribonucleic acid in human granulosa and ovarian stromal cells. *Fertil Steril* 1994;62(3):531-534.
- Wakim AN, Polizotto SL, Buffo MJ, Marrero MA, Burholt DR. Thyroid hormones in human follicular fluid and thyroid hormone receptors in human granulosa cells. *Fertil Steril* 1993;59(6):1187-1190.
- Walsh SW, Vaughan JE, Wang Y, Roberts LJ. Placental isoprostane is significantly increased in preeclampsia. *Faseb Journal* 2000;14(10):1289-1296.
- Walsh TG, Berndt MC, Carrim N, Cowman J, Kenny D, Metharom P. The role of Nox1 and Nox2 in GPVI-dependent platelet activation and thrombus formation. *Redox Biol* 2014;2:178-186.
- Wang X, Falcone T, Attaran M, Goldberg JM, Agarwal A, Sharma RK. Vitamin C and vitamin E supplementation reduce oxidative stress-induced embryo toxicity and improve the blastocyst development rate. *Fertil Steril* 2002;78(6):1272-1277.
- Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res* 1999;38(4):309-336.
- Wei Q, Fedail JS, Kong L, Zheng K, Meng C, Fadlalla MB, Shi F. Thyroid hormones alter estrous cyclicity and antioxidative status in the ovaries of rats. *Anim Sci J* 2018;89(3):513-526.
- Weiss RV, Clapauch R. Female infertility of endocrine origin. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014;58(2):144-152.
- West MJ. Introduction to stereology. *Cold Spring Harb Protoc* 2012;2012(8).
- Williams CJ, Erickson GF. Morphology and Physiology of the Ovary. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, *et al.*, editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA), 2000.
- Williams GR, Bassett JHD. Local control of thyroid hormone action: role of type 2 deiodinase. *J Endocrinol* 2011;209(3):261-272.

- Wilson R, Chopra M, Bradley H, McKillop JH, Smith WE, Thomson JA. Free radicals and Graves' disease: the effects of therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989;30(4):429-433.
- Wu Y, Xu B, Koenig RJ. Thyroid hormone response element sequence and the recruitment of retinoid X receptors for thyroid hormone responsiveness. *J Biol Chem* 2001;276(6):3929-3936.
- Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med* 2012;18(7):1028-1040.
- Yamada M, Mori M. Mechanisms related to the pathophysiology and management of central hypothyroidism. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4(12):683-694.
- Yiang GT, Chen JN, Lin PS, Liu HC, Chen SY, Wei CW. Combined treatment with vitamin E and gefitinib has synergistic effects to inhibit TGF-beta1-induced renal fibroblast proliferation. *Mol Med Rep* 2016;13(6):5372-5378.
- Yokota M, Ichihara S, Lin TL, Nakashima N, Yamada Y. Association of a T29-->C polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to myocardial infarction in Japanese. *Circulation* 2000;101(24):2783-2787.
- Young TW, Mei FC, Yang G, Thompson-Lanza JA, Liu J, Cheng X. Activation of antioxidant pathways in ras-mediated oncogenic transformation of human surface ovarian epithelial cells revealed by functional proteomics and mass spectrometry. *Cancer Res* 2004;64(13):4577-4584.
- Zhang C, Xia G, Tsang BK. Interactions of thyroid hormone and FSH in the regulation of rat granulosa cell apoptosis. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;3:1401-1413.
- Zheng K, Sulieman FJ, Li J, Wei Q, Xu M, Shi F. Nitric oxide and thyroid hormone receptor alpha 1 contribute to ovarian follicular development in immature hyper- and hypo-thyroid rats. *Reprod Biol* 2015;15(1):27-33.
- Zhou F, Shi LB, Zhang SY. Ovarian Fibrosis: A Phenomenon of Concern. *Chin Med J (Engl)* 2017;130(3):365-371.
- Ziegelmueller B, Vattai A, Kost B, Kuhn C, Hofmann S, Bayer B, Toth B, Jeschke U, Ditsch N. Expression of Thyroid Hormone Receptors in Villous Trophoblasts and Decidual Tissue at Protein and mRNA Levels Is Downregulated in Spontaneous and Recurrent Miscarriages. *J Histochem Cytochem* 2015;63(7):511-523.

## EKLER

### Hayvan Etik Onay Belgesi



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604-E.5268  
Konu : HADYEK İzin Onayı Hakk.

01/03/2018

PROF.DR. SÜLEYMAN KAPLAN  
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar Hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvurmuş Prof.Dr. Süleyman KAPLAN'ın 2017/52 Kabul nolu " Hipertiroidizm Hipofiz-Ovaryum Eksenini Üzerindeki Etkilerine Karşı E Vitamini'nin Koruyucu Rolü" başlıklı projesi 24.11.2017 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK 'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.  
Gereğini bilgilerinize rica ederim

e-İmzalıdır

Prof. Dr. Fersat KOLBAKIR  
HADYEK

Ek: 2017-52 Prof.Dr. Süleyman KAPLAN

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü

Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91

Elektronik Ağı: <http://www.omu.edu.tr/>

5870 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile doğrulanmıştır.

Evrak teyidi <http://ehyasorgu.omu.edu.tr> adresinden 0M4G-IZEK-0K22 kodu ile yapılabilir.

Ali ÖZTÜRK

[ali.ozturk@omu.edu.tr](mailto:ali.ozturk@omu.edu.tr)

Keşif Adresi: [omu@hs01.kep.tr](mailto:omu@hs01.kep.tr)

Dahili Tel:2782

## ÖZ GEÇMİŞ

Ad Soyad: Elfide Gizem KIVRAK

Doğum Yeri: Samsun

Doğum Tarihi: 15/05/1989

Medeni Hali: Bekâr

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2007-2011

Yüksek Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2012-2014

Doktora: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2014-2019

E-posta: [elfide.gzm@gmail.com](mailto:elfide.gzm@gmail.com)