

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**TRİKLORETİLEN UYGULANAN RATLARIN OVER
DOKULARINA VİTAMİN D'NİN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Helin BAĞCI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım ve uzmanlık tezimde büyük destek ve katkısı olan Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım olan değerli hocam Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK'e,

Her konuda desteklerini esirgemeyen, deneyim ve yardımları ile bu alanda yetişmemde katkısı olan değerli hocalarım Doç.Dr. Burçın KAVAK, Doç. Dr. Z. Sema ÖZKAN, Doç. Dr. Alpaslan AKYOL, Yrd. Doç.Dr. Remzi ATILGAN Yrd. Doç. Dr. Ebru KAVAK'a, ve Yrd. Doç. Dr. Şehmus PALA'ya

Tezimin her aşamasında tasarım ve sürdürülmesi, materyal temini, preperat değerlendirilmesi, istatik aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Tuncay Kuloğlu'na ve asistanlarına özellikle Nalan KAYA ve Emine SARMAN'a

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Doç. Dr Ebru ÖNALAN'a Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalında birlikte çalıştığım araştırma görevlisi, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Yoğun çalışma sürecimde sonsuz sevgi ve ilgileri ile her zaman yanımda olan ve destekleri ile bana hayat boyu güç veren anneme, babama ve kardeşime,

Hayatımın her döneminde yardımını benden esirgemeyen, hayat tecrübesi ile bana yol gösteren dayım Uzman Dr.Asım TAYMAZ'a

Sonsuz teşekkür ederim.....

ÖZET

Trichloroethylene (TCE), bir klorinli hidrokarbondur ve yaygın kullanımından dolayı insanlar çevresel bir kirlenici olarak sıklıkla maruz kalırlar. TCE ile yapılan birçok çalışmada TCE nin karaciğer, böbrek, testis ve over dokuları üzerine toksik etkileri gösterilmiştir. Vitamin D ve metabolitleri vitaminden çok hormon ve hormon öncülleridir. Birçok çalışmada Vitamin D₃'ün antioksidatif etkileri görülmüştür.

Bu çalışmada TCE uygulanan sıçanların over dokularına Vitamin D'nin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, 24 adet 8-10 haftalık Wistar albino cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 kontrol grubunu oluşturdu ve deney süresi olan 3 hafta boyunca bir uygulama yapılmadı. Grup 2'ye oral gavajla TCE 1000 mg/kg/gün ile verildi. Grup 3 TCE 1000 mg/kg/gün ile birlikte Vitamin D 50IU/gün oral olarak aldı ve Grup 4 ise sadece vitamin D 50IU/gün dozunda oral alanlardan oluşuyordu.

Deney sonunda sıçanlar anestezi altında dekapite edildi ve over dokuları çıkartıldı. Histolojik çalışma için rutin takip işlemi ile dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere Malondialdehid (MDA) immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi, histopatolojik değişiklikler için ise masson trikrom boyası uygulandı.

Malondialdehid immünreaktivitesi kontrol ve Vit D gruplarında benzerdi. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında TCE grubunda anlamlı bir artış vardı. TCE grubu ile kıyaslandığında TCE+Vit D grubunda ise anlamlı bir azalma izlendi. Histolojik incelenme sonucu; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; TCE grubunda korpus luteumda belirgin olarak azalmış angiogenez, germinal epitelde dejenerasyon, over follikül rezervinde azalma ve folliküllerde dejenerasyon gözlemlendi. TCE grubu ile kıyaslandığında TCE+Vit D grubunda ise folliküllerde dejenerasyon ve germinal epitelde belirgin bir iyileşme olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, TCE'nin over dokusunda MDA'yı arttırdığı ve histopatolojik değişiklikler oluşturduğu, tedavi olarak verilen Vitamin D'nin MDA ve histopatolojik değişiklikleri azalttığı görüldü. Vitamin D'nin over dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerde klinik olarak kullanılabilmesi için gelecekte farklı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Trikloretilen, over, vitamin D

ABSTRACT

EFFECT OF VITAMIN D ON OVARIAN TISSUES OF RATS ADMINISTERED TRICHLORETHYLENE

Trichlorethylene (TCE) is a chlorinated hydrocarbone and human beings are heavily exposed as an environmental pollutant due to its widespread usage. Many studies done by TCE showed its toxic effects on liver, kidney and ovarian tissues. Vitamin D is a hormone or hormone precursor, rather than being a vitamin. In many studies, antioksidant effects of vitamin D is observed.

The aim of this study was to investigate the effects of vitamin D on ovarian tissue of rats exposed to TCE. In this study, 24 female 8-10 weeks old Wistar-Albino rats were used. The rats were randomly divided into 4 groups. Group 1 was the control group and nothing was given during the 3 weeks test period. Group 2 was given TCE (1000 mg/kg/day given) by oral gavage. Group 3 received TCE (1000 mg/kg/day)+Vitamin D (50IU/day) orally and Group 4 constituted the group of rats receiving only Vitamin D (50IU/day) orally.

After the experimental period the rats were decapitated under anesthesia and the ovarian tissues were removed. Tissues were embedded into paraffin blocks by routine procedures for histologic evaluation. The sections taken from the blocks were stained with avidin-biotin-peroxidase method for Malondialdehyde (MDA) immunoreactivity and by Masson's trichrome for histopathological changes.

Malondialdehyde immunoreactivities were similar in the control and vitamin D group. Compared with the control and TCE group, there was a significant increase in TCE group. Compared with TCE group, TCE+vit D group revealed a significant decrease.

The results of histological examination was as follows; Compared with the control group, TCE group showed significant decrease in the corpus luteum angiogenesis, germinal epithelium degeneration, decrease in ovarian follicle reserve and follicle degeneration. Compared with TCE group, follicule degeneration and a significant improvement in the germinal epithelium was observed in TCE+Vit D group.

As a result, it is shown that TCE increases MDA and causes histopathologic changes in the ovarian tissue. Application of vitamin D reduces MDA and these histologic changes. New studies are needed before its usage in the clinics.

Keywords: Trichloroethylene, Ovary, Vitamin D

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel bilgiler	2
1.1.1. Overler	2
1.1.1.1. Over Anatomisi	2
1.1.1.1.1. Over Embriyolojisi	3
1.1.1.1.2. Over Histolojisi	5
1.1.1.1.3. Folliküler Gelişim (Follikülogenez)	7
1.1.1.1.4. Primordiyal Follikül Seçilimi	8
1.1.1.1.6. Primer Follikül	9
1.1.1.1.7. Sekonder Follikül	9
1.1.1.1.8. Antral (Graaf) Follikül	10
1.1.1.1.9. Folikül Atrezisi	11
1.1.1.1.10. Ovulasyon	11
1.1.1.1.11. Oogenez	11
1.1.1.1.12. Korpus Luteum	12
1.1.1.1.13. Over Rezervi	12
1.1.1.1.14. Over Rezervini Belirlemek İçin Kullanılan Testler	14
1.2. Trichloroethylene	18
1.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	18
1.2.2. Trichloroethylene'in Metabolizması	21
1.2.3. TCE'nin biyolojik dokulara etkileri	23
1.3. D Vitamini	25

1.3.1. Tanım ve önemi	25
1.3.2. Vitamin D'nin Biyokimyası ve Fizyolojisi	26
1.3.3. Vitamin D'nin Metabolizması ve Fonksiyonları	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM	32
2.1. Histolojik Çalışma	32
2.2. İmmünohistokimyasal Çalışma	33
2.3. İstatistiksel Analiz	35
3. BULGULAR	36
3.1. Histolojik Bulgular	36
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	37
3.2.1. MDA İmmünreaktivitesi	37
4. TARTIŞMA	46
5. KAYNAKLAR	51
6. ÖZGEÇMİŞ	64

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Histolojik takip serileri	33
Tablo 2. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	34
Tablo 3. Histolojik değişiklikler	36
Tablo 4. Histoskor	36
Tablo 5. MDA immünreaktivitesi.	37

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Over anatomisi ve kanlanması	3
Şekil 2.	Ovaryumun histolojisi	6
Şekil 3.	Foliküler gelişim (Folikülogenez)	7
Şekil 4.	Primordiyal, primer ve sekonder follikülün morfolojik görünümü	9
Şekil 5.	Yaşla azalan follikül havuzu	14
Şekil 6.	TCE'nin kimyasal yapı formülü	18
Şekil 7.	TCE metabolizmasının 2 yolağı: glutatyon ile konjugasyon, P450 bağımlı oksidasyon.	22
Şekil 8.	TCE'nin glutatyon konjugasyonu yoluyla organlar arası süreci ve metabolizması	23
Şekil 9.	D2 ve D3 vitamin moleküler yapısı	26
Şekil 10.	D vitamini metabolizması	28
Şekil 11.	D vitamininin fizyolojik etkilerine ilaveten kalp-damar sağlığı, kanserden koruma, otoimmün işlevlerin düzenlenmesi ve otoimmün hastalık riskini azaltması gibi pek çok etkisinin şematik gösterimi	31
Şekil 12.	Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	38
Şekil 13.	Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	38
Şekil 14.	Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	39
Şekil 15.	Vit D grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	39
Şekil 16.	Vit D grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	40
Şekil 17.	Vit D grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	40
Şekil 18.	TCE grubunda korpus luteumda azalmış angiogenez	41
Şekil 19.	TCE grubunda germinal epitelde dejenerasyon	41
Şekil 20.	TCE grubunda over follikül rezervinde azalma ve folliküllerde dejenerasyon	42
Şekil 21.	TCE+Vit D grubunda korpus luteum angiogenezi	42
Şekil 22.	TCE+Vit D grubunda folliküllerde dejenerasyonda belirgin düzelme.	43
Şekil 23.	TCE+Vit D grubunda germinal epitelde belirgin düzelme.	43
Şekil 24.	Kontrol grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi	44

Şekil 25.	Vit D grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi	44
Şekil 26.	TCE grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi	45
Şekil 27.	TCE+Vit D grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi	45

KISALTMALAR LİSTESİ

AFS	: Bazal antral follikül sayımı
CCCT	: Klomifen sitrat challenge test
CYP2E1	: Sitokrom P450 2E1
DM	: Diabetes mellitus.
EFORT	: Egzojen FSH ovaryan rezerv test
EPA	: Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency)
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GAST	: GnRH agonist stimülasyon test
GVBD	: Germinal Vesicle Break Down
hCG	: Human Chorionic Gonadotrophin
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Enstitüsü
KB	: Kan basıncı
KC	: Karaciğer
LH	: Lüteinleştirici Hormon
MDA	: Malondialdehid
MIF	: Antimüllerian Hormon
MII	: Metafaz II
MS	: Multipl skleroz
NF-B	: Nükleer faktör-kappa beta
OOV	: Bazal over volumünün ölçülmesi
OSHA	: The Occupational Safety and Health Administration
PTH	: Parathormon
RA	: Romatoid artrit
TCE	: Trichloroethylene, Klorinli hidrokarbon olan trichloroethylene
TGF-β	: Büyüme faktörü-beta

1. GİRİŞ

Klorinli hidrokarbon olan trichloroethylene (TCE) esas olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılmaktadır. Yağ, parafin, resin, kauçuk, selüloz esterleri, boya ve cilalar için kullanılmakta olan genel bir çözücüdür. Yaygın kullanımından dolayı kısmen suda çözünebilen kısmen de uçucu olan TCE'ye çevresel kirletici olarak yoğun bir şekilde maruz kalınmaktadır. TCE'nin %85'i metal temizleyici olarak kullanılmaktadır. TCE doğada normal koşullarda bulunmamakla birlikte atık ürün şeklinde zararlı çevresel bir kontaminant olarak bulunmaktadır. TCE maruziyeti genellikle metal indirgeme işlemleri sırasındaki buharlaşma ile veya TCE ile kontamine suların kullanımı ile olmaktadır. TCE yapıştırıcılarda, leke gidericilerde, parke temizleme solüsyonlarında bulunduğundan dolayı ev içinde de bulunabilen zararlı bir maddedir (1).

Aynı zamanda deney hayvanlarında hepatotoksik etkisi kanıtlanmış çevresel ve endüstriyel bir kirleticidir. Hava ve yeraltı sularının yaygın bir kirleticisi olduğundan insan sağlığı üzerindeki birçok farklı yan etkileri çalışmalara konu olmaktadır. TCE; kemiricilerde karsinojen olarak bilinir ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Enstitüsü (IARC) tarafından da insanlar için olası bir kanserojen olarak kabul edilmektedir (2, 3).

Trichloroethylene ile yapılan birçok çalışmada TCE nin karaciğer, böbrek, testis ve over dokuları üzerine toksik etkileri gösterilmiştir (4-7). Yapılan çalışmalarda dişi ratlara inhalasyon ve oral yolla TCE verilmiş olup TCE nin oosit fertilizasyonu azalttığı gösterilmiştir (1, 8). Deneysel çalışmalarda TCE uygulanan ratların over dokularında artmış CYP2E1(Sitokrom P450 2E1) aktivitesi saptanmış ve bundan dolayı ovaryan TCE metabolizmasının oksidatif CYP enzimi aracılığı yolu ile oluşabileceği ileri sürülmüştür (9).

Hem insan hem hayvan modellerinde çevresel bir kirletici olan TCE maruziyetinin otoimmunitiyi induklediği biliniyor (10). TCE serbest radikal oluşturuyor olarak bilinsede nedeni artmış oksidatif stres ve otoimmun cevap induksiyonudur (11). SLE, sistemik skleroz ve fasiitisi içeren otoimmun hastalıkların gelişmesinin TCE ile ilişkisi hem insan hem hayvan çalışmalarında belgelenmiştir (12).

1,25 dihidroksivitamin D (1,25(OH)2D) mineral iyon homeostaz regülasyonunda yer alan majör steroid hormondur. Vitamin D ve metabolitleri vitaminden çok hormon ve hormon öncülleridir çünkü uygun biyolojik ortamlarda endojen olarak sentez edilebilirler (13).

Vitamin D'nin farklı hücre tiplerinde büyümei engellemesi ve diferansiasyonu uyarabilmesinden dolayı çeşitli endokrin hastalıklarda, immün sistemin düzenlenmesi ve kanserden korunmada etkileri mevcuttur. Vitamin D eksikliği ile diyabet, kanser, otoimmün hastalıklar ve hipertansiyon arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Vitamin D₃'ün antioksidatif etkileri görülmüştür (14). Lin ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada merkezi sinir sisteminde oksidatif stres oluşturulmuş ve melatonin, vitaminE, beta estradiol ve Vitamin D₃'ün lipit peroksidasyonuna olan etkileri karşılaştırılmıştır. Vitamin D₃'ün melatonin, vitaminE ve beta estradiol'den daha güçlü bir şekilde merkezi sinir sisteminde lipit peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (15).

1.1. Genel bilgiler

1.1.1. Overler

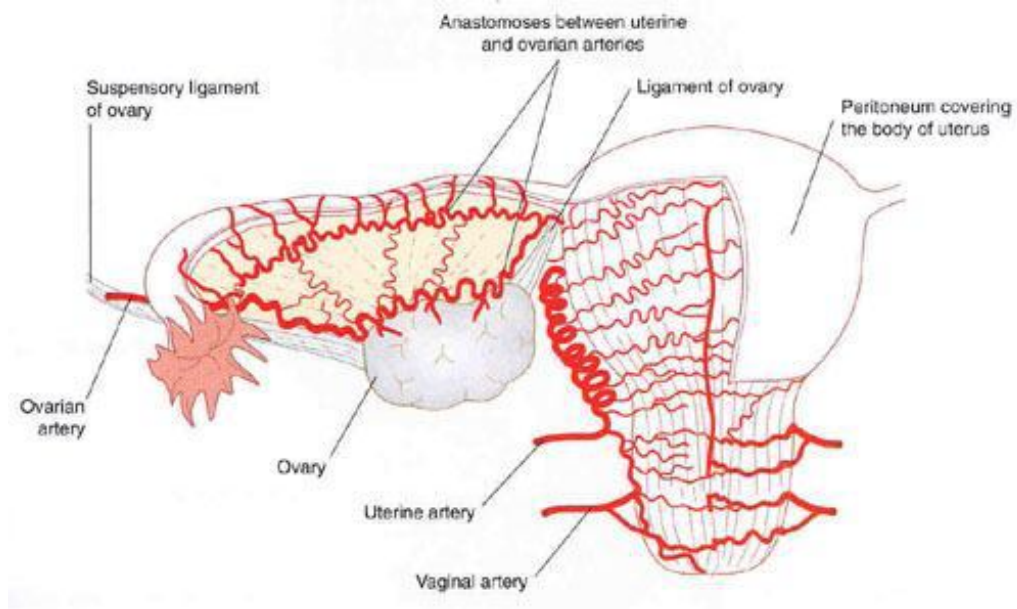
1.1.1.1. Over Anatomisi

Overler, medialde uteroovayan ligament, lateralde infundibulopelvik ligament ile asılı olarak uterus ile pelvik duvar arasında bulunan bir çift gonadal organdır. Over boyutu genellikle 5x3x3 cm civarında ve ağırlığı 2-8 gr arasındadır. Overler korteks ve medulladan oluşur ve mezoovaryum ile devam eden yassılaşımış tek kat kuboidal epitelden meydana gelmiştir. Kortekste özelleşmiş bir stroma ve değişik fazlarda folliküller bulunur.

Medulla, fibromüsküler tabaka ile kan damarlarını içeren küçük bir alan olan hiler bölgede yer alır. Overler, arteria ovaricadan beslenir (16).

Arteria ovarica aortanın bir dalıdır ve infundibulopelvik ligament üzerinden overin mezoovaryal sınırında arteria uterinanın ovaryan dalı ile anostomoz yapar ve buradan çıkan yaklaşık 10 arterial dal ile medullaya over hilusundan girer (17-20) (Şekil 1).

Overin venleri, arterlerini izleyerek hilusta bir araya gelerek pleksus meydana getirip vena ovaricalara açılır. Sol vena ovarica renal vene, sağ vena ovarica vena cava inferiora açılır (17).



Şekil 1. Over anatomisi ve kanlanması (21)

1.1.1.1.1. Over Embriyolojisi

Cinsiyetin farklanması kompleks bir süreçtir ve bir kısmı da otozomal olmak üzere çok sayıda geni içerir. Seksi belirleyen bölgede, testis belirleyici faktör genini taşıyan Y kromozomu anahtar rol oynar. Gonadal farklanma üzerinde bu faktörün varlığı veya yokluğu doğrudan etkili olur ve bir şelale gibi Y kromozomundan aşağı doğru, rudimenter cinsiyet organlarının kaderini belirlemek için birçok başka genin harekete geçmesini sağlayacak düğmeye basar (22).

Genetik açıdan daha fertilizasyon aşamasında embriyonun cinsiyeti belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadların dişi veya erkek morfolojik özellikleri yoktur (23).

Başlangıçta gonadlar, çöломik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşan, bir çift gonadal kabarıklık şeklinde oluşurlar. Gelişimin erken evrelerinde, yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında primordiyal germ hücreleri gelişir. Barsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketler yaparak ilerleyip primitif gonadlara 5. haftanın başında

ulaşır ve genital kabarıklıkları da 6. haftada işgal ederler. Gelişimin 6. haftasına kadar genital kabarıklıklar içinde germ hücreleri bulunmaz.

Gonadların over veya testise farkanmasında, primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır ve genital kabarıklığa ulaşamazlarsa, gonadlar gelişemez (22).

Primitif gonadlara primordiyal germ hücrelerinin ulaşılmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabarıklığın olomik epiteli proliferer olur ve epitel hücreleri altındaki mezenşim doku içine girerek, burada primitif cinsiyet kordonları denen irregüler şekilli kordonları oluştururlar ve bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdırlar. Farklılanmamış gonad olarak bilinen bu dönemdeki erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir (22).

Farklılanmamış gonadın korteksinde, başlangıçta olom epitelinden mezenşim içine uzanan primer seks kordonları bulunur (24).

XX cinsiyet kromozomuna sahip dişi embriyolarda, primitif cinsiyet kordonları düzensiz hücre kümelerine ayrılır. Bunlar, daha çok overin medullar bölgesinde yerleşir ve sonradan, kaybolarak yerlerini over medullasını meydana getiren vasküler bir stromaya bırakır.

Dişi gonadın yüzeyel epiteli erkeklerdekinin aksine çoğalmaya devam eder. Yedinci haftada bunlardan alttaki mezenşim içine girmesine rağmen, gene de yzeeye yakın kalmayı sürdüren, kortikal kordonlar denen ikinci nesil kordonlar meydana gelir.

Bu kordonlar dördüncü ayda, bir veya daha çok sayıdaki primitif germ hücresini saran izole hücre topluluklarına ayrılır. Zamanla bu germ hücreleri oogoniaya dönüşürken, yüzey epitelinden aşağıya gen ve germ hücrelerini saran epitel hücrelerinden de folliküler hücreler oluşur. Cinsiyet spermatositin X veya Y kromozomu taşıyıp taşımamasına bağlıdır ve fertilizasyon sırasında belirlenir. XX kromozomu taşıyan bir embriyoda, kortikal kordonların sekonder generasyonu meydana gelirken gonadın meduller kordonları geriler. XY kromozomu taşıyan embriyolarda ise, sekonder kortikal kordonlar gelişemez ve meduller kordonlar, testis kordonlarına dönüşür (22).

1.1.1.1.2. Over Histolojisi

Overlerin başlıca iki fizyolojik görevi vardır; gametlerin üretilmesi (gametogenez) ve steroid yapıdaki hormonların (östrojen ve progesteron) sentezlenip salgılanmasında görevlidir. Puberteden itibaren, üreme çağı boyunca kadınlar devamlı olarak aylık üreme sikluslarına girerler. Bu olaylarda hipotalamus, hipofiz bezi, overler ve uterus işlevleri önemlidir. Hipotalamustaki nörosekretuar hücreler, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezler ve bu hormonu hipofiz bezinin ön lobuna hipofizyal portal sistem aracılığıyla iletir. GnRH hipofizde üretilen ve overler üzerine etkili iki hormonun salınmasını uyarır. Bunlar; over folikülünün gelişimini ve folikül hücrelerinden östrojen salınımını uyararak Follikül stimüle eden hormon (FSH) ve ovulasyonu tetikleyen, follikül hücreleri ve korpus luteumu uyararak progesteron üretimini sağlayan Luteinleştirici hormon (LH)'dur (22, 25).

Overlerin yüzeyindeki germinal epitel gençlerde tek katlı kübik, ileri yaşlarda ise tek katlı yassı epitelden oluşur. Germinal epitel kolaylıkla döküldüğünden çoğu histolojik preparatlarda ya bir bölümü görülür ya da hiç görülmez. Ultrastrüktürel olarak incelendiğinde bu germinal epitel peritona benzer. Germinal epitel hücrelerinde glikojen, epidermal büyüme faktörleri, mukopolisakkaritler, progesteron ve östrojen reseptörleri bulunur (18, 26-30).

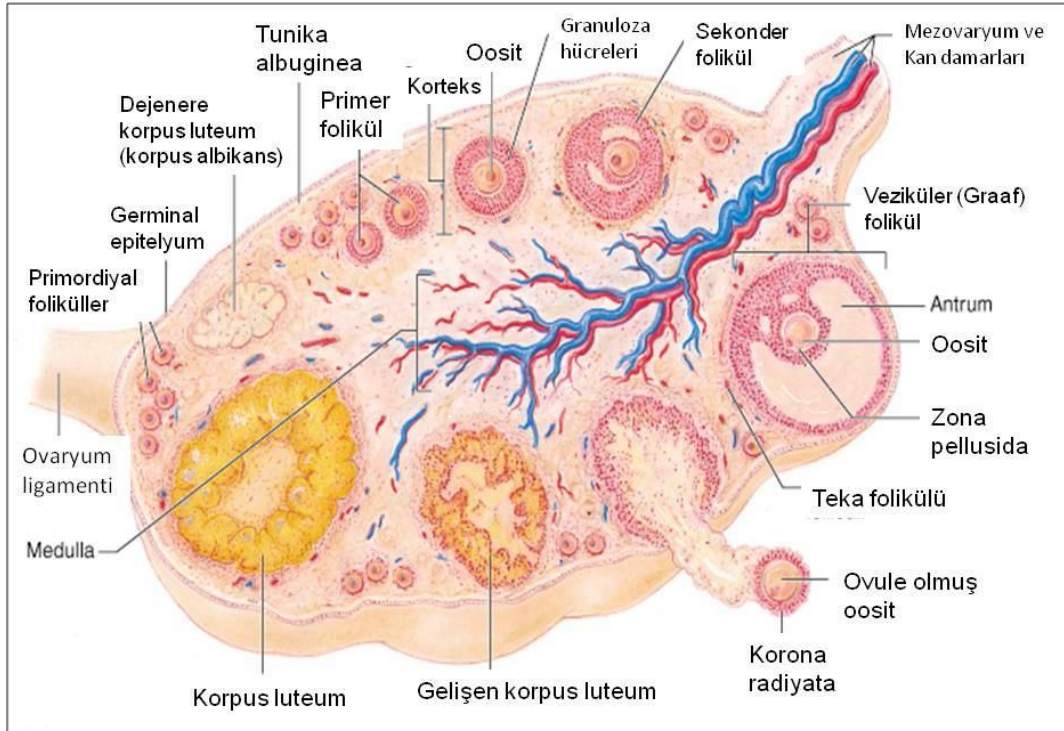
Germinal epitel içinde bulunan germinal kök hücreleri, büyük, oval şekilli ve mitotik olarak aktiftir ve ayrıca oosit ve onu çevreleyen granüloza hücrelerinin bipotent kaynağıdır (31, 32).

Germinal epitelin hemen altında zayıf olarak damarlanmış, kollajen fibrilleri over yüzeyine paralel yerleşen ve yoğun, düzensiz bağ dokusu olan tunika albuginea bulunur. Makroskopik olarak, overlerin pembemsi-gri renkte görünmesi bu tabakadan dolayıdır. Tunika albuginea ileri yaşlarda gençlere göre daha kalındır (26, 28, 30, 33, 34) Over kesitlerinde dışta korteks (substantia corticalis), içte medulla (substantia medullaris) görülür. Bu iki tabaka arasında kesin bir sınır yoktur (26-28, 33, 35) .

Overin korteksinde gelişimin farklı evrelerinde olan foliküller izlenir. Kortekste puberteden önce sadece primordiyal foliküller, puberteden sonra ise primer, sekonder ve antral foliküller bulunur. Kortekste cinsel olgunluk döneminde bu foliküllerden başka korpus luteum ve atretik foliküller de bulunur. Menopoz ile

birlikte foliküllerin sayısı oldukça azalır (29, 34, 36, 37). Kortekste foliküller arasında yer alan gevşek bağ dokusunda, çok sayıda bağ dokusu hücreleri, kollajen ve retikulum lifleri bulunur. Elastik liflere germinal epitelin hemen altında ve kan damarlarının çevresinde rastlanır (26, 29, 34, 35).

Over medullasında kollajen lif demetleri, elastik lif ağları, büyük kan damarları, lenf damarları, sinir demetleri ve düz kas lifleri bulunur ve gevşek fibroelastik bağ dokusu yapısındadır. Elastik ve kollajen liflerin sayısı medullada kortekse göre fazladır. Bunların yanında medullada interstisyel ve hilus hücreleri de bulunur. Foliküllerin atreziye uğramasından sonra teka interna hücreleri tek tek ya da gruplar halinde kalır ve interstisyel hücreler ya da bezler oluşur. İnsanda menstruasyondan önce bazı interstisyel hücreleri östrojen veya progesteron salgılar. İlk menstruasyonda interstisyel hücrelerin çoğunluğu involusyona uğrar ve fonksiyonları azalır. Hilus hücreleri ise testisin Leydig hücrelerine benzer organel yapısında olup, lipid bakımından zengin ve Reinke kristallerine benzer yapılar hücre içinde bulundurur. Hilus hücrelerinden steroid hormon olarak androjen salgılanır (18, 26, 28, 29, 34, 35)

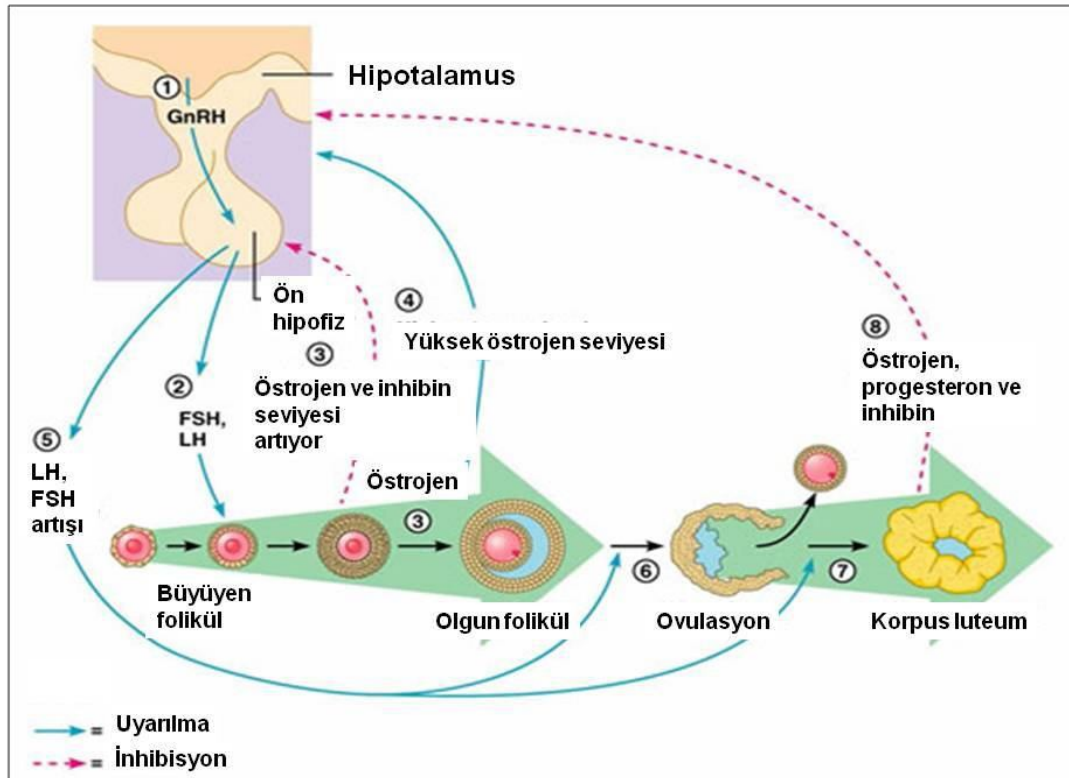


Şekil 2. Ovaryumun histolojisi (38)

1.1.1.1.3. Folliküler Gelişim (Follikülogenez)

Follikülogenez overin korteks tabakasında meydana gelir. Overlerin farklılaşmasının ardından dişi germ hücreleri fetal dönemde oogonia adını alır. Bu hücreler insanda her bir overde yaklaşık 500.000 primordiyal follikülün bulunduğu bir rezerv meydana getirecek şekilde mitoz bölünme ile çoğalır (39).

Follikülogenez, büyüyen follikül havuzundan primordiyal follikülün seçilmesi ile başlayan ve ovulasyon veya atrezi ile biten bir süreçtir. Birinci faz, oositin büyümesi ve farklılaşması ile karakterizedir ve preantral follikül veya gonadotropinden bağımsız faz denir. Preantral faz, otokrin ve parakrin mekanizmalar ile lokal olarak sentezlenen büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir. İkinci faza, antral veya gonadotropin bağımlı faz denir ve burada follikülün boyutunda oldukça fazla bir artış meydana geldiği görülür. Gonadotropin bağımlı faz ise FSH (Folikül Uyarıcı Hormon) ve LH (Lüteinleştirici Hormon) ile büyüme faktörleri ile kontrol edilmektedir (40).



Şekil 3. Folliküler gelişim (Follikülogenez) (41)

Folikülogenez over korteksinde meydana gelmektedir. Folikülogenez, hücre proliferasyonu ve farklılaşması nedeni ile üst düzey bir organizasyon niteliğindedir. Folikülogenezin dört büyük gelişim evresi vardır:

1. Primordiyal follikül seçilimi,
2. Preantral follikül gelişimi,
3. Antral (Graaf) follikül gelişimi ve seçimi,
4. Follikül atrezisi (40)

1.1.1.1.4. Primordiyal Follikül Seçilimi (Primordiyal Follikülden Primer Folliküle Geçiş)

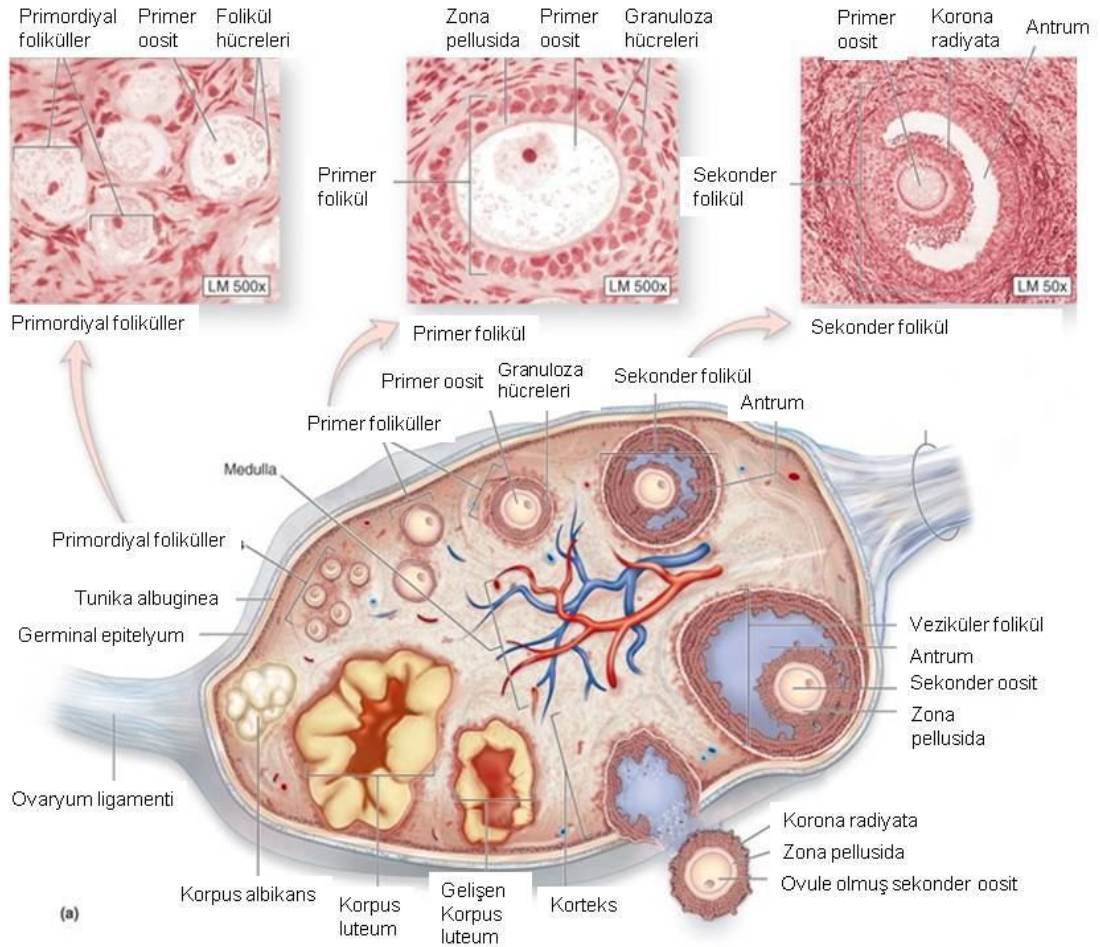
Overin temel reproduktif birimleri primordiyal folliküllerdir. Çünkü tüm dominant folliküllerin dolayısıyla da menstrüel siklusların kaynağını oluşturmaktadır.

Gelişim sırasında duraklamış olan primordiyal follikülün büyüyen folliküllerin olduğu havuza girmesi, seçim veya primordiyal follikülden primer folliküle geçişi olarak isimlendirilir.

Mayozun profaz I evresinde duraklayan primer oositin etrafını tek katlı yassı follikül hücreleri çevreleyip bazal lamina ile birlikte primordiyal follikülleri meydana getirir.

Oosit ve follikül hücreleri, bazal lamina sayesinde mikroçevre ile direkt olarak temas etmezler. Bağımsız bir kanlanmaları olmadığından primordiyal folliküller endokrin sistemden daha sınırlı olarak etkilenirler (40).

Folikül seçiliminin histolojik göstergesi olarak, follikül hücrelerinin mitotik fonksiyon kazanması ve şekillerini yassı epitelden küboidal epitele dönüştürmeleri gösterilir (Şekil 4). Bunu gen aktivasyonu ve oositin gelişimi izler. Memelilerde seçim pozitif veya negatif yönde etkileyen faktörler teka hücresi kaynaklı Bone Morphogenic Protein (BMP-7), granuloza hücresi kaynaklı kit-ligant ve yüksek pitüiter FSH düzeyi gibi aktivatörler ve Müllerian Inhibition Substance (MIS) gibi inhibitörlerdir. Kadında follikül seçiliminin nasıl kontrol edildiği ile ilgili henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır (40).



Şekil 4. Primordiyal, primer ve sekonder follükülün morfolojik görünümü (42)

1.1.1.1.6. Primer Follükül

Primer follükül, primer oosit ve onun etrafında dizilen tek katlı küboidal follükül hücrelerinden oluşur. Primer follükülde FSH reseptörü ekspresyonu ve oosit büyümesi ve farklılaşması gibi major olaylar meydana gelir. Primer follükül unilaminar ve multilaminar olmak üzere ikiye ayrılır. Unilaminar primer follükülde, oosit etrafında tek sıralı follükül hücreleri bulunurken, multilaminar primer follükülde, follükül hücreleri oosit etrafında en az 2 ve daha fazla sayıda sıra meydana getirirler (40).

1.1.1.1.7. Sekonder Follükül

Preantral follükül gelişimi sırasında follükülün yapısı değişmeye başlar. Sekonder follükül gelişimi sırasında büyük değişiklikler gözlenir. Granuloza hücresi, sayıca artış gösteren follükül hücrelerine denir. Sekonder follükülün oluşumu ile bazal lamina çevresinde stroma hücresi benzeri, teka hücresi adı verilen hücreler meydana gelir. Otokrin ve parakrin etki gösteren ve oosit tarafından üretilen büyüme faktörleri

primer follikülden tam gelişmiş bir sekonder follikül gelişiminde etkilidir. Sekonder follikülün gelişiminin devam etmesi ile teka interna ve teka eksterna olarak adlandırılan iki primer teka tabakası meydana gelir. Teka internanın hücreleri tamamen farklılaşmış granuloza hücre tabakasına taşınan bir steroid hormon olan androstenedionu üretirler. FSH hormonu etkisi ile granuloza hücreleri de androstenedionu östrojene çeviren aromataz enzimini sentez ederler. Follikülü saran stromaya dönen östrojen, kan damarları ile kana geçerek tüm vücuda yayılır. Teka eksterna ise, teka internanın çevresinde organize olan fibroblast katmanlarından meydana gelir. Her iki teka tabakası arasında kesin bir sınır bulunmaz (43). İçteki teka interna tabakası interstisyel hücrelere ve teka eksterna tabakası düz kas hücrelerine dönüşür. Çok sayıda küçük damar yapıları da anjiyogenez yolu ile teka tabakalarının gelişmesi ile gelişir. Bu sayede; follikül çevresi kan dolaşımı başlar ve gonadotropinlerin ve besinlerin buraya taşınması, atıklar ve sekrete edilen maddelerin buradan uzaklaştırılması sağlanır (40, 43) (Şekil 4).

Preantral gelişim süresince oosit genomu tekrardan aktive olur ve oosit büyümeye başlar. Bazı oosit mRNA'larının genetik okunması ile meydana gelen proteinler oositin büyüme ve farklılaşmasında etkilidirler. Örneğin zona pellusida (ZP) proteinlerini kodlayan ZP-1, ZP-2, ZP-3 ve ZP-4 genlerinin aktivasyonu ile sekrete edilen ZP proteinleri, oositi korumak için etrafında bir tabaka meydana getirirler (39).

1.1.1.1.8. Antral (Graaf) Follikül

Folliküler gelişim devam ederken, FSH hormonu salgılanması sonucu, granuloza hücrelerinin sayısı ve büyüklüğünde artış meydana gelir. Bu sırada follikül içerisinde granuloza hücreleri arasında oluşan boşluklarda hyaluronik asitten zengin bir sıvı birikmeye başlar. Bu aşamadaki folliküle preantral follikül adı verilir. Bu biriken sıvı arttıkça follikül içerisinde birbirleriyle birleşerek sıvı dolu büyük bir boşluk meydana getirir. Bu boşluğa antrum ve bu dönemde büyüyen folliküle de antral follikül adı verilir. Oosit, folliküler kavite içerisinde kumulus hücreleri adı verilen bir miktar hücre ile birlikte kumulus ooforus adı verilen bir yapı meydana getirir. Oositin çevresinde bulunun tek sıralı prizmatik hücrelere korona radyata denir.

Olgunlaşma aşamasındaki folliküle tersiyer veya graaf follikül denir. Teka interna tabakası, graaf follikülünü çevreler, kan damarı bakımından zengindir ve steroid salgısı yapar. Teka eksterna tabakası ise ovaryan stroma ile yakın ilişkidir ve destek görevi görür (39, 40) (Şekil 4).

1.1.1.1.9. Folikül Atrezisi

Foliküler atrezi, gelişiminin herhangi bir döneminde, gelişmekte olan bir follikülün, sağlıklı yapısını kaybederek gelişimini durdurmasıdır. Oosit ve granuloza hücrelerinde apoptozun aktive olması atreziye temel olandır. FSH'nin apoptozu önlemedeki öneminden dolayı FSH'nin folikülün yaşamasını sağlayıcı faktör olduğu düşüncesi vardır. Memelilerde folliküllerin %99'u atreziye uğrar. Atreziyi yöneten mekanizma ya da mekanizmalar günümüzde halen tam olarak anlaşılamamıştır (40).

1.1.1.1.10. Ovulasyon

Ovulasyon, gelişimini tamamlamış olgun bir oositin overlerden atılmasıdır. Memelilerde puberteden menopoza kadar süren siklik bir süreçtir. İnsanda menstrüasyonun başlangıcından itibaren 13-14. günlerinde ovulasyon olur. Her bir overden bir oosit atılıp, ortalama her 28 günde bir tekrar eden bu olaya ovarian siklus adı verilir. Overlerde her ay 7 ile 12 follikül gelişmeye başlar, fakat diğer folliküller atreziye uğrarken sadece biri dominant follikül olarak seçilerek tam olgunluğa ulaşır. Dominant follikül, menstrual siklusun foliküler fazı süresince östrojen salgılar ve ovulasyondan sonra siklusun luteal fazı boyunca progesteron sentezinden sorumlu olan korpus luteuma dönüşür. Uterus üzerinde, embriyonun implantasyonu için östrojen ve progesteron etkilidir (39).

1.1.1.1.11. Oogenez

Gelişmekte olan follikül, preantral dönemden ovulasyon öncesi döneme FSH hormonunun etkisiyle geçer. Menstrual siklusun ortasına denk gelen geç folliküler dönemde, luteinleştirici hormonun (LH) ovulasyondan hemen önce pik yapması ile oositte germinal vezikül yıkılır. (Germinal Vesicle Break Down (GVBD)). Oositte, kromozomlar metafaz I evresinden telofaz I evresine geçerek, ovulasyondan hemen önce 1. mayoz bölünme olur. 1. mayoz bölünme sonucu kromatin iki kardeş hücre arasında eşit olarak dağılırken, hücrelerden biri hemen hemen tüm sitoplazmaya sahip büyük bir hücre olarak kalırken, diğeri zona pellusida ile oosit arasındaki perivitellin aralıkta küçük bir hücre olarak kalır ve buna 1. kutup cisimciği ya da 1.

polar cisimcik denir. Oosit de sekonder oosit olarak isimlendirilir ve sekonder oosit haploid kromozoma sahiptir. Bu olaylar sonucu çekirdek 2.mayoz bölünme evresine girer. Fertilizasyon gerçekleşirken spermin oosite girmesi ile oosit 2.mayoz bölünmesini tamamlar ve 2. kutup cisimciği atılır. Ovulasyon ile atılan oosit metafaz II (MII) oosit ya da olgun oosit olarak adlandırılır (39).

1.1.1.1.12. Korpus Luteum

Ovulasyonun ardından, folikül duvarında kalan teka interna ve granuloza hücreleri vaskülarize olurlar. Bu hücreler LH etkisi ile luteal hücrelere dönüşerek teka lutein ve granuloza lutein hücreleri olarak adlandırılır. Oluşan bu yapı progesteron salgılanmasından sorumludur ve korpus luteum adını verilir. Endometriyum, ovulasyondan önce folliküllerden salgılanan östrojenin etkisi ile proliferasyon görülür, ovulasyondan sonra salgılanan progesteronun etkisi ile sekretuar faza geçerek implantasyona hazır hale gelir. Eğer fertilizasyon oluşmazsa korpus luteum dejenere olur, fibrotik bir doku olan korpus albicans oluşur ve progesteron salgılanmasının azalması ile implantasyon için hazırlanan endometriyum menstrual kanama ile dökülür (menstruasyon). Fertilizasyonun olması durumunda ise gelişen embriyodaki trofoblast hücrelerinin salgıladığı hCG (Human Chorionic Gonadotrophin) hormonunun etkisi ile korpus luteum dejenere olmaz ve gelişimini sürdürerek gebelik korpus luteumuna dönüşür (40).

1.1.1.1.13. Over Rezervi

Over rezervinde, doğumdan itibaren yaşla beraber azalma olmakta, oosit kalitesinde de 35 yaşından itibaren bozulma olmaktadır. Bu rezerv azalmasının mekanizması tam anlamıyla bilinmemektedir. Fakat folikülü atreziye götüren nedenlerin, hormonal dengesizlik ve çevresel faktörler nedeniyle oluşan oksidatif hasar olduğu düşünülmektedir. Zarar gören yaşlı oositin hücre siklusu bozulmakta, mayotik ayrılmama, anoploid oositler, mozaisizm ve gebelik kayıpları meydana gelmektedir (44).

Over rezervinde azalma, infertilitenin giderek artan önemli bir nedenidir. Over rezervi ile over dokusunda follikülogenez ve steroidogenez fonksiyonlarını yerine getirecek folliküllerin sayısı, kalitesi ve yeterliliği tanımlanır. Over rezervinde azalma, kadının yaşı ilerledikçe primordiyal folliküllerin apoptoz ile kaybına bağlı olarak görülür. Aslında intrauterin dönemde, 20. gebelik haftasından itibaren over

rezervinde azalma başlar. Bu döneme kadar hızlı mitoz ile çoğalan oogoniaların çoğalması durmakta, daha sonra sayılarında azalma olmakta, yenidoğan döneminde 1-2 milyona, puberte başlangıcında 300-400 bin civarına düşmektedir. Follikülün ovulasyona gidişinin farklı dönemlerinde, bunların arasından her ay yaklaşık olarak 1000 tanesi atreziye uğramaktadır. Fakat oositlerin kayıp hızı popülasyonlara göre değişkenlik gösterir ve bu nedenle overin biyolojik yaşı kronolojik yaşını yansıtmayabilir. Oositlerin prematür kaybı için risk faktörü taşımayan ve menstruel siklusları düzenli olan çoğu kadında over rezervinde azalma görülebilir (45, 46). Geç yaşta çocuk sahibi olma, kadının üretkenliğinde azalmaya neden olmaktadır. Overin yaşlanması da over rezervinde azalmada önemlidir. Sonunda primordiyal folliküller azalmakta, oosit kalitesi bozulmakta, implantasyon oranı azalmakta, embriyoda kromozomal anomali oranı ve bunun sonucunda abort oranında da artışlar olmaktadır. İnfertilite tedavisine başlanmadan over rezervinin bir tarama testi ile önceden değerlendirilmesi bu nedenlerle önemlidir (47).

Birçok teori prematür over yetmezliği etyolojisinde ortaya atılmıştır. Bunlardan bazıları bozulmuş anjiogenesis, granüloza hücrelerine karşı oluşan otoantikörler, patolojik apoptotik aktivite, otokrin ve parakrin faktörlerin etkisidir. Ayrıca genetik temel ve ailesel yatkınlıkta önemlidir. Yapısal ve sayısal kromozomal anomali görülme sıklığı gerçekten prematür over yetmezliği olanlarda artmıştır (44).

Over rezervini etkileyen başlıca parametreler şunlardır:

1. Yaş
2. Geçirilmiş over cerrahisi
3. Şiddetli endometriosis
4. Obesite
5. Sigara içimi
6. Çevresel Faktörler (Oksidatif Hasar)
7. Anatomik bozukluklar (adezyon gibi)
8. Latent veya prematür over yetmezliği
9. Daha önce yardımcı üreme tekniklerine kötü yanıt

1.1.1.1.14. Over rezervini belirlemek için kullanılan testler;

Statik testler:

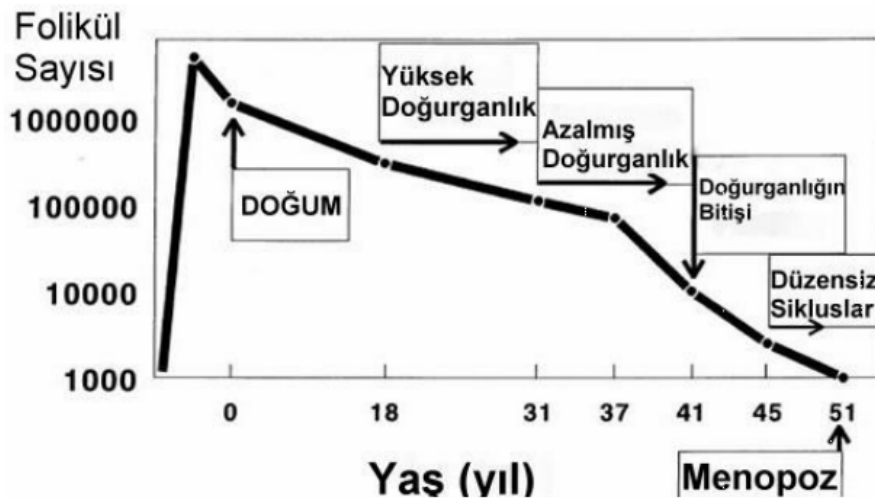
- Kadın Yaşı
- Bazal serum FSH
- Bazal serum östradiol
- Bazal serum inhibin-B
- Bazal serum AMH
- Bazal ovarian volüm
- Bazal antral follikül sayımı
- Ovarian stromal kan akımı
- Ovarian biopsi

Dinamik testler:

- Klomifen sitrat challenge test (CCCT)
- GnRH agonist stimülasyon test (GAST)
- Egzojen FSH ovaryan rezerv test (EFORT)

Yaş:

Over rezervinde yaşla birlikte azalma olmasına rağmen biyolojik yaş, kronolojik yaştan daha önemlidir (48). Yaş, over rezervi için kesin bir epidemiyolojik tahmin yöntemi değilse de, spontan ya da yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebeliklerin prognozunu da önemlidir (48).



Şekil 5. Yaşla azalan follikül havuzu (49).

Şekil 5’de fertilite durumu belirtilerek yaşa bağlı azalan follikül oranları bulunmaktadır (49). Menopoz’un başlama yaşı 40 ile 60 yaşları arasındadır. Yapılan bir çalışmaya göre ortalama perimenopoz yaşı 47.5 ve ortalama menopoz yaşı 51.3 olduğu görülmüştür (50).

Serum FSH:

Gonadotropik bir hormon olan FSH, over folliküllerinin gelişimini uyarır. Over rezervinin azalması ile folliküler gelişim bozulmakta ve bunun sonucu olarak kan FSH düzeyi artmaktadır. Siklusun 2 veya 3. günlerinde ölçülen FSH değeri 12 mIU/ml ve üstünde ise overin ovulasyon indüksiyonu veya kontrollü ovaryan hipertimulasyona yanıtı zayıf olacaktır. Bu üst sınır değişebileceği gibi en yüksek değer 25 mIU/ml kabul edilmektedir. FSH değerinde sikluslar arasında dalgalanmalar olmaktadır, bununla beraber en az bir kez yüksek bulunması zayıf over rezervi yönünden anlamlıdır (51, 52).

Serum E2:

Fertilite potansiyelini önceden belirlemek için bazal FSH veya kronolojik yaşın tek başına kullanımına göre bazal E2 ölçümü daha etkin olabilir (53). 38-42 yaşları arasındaki, normal FSH düzeyleri olan kadınlarda siklusun 3. günü E2’nin <80 pg/ml olması, iyi prognozu gösterir (54) Folliküler E2 düzeyinin erken dönemde artışı, azalmış ovaryan cevapla ilişkili bulunmuştur (55).

Serum İnhibin-B

İnhibinler, dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β) süperalesinin glikoprotein içerikli bir üyesidir. Granüloza ve teka hücrelerinden salınarak hipofiz bezinin FSH sekresyonunu inhibe etmektedirler. İnhibin B, gelişmekte olan foliküller üzerinde parakrin etkiyle bunu gerçekleştirmektedir. İnhibin B foliküller fazda, İnhibin A ise daha çok luteal fazda salgılanmaktadır (56).

Serum inhibin B konsantrasyonu normal ovulatar sikluslarda FSH konsantrasyonu ile ters ilişkilidir. Foliküler fazın ortasına kadar artar, ardından progressif bir düşüş gösterir. LH pikinden sonraki kısa bir artış dışında luteal faz süresince bu düşük konsantrasyonlarda seyrederek (57). İnhibin B düzeyi ilerleyen yaş ve azalan over rezervi ile paralel olarak azalmaktadır.

İnhibin B ölçümünde kullanılan farklı analiz yöntemleri mevcuttur. Laboratuvarların kendi sınırlarına bağlı olarak üçüncü gün incelemesinde İnhibin-B

düzeıı 45 pg/ml ve altında saptanan olgularda gebelik oranlarının düşük, tedavinin iptali riskinin ise yüksek olduğu gösterilmiştir (58, 59)

Antimüllerian Hormon (MIF)

Antimüllerian Hormon (Müllerian İnhibing Faktör), 72 kDa ağırlığında, dimerik bir glikoproteindir. Disülfid bağlarıyla bağlanmış iki monomerdan meydana gelir (60). AMH; Transforming Growth Faktör-B ailesinin bir üyesidir ve inhibin, aktivin glikoproteinleri de burada yer alır (61). Bunlar, doku büyümesi ve farklılaşmasında etkili olurlar (62). AMH, kadında overin granüloza hücrelerinden, erkekte ise testisin sertoli hücrelerinden salgılanır. Erkek fetusun gelişiminde Müllerian kanalların gerileyip normal erkek üreme sisteminin gelişmesini sağlar. Sertoli hücrelerinde AMH sekresyonu embriyogenezis ile başlar ömür boyu sürer (61, 63).

Kadında serum AMH seviyeleri erkeğe göre daha düşüktür. AMH'nın kan değerleri 2-5 ng/ml arasındadır. Puberteden sonra menstrüel siklusla birlikte sirkülasyondaki AMH seviyeleri giderek azalır ve menopozda izlenmez (61). AMH, klinik çalışmalarda over rezervinin değerlendirilmesinde, granuloza hücreli tümörlerin tespitinde ve takibinde, puberta prekoks ve gecikmiş pubertanın tanınmasında, kriptoorşit ve anorşit tanısında, her yaşta erkek gonad fonksiyonunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (61, 64).

Bazal over volumünün ölçülmesi (OOV)

Sık kullanılan transvajinal ultrasonografi ile over volum ölçümünün kolay, ucuz, doğru olarak yapılabilmesi, over rezervini belirlemek için bu yöntemin kullanımını hızla artırmıştır (65). Over volumü ölçümü: Overin antero-posterior, longitudinal ve transvers olarak üç plan boyutları transvajinal proba ölçülüp $V = D1 \times D2 \times D3 \times 0.523$ elipsoid formülü ile over volümü hesaplanıp, her iki overin aritmetik ortalaması alınıp ölçülebilir (65).

Over volumü kadın hayatı süresince değişiklikler gösterir. Over volümü 10 yaşında $0,7 \text{ cm}^3$, 18 yaşında 5 cm^3 'tür. Ortalama over volumünün 35 yaş üzeri kadınlarda, 35 yaş altı kadınlara göre anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur (66).

Bazal antral follikül sayımı (AFS)

Bazal antral follikül sayımı, her iki overdeki antral foliküller (2-9 mm) erken foliküler dönemde sayılarak elde edilir. IVF programlarında gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonuna başlamadan önce, siklus iptal oranlarını ve ovaryan cevabı tahmin etmede non-invazif ve kolay uygulanabilen bir yöntem olarak bildirilmiştir. Reuss ve ark. (67) tarafından antral follikül sayısında yaşa bağlı azalma meydana geldiği gösterilmiştir.

Antral Follikül Sayımı <3 olan hastalarda serum FSH daha yüksek seviyede bulunmuş, Oİ için daha yüksek doz ekzojen gonadotropin verilmek zorunda kalınmasına rağmen gebelik elde edilememiştir (68).

Ovarian stromal kan akımı

Genel populasyon üç boyutlu power doppler ultrasonografi ile incelendiğinde artan yaşla birlikte overin stromal vaskülaritesinde azalma meydana geldiği gösterilmiştir (69).

Ovaryan Biyopsi

Yapılan çalışmada folikül sayısı ile artan yaş arasında negatif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir (70).

Overyan biopsinin over rezervi değerlendirilmesinde yeri; invazif bir işlem olması, işlemin kendisinin ileri de fertiliteye olumsuz etkisinin olabileceği ayrıca fertilitayı sağlayacak eşik follikül değerinin bilinmemesi gibi nedenlerden terk edilmiştir.

Klomifen Sitrat Challenge Testi (CCCT)

Klomifen Sitrat Testi (CCCT)'de, siklusun 3. günü FSH ve E2 ölçümü yapılır, 5-9 günlerde ise klomifen sitrat 100 mg/gün uygulanır, 10. günde ölçülen FSH değerinin bazal değerlere göre artmış olması, E2 değerlerinde ise anlamlı bir artış olmaması zayıf over rezervini gösterir. 10. gün ölçülen FSH değeri ≥ 26 mIU/ml ise, gebelik oranı %0 'dır (71). Normal over rezervi olan kadınlarda, klomifen sitrat tarafından indüklenen FSH artışı, foliküllerden salınan E2 ve inhibin-B tarafından sınırlandırılır. Bu test, sadece bazal FSH ölçümleri ile tanımlanamayan azalmış over rezervli kadınları ortaya çıkarır (48, 72).

GnRH Analöğü Stimölasyon Testi (GAST)

GnRH Analöğü Stimölasyon Testi (GAST) GnRH analöğü verilmesini takiben ilk 4-6. günü içinde FSH, LH ve bunlara bağlı olarak E2 artışı meydana gelir. Siklusun 2. günü 1 mg leuprolide asetat sc uygulanarak 3. gün E2 seviyelerine bakılır (73). Buna flare etki denmektedir. Uygulama zorluğu ve pahalı bir test olmasından dolayı pratikte pek uygulanmamaktadır. Dört farklı E2 paterni izlenebilir. Hızlı E2 yükselmesi ve 4. günü azalma, gecikmiş E2 yükselmesi ve 6. gün düşme, persistan E2 yükselmesi, E2 cevabı olmaması (44).

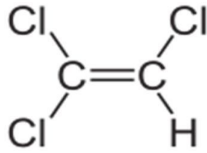
Bu gruplarda klinik gebelik oranları oldukça farklıdır, sırasıyla % 46, % 38, %16 ve % 6 (74).

Gonadotropin Stimölasyonuna Cevap Testi (EFORT)

Gonadotropin Stimölasyonuna Cevap Testi (EFORT) (Exogenous FSH Ovarian Reserve Test/ Eksojen FSH Ovarian Rezerv Testi), IVF sikluslarında iyi ve düşük cevablı hastaların saptanması için geliştirilen bir tarama testidir (75). Siklusun 3. günü 300 IU FSH intramüsküler uygulanır. Önce ve 24 saat sonra E2, FSH değerlerine bakılır, artış oranları sırası ile > 25-30 pg/ml, <9 mIU/ml olursa iyi cevap olarak değerlendirilir (52).

1.2.Trichloroethylene

1.2.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikler



Şekil 6. TCE'nin kimyasal yapı formülü

- Ticari Adı : Trichloroethylene (TCE)
- Kimyasal Formülü : C₂HCl₃
- Açık Formülü : ClC=CHCl
- Görüntü : Sıvı
- Renk : Renksiz
- Koku : Tatlımsı
- Yoğunluk (su=1) : 1.46 gr/ml
- Buhar yoğunluğu (hava=1) : 4.53 mg/m³
- Buhar basıncı : 60 mmHg/20 °C

- Donma noktası : -87 °C
- Kaynama noktası : 87 °C
- Suda çözünebilirlik : 0.1 %wt (25 °C)
- Yanma (parlama) noktası : yok (76)

Trichloroethylene, primer olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılan klorinli bir hidrokarbondur (77).

Lipofilik karakteri ve düşük kaynama noktası TCE'yi kuru temizleme ve metali yağdan arındırma gibi endüstriyel işlemler için ideal hale getirmiştir (78) İnsanlar TCE'ye metal indirgeme sırasındaki buharlaşma ile veya TCE bulaşmış suların kullanımı ile de maruz kalabilirler (1).

Bir çözücü olarak (örneğin; bilgisayar çiplerini ve elektronik aletleri temizlemek için) kullanılan TCE endüstride metalleri indirgeyen bir ajan olarakda kullanılmaktadır. TCE, 9295 içme suyu raporunun %25'inde saptanmıştır. International Agency for Research on Cancer, 1995 (IARC) ve ABD'de en fazla rapor edilen organik bir bileşik olan TCE ile içme suyu kaynaklarının % 34'ünden fazlası kontaminedir (79).

Trichloroethylene; leke çıkarıcılarında, ahşap boyama ürünleri, yüzey yapıştırıcılarında, parke temizleme solüsyonlarında bulunduğundan aynı zamanda ev içinde de maruz kaldığımız zararlı bir maddedir (1).

Trichloroethylene, sıklıkla mesleki olarak ipek üretimi, hayvan doldurma ve elektronik temizlik gibi durumlarla TCE'ye maruz kalan kişilerde yüksek seviyelerde tespit edilmektedir. Genel popülasyonda ise çevresel havayı soluma, içilen suyla sindirimde veya transdermal absorpsiyon yoluyla maruz kaldığından daha düşük seviyede TCE'ye sahiptir. TCE içeren ticari ürünler düşük seviyedeki bu TCE'nin popülasyonda daha orta seviyeye çıkmasına katkıda bulunabilir (1) ABD'de kentsel alanlarda kırsal alanlara göre 3 kat daha fazla saptanmıştır (80). 3 milyonun üzerinde bireyin her yıl mesleki ve çevresel kaynaklı olarak TCE'ye maruz kaldığı tahmin edilmektedir (81).

Trichloroethylene normal şartlarda doğada bulunmamakla birlikte atık ürün şeklinde zararlı, çevresel bir toksin olarak ortaya çıkmaktadır. TCE'nin parçalanma oranı TCE'nin fiziksel durumuna bağlı olarak çevrede değişiklik gösterir ve yarı ömrü konsantrasyonuna bağlı olarak yeraltı sularında 10.7 ay ile 4.5 yıl arasında

değişmektedir (1). Su yüzeyinden TCE'nin buharlaşması havada TCE buharı üretimine neden olur, bu da yaklaşık 7 günlük bir yarı ömre sahiptir (82).

Trikloroetilen ayrıca Triklen ve Vitran gibi sanayide diğer ticari isimleri ile bilinir. Yanıcı olmayan, biraz tatlı bir kokusu olan ve oda sıcaklığında renksiz bir sıvıdır. Havanın milyonda birinde trikloroetilenin yaklaşık 100 ppm olduğunda çoğu kişi havada trikloretilen kokusu almaya başlayabilir.

Trikloretilenin 1 ppm'den daha az düzeyleri açık havada bulunmaktadır. Birkaç yıl önce yapılan ölçümlerde, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki bazı su kaynaklarında trikloretilen olduğu bulunmuştur. En son yapılan monitorizasyon çalışmasında; su yüzeyindeki ortalama seviyeleri 0.0001'dan 0.001 ppm'e kadar ve yeraltı suyundaki ortalama düzeylerini 0.007 ppm kadar buldu. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 400.000 işçi rutin olarak trikloroetilene maruz kalmaktadır. Kimyasal ayrıca birçok yol ile hava ve suya karışabilir, örneğin; atık arıtma tesislerinde boyaların, yapıştırıcıların ve diğer ürünlerin buharlaşması ile ya da yapıldığı yerdeki fabrikalardan salınması sonucu karışabilir. Maruz kalabileceğiniz başka bir yol ise kimyasalı kullanan fabrikaların çevresindeki havayı solumaktır. Tehlikeli atık sahalarının yakınlarında yaşayan insanlar; banyo veya yemek yapmak için kullandıkları sularda, içme sularında ya da havada trikloretilene maruz kalabilirler. İçerisinde trikloretilen içerebilen ürünler: bazı daktilo düzeltme sıvıları, boya ve boya sökücüler, yapıştırıcılar, leke çıkarıcılar, halı temizleme sıvıları ve metal temizleyicileridir (81).

Yüksek kan/gaz değişiminden dolayı inhalasyon yolu ile maruziyetten sonra TCE alveolar endotelden büyük oranda absorbe edilir. Kan/gaz değişiminin katsayıları farkı, türler arasında anlamlıdır. İnsanlardaki kan/gaz değişimi katsayıları fare ve sıçanlardan daha düşüktür. Bu durum TCE'nin dolaşım sisteminden hedef organlara iletilmesinin insanlarda kemirgenlere oranla daha düşük olduğunu gösterir. TCE buharına maruz kalınması ile oluşan dermal emilim önemsiz olmasına rağmen sıvı TCE'nin doğrudan dermal emilimi daha anlamlı olabilir. İnsanlarda TCE; büyük oranda dermal yoldan emildiğinde akciğerlerden değişmeden atılır ve bu yol TCE'ye maruziyetin genel yolu değildir. TCE buharının dermal yoldan emilimi risk yönetim analizlerinde major yol olarak görülmez (83).

Dermal, solunum ve sindirim yolu ile absorbe edilen TCE'nin çoğu trikloroetanol ve trikloroasetik asite metabolize edilir ve böbreklerden üriner yolla itrah edilir. Yarılanma ömrü yaklaşık dört gündür. En sık mesleki maruziyet ile TCE buharına maruz kalınır ve bunun yaklaşık % 70'i sistemik olarak absorbe olur (84).

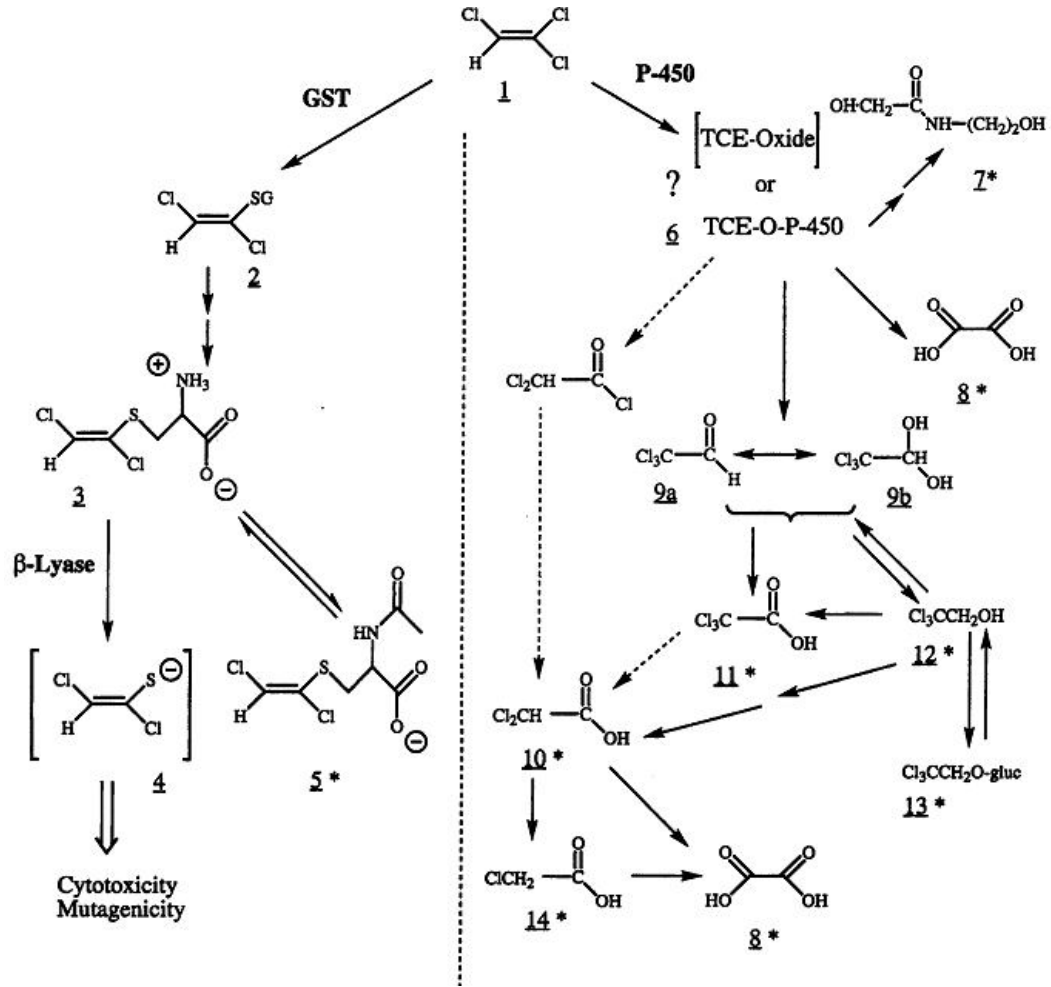
Kimyasal özelliklerinden uçuculuk ve lipofilite nedeni ile TCE biyolojik membranlardan hemen absorbe edilir. Maruziyet durumunda TCE akciğerlerden veya gastrointestinal sistemden hızlı ve büyük oranda absorbe edilir. Absorbe olan TCE daha sonra akciğerler, karaciğer, böbrekler ve sinir sistemi gibi hedef organlara dağılır (83).

Trikloretilene klor içeren bir çözücüdür ve birçok ülkede 1920'lerden beri etilen veya asetilenin klorlanması yoluyla ticari olarak üretilmiştir, yine aynı yıllarda buharı indirgeyici olarak kullanılmıştır. Kuru temizlemede kullanılması da 1930'larda olmuştur. Şu anda dünya çapında TCE'nin %80-90 kullanımı metallerin indirgenmesi içindir. TCE'nin 1990 yılında ABD'de tüm alanlarda kullanımı 225 bin tondur. TCE'ye en yoğun şekilde maruziyet, metal indirgenmesinde çalışıp inhalasyon yoluyla maruz kalanlarda olur (85).

1.2.2. Trikloretilenin Metabolizması

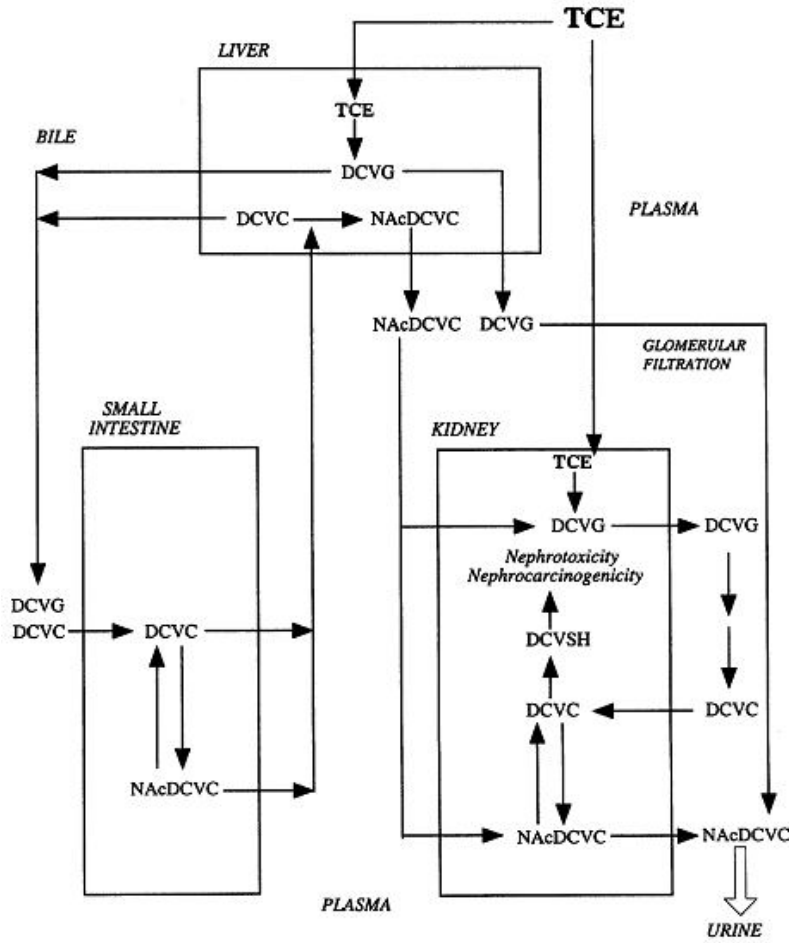
Her ne kadar diğer dokularda da metabolize olsa da TCE metabolizması primer olarak karaciğer ve böbreklerde oluşur. TCE metabolizmasından bilinen iki yolak sorumludur. Bunlar sitokrom P450 aracılı oksidasyon ve glutatyon ile konjugasyondur (43). Oksidatif yol yüksek afinitesi olan yoldur (86). Her iki yolakta da enzimler TCE'nin metabolizmasına katılırlar (43).

Trikloretilenin emilim ve dağılım farklılıklarını, TCE toksisitesinin metabolizmasını ve duyarlılık değişikliklerini açıklayabilen faktörler: cinsiyet, tür ve emilimdeki güçlükler olabilir. Duyarlılıktaki en büyük farklılık büyük olasılıkla cinsiyet, tür ve TCE'nin ve alt metabolitlerinin metabolizmasından sorumlu enzimlerin farklılıklarıdır. TCE metabolizması, sitokrom P450 aracılı oksidasyon ve glutatyon ile konjugasyon olmak üzere iki ana yolak üzerinden meydana gelir. TCE'nin sitokrom P450 oksidasyonundan türeyen metabolitlerinin kloralhidrat, trikloroasetat ve dikloroasetatin hedef organları karaciğer ve akciğerlerdir. TCE'nin glutatyon ile konjugasyonundan türeyen metabolitlerinin hedef organı sadece böbrek ile ilişkilidir (83).



Şekil 7. TCE metabolizmasının 2 yolağı: glutatyon ile konjugasyon, P450 bağımlı oksidasyon.

Metabolitler: 1=TCE; 2=DCVG(S-1, 2-diclorovinyl glutatione); 3=DCVC (S-1, 2-diclorovinyl-L-cystein); 4= 1, 2-diclorovinylthiol; 5=NAcDCVC (N-acetyl-S-1, 2-diclorovinyl-L-cysteine); 6=TCE-P450 veya TCE-oxide intermediate; 7=N-(hydroxyacetyl)-aminoethanol; 8=oxalic acid; 9a=chloral; 9b=chloral hydrate; 10=dichloroaceticacid; 11=trichloroacetic acid; 12=trichloroethanol; 13=trichloroethanol glucuronide; 14=monochloroacetic acid; GST=Glutatyon konjugasyon yolağı (83).



Şekil 8. TCE'nin glutatyon konjugasyonu yoluyla organlar arası süreci ve metabolizması (83).

1.2.3. Trikloretilenin biyolojik dokulara etkileri

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda gamet seviyesinde, TCE'nin erkek üremesi üzerine negatif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (5, 87).

Son epidemiyolojik çalışmalar TCE'nin de içinde olduğu klorlu çözücülere maruziyet ile azalmış semen konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal spermin artan yüzdeleri arasındaki ilişkiyi göstermiştir (88, 89).

Paternal TCE maruziyeti spontan düşüklerin riskinde artış, azalan implantasyon oranı, azalan fertilizasyon ve geç gebelik ile ilişkilendirilmiştir (88, 90-92)

Trikloretilenin oksidatif metabolizmasından sorumlu temel enzim sitokrom p450 2E1'dir (83, 93).

Sitokrom p450 2E1 aktivitesi sonuçları, ovaryum TCE metabolizması ya da TCE metabolitlerinin bulunmasını takiben oluşan oksidatif hasarın oosit döllenenmesinin azalmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (94, 95).

Yapılan çalışmalarda, bir dişinin yüksek seviyede TCE'ye maruziyetinden sonra in vivo olarak oosit döllenenmesini geçici olarak engelleyebileceğini göstermiştir. TCE gibi çevresel toksik maddelerin biyoaktivasyonu veya metabolizma tarafından rat overlerinde bulunması, in vivo tce maruziyetinden sonra rat oosit döllenebilmesini azaltmada önemli bir role sahip olabilir ve dişi gametleri üzerine toksik maddelerin etkisi için bir model olabilir (1).

Hem insan hem hayvan modellerinde çevresel bir kirlenici olan TCE maruziyetinin otoimmunitiyi indüklediği biliniyor (10). SLE, sistemik skleroz ve fasiitisi içeren otoimmün hastalıkların gelişmesinin TCE ile ilişkisi hem insan hem hayvan çalışmaları belgelenmiştir (12, 96).

Trikloretilenin farklı doku ve organlarda oksidatif strese bağlı hasar oluşumunu indüklediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (97, 98).

Trikloretilene, havanın ve yeraltı sularının sık rastlanan bir kirlenici olduğundan insan sağlığı üzerindeki potansiyel yan etkileriyle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. TCE kemirgenlerde kanserojendir ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Enstitüsü (IARC) tarafından insanlar için de olası bir kanser etkeni olarak kabul edilmektedir (2).

Trikloretilene, deney hayvanlarında hepatotoksik etkileri olan çevresel ve endüstriyel bir kirlenicidir (3). TCE, proteinlerin hidrolizi ile oluşan bir aminoasit olan sistein konjugatının reaktif metabolit üreten metabolizmasının artık ürünleri olan aminoasitler, nefrotoksikler ve nefrokarsinojeniteye yol açabilirler (83).

Zehirlenme semptomları; lokal olarak alındığı zaman konjunktivitis, dermatitise neden olabilir. Sindirim sistemi yolu ile alındığı zaman ağız ve yemek borusunda yanma, bulantı, kusma, karın ağrısı, baş ağrısı, vertigo, şuur kaybı, konvulsion ve paresteziye neden olabilir (99).

Buharını düşük miktarda solumak baş ağrısına, baş dönmesine, akciğer irritasyonuna, koordinasyon güçlüğüne, uzun süre solumak ise karaciğer, böbrek ve sinir hasarına neden olabilir. TCE'ye büyük oranlarda maruz kalınması ise; kalp fonksiyonlarının bozulmasına, bilinç kaybına veya ölüme yol açabilir.

Yüksek dozda TCE maruziyetinin; karaciğer, böbrek ve akciğer kanserlerine neden olabileceği fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (79).

Trikloretilenin akut ve kronik toksisitesinin klinik bulguları iyi bilinir ve birçok araştırma raporunda tarif edilmiştir fakat TCE'ye bağlı hipersensitivite sendromu nadir görülür. TCE'ye bağlı hipersensitivite sendromu gelişen hastaların tedavisinde, hastanın TCE ile maruziyeti kesilip glukokortikoid tedavisine başlanması gerekir (84).

Yapılan bazı çalışmalarda TCE ile kontamine olmuş içme suyu içilerek veya ortamdaki TCE ile kontamine olmuş hava solunarak uzun periyotlarda yüksek dozda TCE'ye maruz kalındığında kanser bulgularının arttığı gösterildi. TCE'ye maruz kalmış insanlarda yapılan çalışmalarda, TCE'nin insanlar üzerindeki bazı etkilerinin hayvanlar üzerindeki etkilerine benzer olduğu görülmüştür.

Trikloretilen için içme suyundaki maksimum kontaminasyon düzeyi Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency, EPA) tarafından litrede 0.005 miligram olarak saptandı. (0.005 mg/L). TCE'nin Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi (The Occupational Safety and Health Administration, OSHA) tarafından belirlenen güvenli maruziyet limiti 8 saatlik işgünü ve haftada 40 saat süresince 100 ppm'dir. (79).

1.3. D Vitamini

1.3.1. Tanım ve önemi

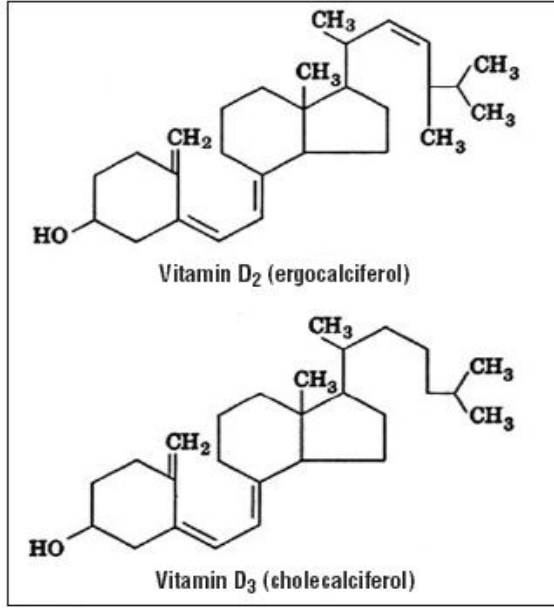
Vitaminler vücutta üretilmeyen ve besinlerle alınması zorunlu olan maddelere verilen ortak addır. Bu vitaminler içinde en önemlilerden biri vitamin D'dir (100).

Klasik bir vitaminden çok bir hormon olarak görev yapmaktadır. Çünkü güneş ışınlarının etkisiyle vitamin D ciltte yapılmaktadır. Bu yapılan madde bir ön madde olup böbrek ve karaciğerde iki defa transformasyona uğratılarak, biyolojik aktif madde haline dönmektedir. Ayrıca vitamin D'nin aktif şeklinin kimyasal yapısı steroid hormonları ile benzerlik göstermektedir (100).

Vitamin D kemik, paratiroid bezler, böbrek ve barsak üzerinde fizyolojik etkileriyle kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde etkilidir (100). İnsanlarda vitamin D'nin eksiklik, yetersizlik ya da zehirlenme durumlarında dolaşımdaki 25OHD düzeyi ölçümü anlamlıdır. D vitamininin dolaşımdaki en

önemli şekli ve aynı zamanda vücuttaki D vitamini durumu için en iyi gösterge 25OHD olup, yarılanma ömrü yaklaşık 2 haftadır (101, 102).

Vitamin D eksikliği çocuklarda riketse neden olurken, erişkinlerde ise osteoporozun ağırlaşmasına neden olur. Ağrılı bir kemik hastalığı olan osteomalaziye de neden olmaktadır (101). Yapılan birçok çalışma ile Vitamin D'nin sağlıklı kemik gelişiminden başka, birçok kanser tipinin, otoimmün, kardiyovasküler ve infeksiyon hastalıklarının önlenmesinde gerekli olduğu ortaya konmuştur (103).



Şekil 9. D2 ve D3 vitamin moleküler yapısı

1.3.2. Vitamin D'nin Biyokimyası ve Fizyolojisi

Vitamin D'nin 37 tane metaboliti bulunmaktadır ve en çok bilinen iki formu Vitamin D₃ (kolekalsiferol) ve Vitamin D₂'dir (ergokalsiferol) (Şekil 9) (104). Vitamin D ısı, ışık ve saklama koşullarına duyarlıdır. Hayvansal kaynaklı olan Vitamin D₃'ün ultraviyole ışınları yardımıyla deride, Vitamin D₂ ise bitki ve mantarlarda sentezlenir. Yan zincirindeki farklılıktan dolayı vitamin D değişik formlara sahiptir ve biyolojik olarak inaktif haldedir. Vitamin D'nin 25 hidroksi (25(OH)D) ve 1, 25 dihidroksi (1 α , 25 (OH)₂D) metabolitleri bulunmakla birlikte aktif form 1 α , 25 dihidroksikolekalsiferoldür (Vitamin D₃). Araştırmalar insan vücudunda vitamin D₂'ye göre vitamin D₃'ün çok daha etkili olduğunu göstermiştir (105, 106)

25(OH) D, vitamin D durumunun en iyi göstergesidir. Vitamin D yeterliliği için kabul edilen ortak bir değer bulunmamaktadır. The Standing Committee of Europe Doctors önerisi ise serum 25 (OH) D'nin 50nmol/L(20ng/ml)'den daha fazla olması yönündedir. Klinik olarak vitamin D eksikliği, serum 25(OH) D' nin 25nmol/L(10, 01ng/ml)'nin altında olduğu seviyelerde izlenir (107, 108).

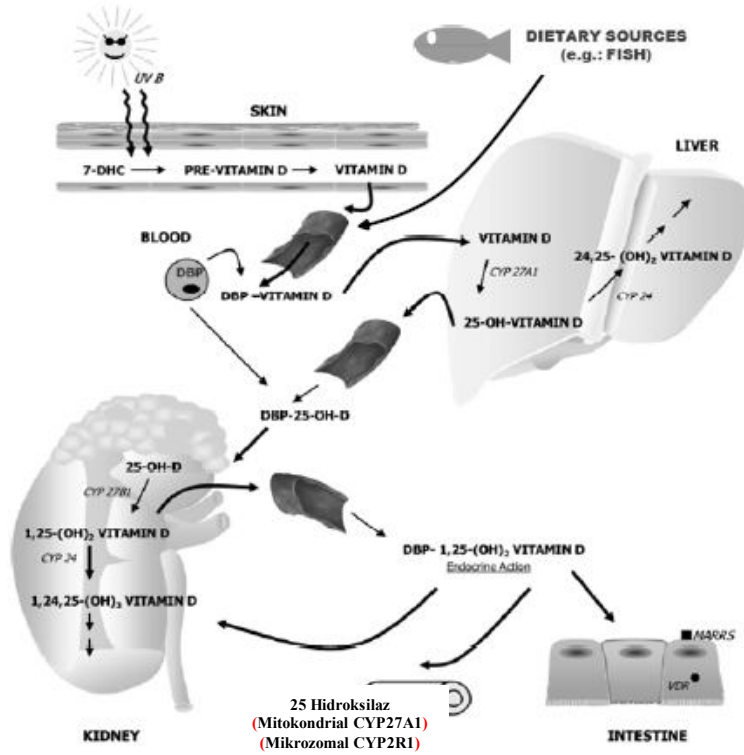
1.3.3. Vitamin D'nin Metabolizması ve Fonksiyonları

Vitamin D 290-315 nm dalga boyunda ultraviyole ışınlarına derinin maruziyeti ile sentez edilmektedir (109). Eller ve yüzün günlük ortalama 20 dakika güneşle teması yeterli olup, günlük 200 internasyonal unite (IU) ağız yoluyla alıma denk olduğu tahmin edilmektedir (110). Vitamin D₃'ün, derinin epidermisinde %80'i derinin epidermisinde, geri kalanı ise derinin dermisinde sentez edilmektedir (111). Vitamin D, ince bağırsaktan safra asitlerinin varlığında emilir ve lenfatik sistem aracılığı ile dolaşıma geçer.

Vitamin D, güneş ışığının etkisi ile 7-dehidrokolesterol'den deride sentezlenmektedir. 7-dehidrokolesterol karaciğerde 25-hidroksi-vitamin D₃'e dönüşür, bundan sonra böbrekte vitamin D₃'e dönüşmektedir. Vitamin D₃ yeterli seviyeye geldiğinde böbrekte 24, 25 dihidroksi-vitamin D (24, 25 (OH)₂D)'e çevrilmekte ve sonra yıkılmaktadır (104). Vitamin D'nin barsaklarda emilimi gerçekleştikten sonra karaciğere hızla geçerek depolanır. Vitamin D nin yapılan çalışmalarda insan vücudunda en fazla yağ dokusunda, sonra kas dokusunda depolandığı görülmüştür. (112). Vitamin D ve metabolitlerinin atılımına primer olarak safra tuzları ile feçeste rastlanmış ve idrarda da az oranda bulunmasına rağmen vitamin D'nin katabolizması net değildir (104).

Vitamin D'nin metabolitleri, kanda albumine benzeyen bir protein olan ve 25 (OH)D, 1 α , 25 (OH)₂D ile 24, 25 (OH)₂D'ye yüksek oranda afinite gösteren vitamin D bağlayıcı proteine (DBP) bağlanarak dolaşırlar. Hücrelere taşınan aktif 1 α , 25 (OH)₂D hücre içerisinde 'genomik' ve 'nongenomik' yolak olarak adlandırılan iki yolak ile işlevsellik kazanır. Genomik yolakta aktif metabolit 1 α , 25 (OH)₂D hücre içinde nükleer vitamin D reseptörü (VDR) ile kompleks yapar. Oluşan bu kompleks retinoik asit X-reseptörüyle bir heterodimer meydana getirip, ilgili gen üzerindeki vitamin D duyarlı bölgeye bağlanır. Ardından bu olayı transkripsiyon, translasyon izler ve osteokalsin, kalsiyum bağlayıcı protein, 24 hidroksilaz gibi proteinler oluşur.

Non-genomik mekanizmada ise vitamin D plazma membranındaki VDR reseptörlerine bağlanarak sitoplazma içerisinde ikincil mesaj yollarını aktifler. Sonuçta hücre membranındaki kalsiyum kanalları aktive edilir. Non-genomik yolak daha çok düz kas hücrelerinde, pankreas beta hücrelerinde, bağırsak hücrelerinde, kalp kası hücrelerinde ve monositlerde aktiftir. Non-genomik yolağın psöriazis, romatoid artrit, multipl skleroz, tip I diyabet, Crohn hastalığı, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanserler ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir.



Şekil 10. D vitamini metabolizması (113)

Vitamin D bağırsaktan kalsiyum emilimini artırır. Aktif kalsiyum transportunda Vitamin D₃'ün klasik etkisi bağırsak hücrelerinde meydana gelir. Bağırsak epitel hücrelerinde vitamin D VDR'ye bağlanarak kalsiyum bağlayan proteinin yapımını artırarak kalsiyumun aktif transportunu düzenler. Kalsiyum aktif transport yanında bağırsaklarda hücre kenarlarında difüzyon yolu ile de emilir. Vitamin D varlığında diyetdeki kalsiyumun % 30-40'ı absorbe olurken, vitamin D eksikliğinde ise kalsiyumun % 10-15'i absorbe olur. Vitamin D bağırsaklardan fosfor absorpsiyonuna da neden olur. Vitamin D₃ kemik, bağırsak, böbrek gibi hedef organları etkileyerek, kana kalsiyum geçişini uyarır vitamin D kemik dokusunda parathormon (PTH) ile birlikte hareket ederek kalsiyum mobilizasyonunu artırır.

Kemik dokusunda aktif D vitamini osteoblastlardaki VDR'ye bağlanarak osteoblastlarda reseptör aktivatör nükleer faktor-kappa beta (NF-B) ligandı (RANKL) proteininin yapımını indükler. Bu etkileşim ile preosteoklastlar olgun osteoklastlara dönüşüp, olgun osteoklastlar çeşitli hidrolitik enzimler salgılayarak kemik matriksinden kalsiyum mobilizasyonunu ve diğer minerallerin de dolaşıma salınmasına neden olur. Böbreklerde de vitamin D kalsiyum absorpsiyonunu artırır ve distal tübül hücrelerine PTH ile birlikte etkisini gösterir. Distal tübül hücrelerinden kalsiyumun % 1'i emilir. D vitamini kalsiyum düşüklüğünde ilk olarak bağırsaklarda kalsiyum ve fosfor emilimini artırır, eğer bu yetersiz kalırsa PTH kemiklerden kalsiyumu mobilize etmek için D vitamini yapımını artırır yani Vitamin D'nin yapımı paratiroid hormon (PTH) tarafından uyarılmaktadır (106, 114, 115).

Vitamin D şeker metabolizmasını düzenler ve kanda insülin seviyesinin düzenlenmesinde önemlidir. Vitamin D'nin güçlü antiproliferatif, prodiferansiyatif, ve immunomodülatör etkileri vardır (116).

Östrojenin $1\alpha, 25(\text{OH})_2$ vitamin D üzerine etkileri vardır. Östrojen salınımı ile $1\alpha, 25(\text{OH})_2$ düzeyi artar, bununla birlikte kalsiyum emilimi de indirekt yoldan artar. Dolayısıyla östrojen hormonu vitamin D reseptör fonksiyonunun düzenlenmesinde görev almaktadır (117).

Vitamin D yetersizliği, Tip 1 diyabete yakınlık oluşturabilir (118). Tip 1 diyabet gelişme riski ile hayatın erken döneminde vitamin D alımı arasında da ters ilişki gösterilmiştir (119). Çalışmalarda Vitamin D düzeyi yüksek bireylerde Tip 1 ve 2 diabete yakalanma riskinin azaldığı gösterilmiştir. Vitamin D metabolitlerinin makrofaj hücrelerinin antijen sunma kapasitesini arttırdığı ve bunu Th1 ve dendritik hücrelerinin downregülasyonu üzerinden yaptığı dolayısıyla Tip 1 diabete karşı koruyucu özellik gösterdiği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (118). Hayatın erken dönemlerinde vitamin D eksikliği ve raşitizm gelişen çocuklarda, diyabet gelişme riski ileri dönemde 3 kat artmıştır (120). Bununla beraber, her ne kadar raşitizmlili çocukların (genellikle D vitamininden yetersiz beslenme sonucu oluşan) Vitamin D3 seviyesi yeterli çocuklardan diyabet insidansı daha yüksek olsa da, bilinen enfeksiyonlara yakalanma eğilimleri daha fazla olduğundan Vitamin D3'ün koruyucu immün cevap için önemli olduğu ileri sürülmüştür (116, 121).

Başıklık özellikleri göz önüne alındığında, 1, 25 (OH)₂ Vitamin D₃ ve analogları, inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde klinik olarak yararlı olabilir. 1, 25 (OH)₂ Vitamin D₃ veya bir analogunun yönetimi ile deneysel bir SLE 'li fare modelinde proteinüriyi engellediği ve yaşam süresinde uzama sağladığı görülmüştür (122, 123).

Vitamin D eksikliği ile kolon, meme, over ve prostat kanserlerinin ilişkili olduğu görülmüştür. Yeterli vitamin D alımı ile hem meme hem de kolon kanseri riskinde % 50, over kanseri riskinde % 36, prostat kanseri riskinde ise % 49 azalma görülmüştür (124). Vitamin D'nin antioksidan etkisinden Hodgkin lenfoması, pankreas, prostat, kolon, over, meme kanserlerinde faydalanılmaktadır (125).

Vitamin D'nin, yapılan bir çalışmada antioksidan, otoimmün ve antienflamatuvar özellikleri olduğu görülmüştür (126).

Vitamin D'nin farklı hücre tiplerinde büyümeyi engellemesi ve diferansiasyonu uyarabilmesinden dolayı çeşitli endokrin hastalıklarda, immün sistemin düzenlenmesi ve kanserden korunmada etkileri mevcuttur. Vitamin D eksikliği ile diyabet, kanser, otoimmün hastalıklar ve hipertansiyon arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Vitamin D₃'ün antioksidatif etkileri görülmüştür (14).

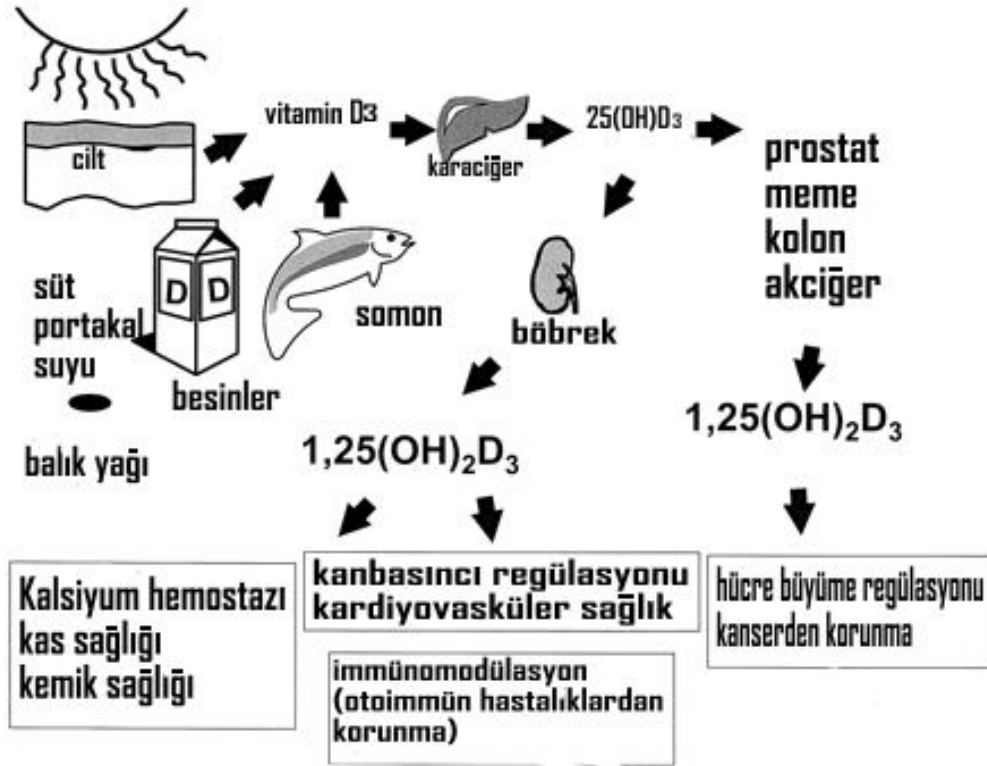
Yapılan bir çalışmada Kolekalsiferol (vitamin D₃) ve kendi aktif metaboliti 1, 25-dihidroksikolekalsiferol ve ergokalsiferol (Vitamin D₂)' nin antioksidan etkisi ve bu etkiyi lipid peroksidasyonu üzerinden, membran akışkanlığını etkileyerek yaptığı gösterilmiştir. Aynı zamanda ciltte oluşum mekanizması içinde olduğu için cilt kanserinde de antioksidan etkisinden yararlanılabilir (127).

Lin ve ark. (15) bir çalışmada çinko ile deneysel olarak merkezi sinir sisteminde oksidatif stres oluşturmuş ve vitamin D nin etkilerini melatonin, vitamin E, beta estradiol ile karşılaştırmışlardır. Vitamin D 'nin bu antioksidanlardan daha etkili olduğunu göstermiş ve bunu da merkezi sinir sisteminin lipid peroksidasyonunu ve otooksidasyonu azaltıcı etkilerine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Wiseman (127) ise yaptıkları çalışmada vitamin D₃'ün beyinde demirin indüklediği lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir.

Doku transplantasyonu sonrasında D vitamini analogları kullanıldığında dokunun reddini engellemeye yardımcı olduğu, enfeksiyonlara olan yatkınlığı

azalttığı ve vücut direncini arttırdığı görülmüş ve bu vitaminin ileride potansiyel bir tedavi aracı olabileceği kanaatine varılmıştır (128).



MS: Multipl skleroz, **RA:** Romatoid artrit, **KB:** Kan basıncı, **KC:** Karaciğer, **DM:** Diabetes mellitus.

Şekil 11. D vitamininin fizyolojik etkilerine ilaveten kalp-damar sağlığı, kanserden koruma, otoimmün işlevlerin düzenlenmesi ve otoimmün hastalık riskini azaltması gibi pek çok etkisinin şematik gösterimi (129).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya başlamadan önce Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulundan onam alındı. Çalışma için gerekli hayvanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma laboratuvarından temin edildi. Deneyleti Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyleti Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. 24 adet düzenli sıklusa sahip, Ağırlıkları 200-220 gr arasında değişen 8-10 haftalık 24 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 eşit gruba ayrıldı ve gruplar şu şekilde ortaya kondu.

Bu çalışmada TCE uygulanan sıçanların over dokularına Vitamin D'nin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Grup I (Kontrol grubu); Deneyleti süresi olan 3 hafta boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup II (TCE grubu); Deneyleti süresi olan 3 hafta boyunca oral gavajla TCE 1000 mg/kg/gün olarak verildi.

Grup III (TCE+Vitamin D grubu); Deneyleti süresi olan 3 hafta boyunca oral gavajla TCE 1000 mg/kg/gün uygulanması ile birlikte Vitamin D oral yolla 50IU/gün verildi.

Grup IV (Vitamin D grubu); Deneyleti süresi olan 3 hafta boyunca vitamin D 50IU/gün dozunda oral olarak verildi.

Deneyleti süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) intraperitoneal (i.p) uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların over dokuları hızla çıkarılıp uygun fiksatiflerle tespit edilip ardından histolojik takip serilerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınacak 3-5 µm kalınlığındaki doku kesitlerine rutin histolojik boyalar olan Hematoksilen & Eozin ve Üçlü boya yapılarak gruplar arası histopatolojik farklılıklar incelendi. TUNEL tekniği uygulanarak apoptotik hücreler tespit edildi. Ayrıca İmmunohistokimyasal olarakta Malondialdehid (MDA) boyaması ile doku değerlerine bakıldı.

2.1. Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan over dokuları, % 10'luk formaldehit tespit solüsyonunda 24 saat süresince tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkamaya alındı. Musluk suyunda 24 saat yıkanan dokular daha sonra rutin histolojik takip

serilerinden geçirildi (Tablo 1). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan 4–6 m kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Masson Trikrom boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda incelenip fotoğraflandı. Değişiklikler, histopatolojik durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Maksimum skor 9 olarak belirlendi. Her bir sıçan için skorlama yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı.

Tablo 1. Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1, 5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	%96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1, 5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

2.2. İmmünohistokimyasal Çalışma

Over dokusunda MDA immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol III	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal serum	60 dakika
14	Primer antikor	+4°C bir gece
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz)	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole)	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Akarsuda	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

Parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 10 dakika kaynatıldı. Ardından PBS (Phosphate Buffered Saline) ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen primer antikor (Anti-Malondialdehyde antibody, ab6463, Abcam, Cambridge) ile 60 dakika nemli

ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, Sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate+AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Skala bar: 50µm.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlanarak (0: yok, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) istatistiksel analizleri yapıldı.

2.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Histolojik Bulgular

Masson's trichrome ile boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Kontrol (Şekil 12, 13, 14) ve Vit D (Şekil 15, 16, 17) gruplarına ait over dokuları normal görünümdeydi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; TCE grubunda korpus luteumda belirgin olarak azalmış angiogenez (kırmızı ok) (Şekil 18), germinal epitelde dejenerasyon (kırmızı ok) (Şekil 19), over follikül rezervinde azalma ve folliküllerde dejenerasyon (follikül hücre kaybı+folliküler sıvı artışı) (kırmızı ok) (Şekil 20) gözlemlendi. TCE grubu ile kıyaslandığında TCE + Vit D grubunda ise korpus luteum angiogenezinde (Şekil 21) ve over rezervinde anlamlı bir farklılık izlenmedi fakat folliküllerde dejenerasyon (Şekil 22) ve germinal epitelde (Şekil 23) belirgin bir iyileşme olduğu gözlemlendi. Skala bar: 50µm. (Tablo 3, 4)

Tablo 3. Histolojik değişiklikler düzeltilecek

	KONTROL				Vit D				TCE				TCE + Vit D				
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
Korpus luteum angiogenezi			1	5				1	5		4	2			3	2	1
Germinal epitelde dejenerasyon	5	1			4	2				1	1	4		1	4	1	
Folliküllerde dejenerasyon	6				6					1	2	3		4	1	1	

*: (0): yok, (1): hafif, (2): orta, (3): şiddetli

Tablo 4. Histoskor

	Korpus luteum angiogenezi	Germinal epitelde dejenerasyon	Folliküllerde dejenerasyon	Over rezervi
KONTROL	2.83±0.40	0.16±0.40	0.0±0.0	43.83 ± 0.40
Vit D	2.83±0.40	0.33±0.51	0.0±0.0	41.83 ± 0.40
TCE	1.33±0.51 ^a	2.50±0.83 ^a	2.33±0.81 ^a	21.00 ±2.36 ^a
TCE + Vit D	1.66±0.81	1.0±0.63 ^b	0.50±0.83 ^b	25.00 ± 0.63 ^a

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

^b TCE grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.2.1. MDA İmmünreaktivitesi

MDA immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; MDA immünreaktivitesi over dokusunda stromal alanda (siyah yıldız) görüldü. MDA immünreaktivitesi kontrol (Şekil 24) ve Vit D (Şekil 25) gruplarında benzerdi. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında TCE (Şekil 26) grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) TCE grubu ile kıyaslandığında TCE + Vit D (Şekil 27) grubunda ise anlamlı bir azalma izlendi ($p<0.05$). Skala bar: 50 μ m (Tablo 5).

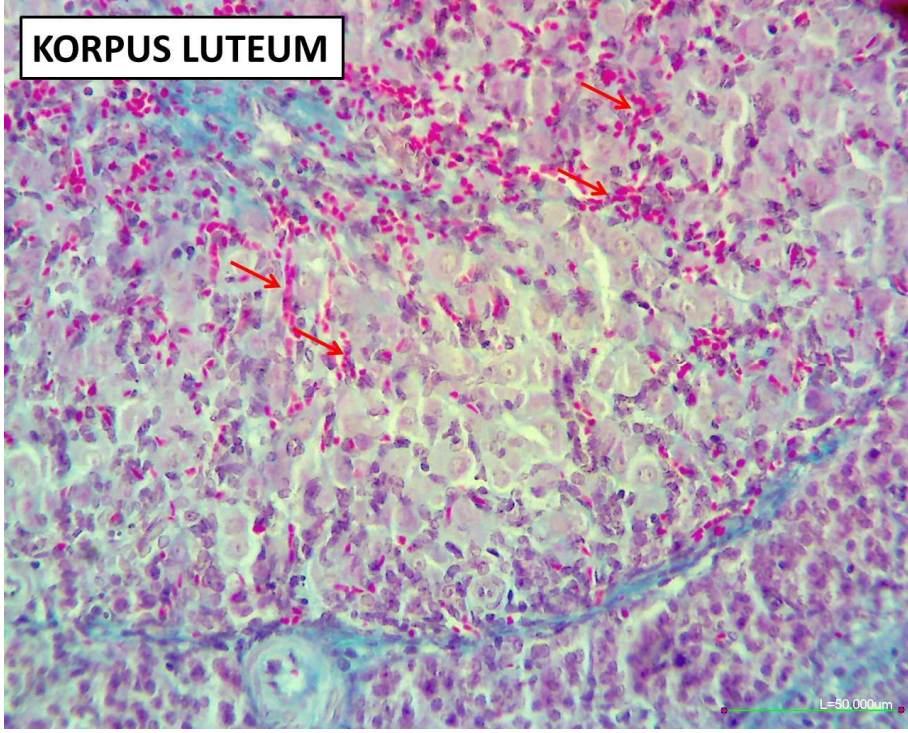
Tablo 5. MDA immünreaktivitesi.

GRUP	MDA İmmünreaktivitesi
KONTROL	0.916 \pm 0.20
Vit D	0.83 \pm 0.25
TCE	2.50 \pm 0.83 ^a
TCE + Vit D	1.50 \pm 0.54 ^b

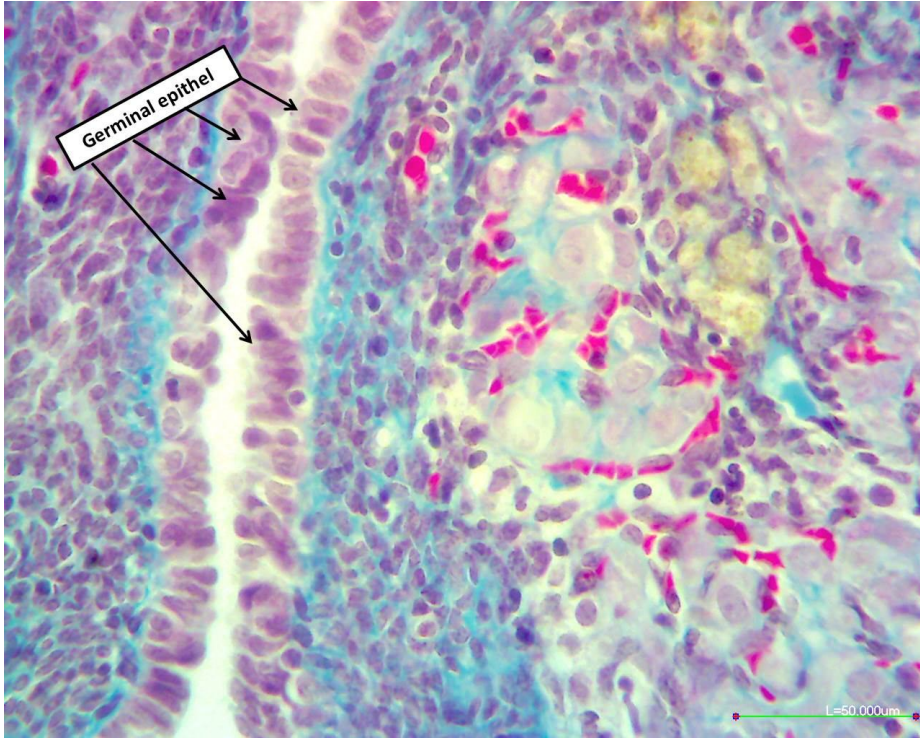
Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

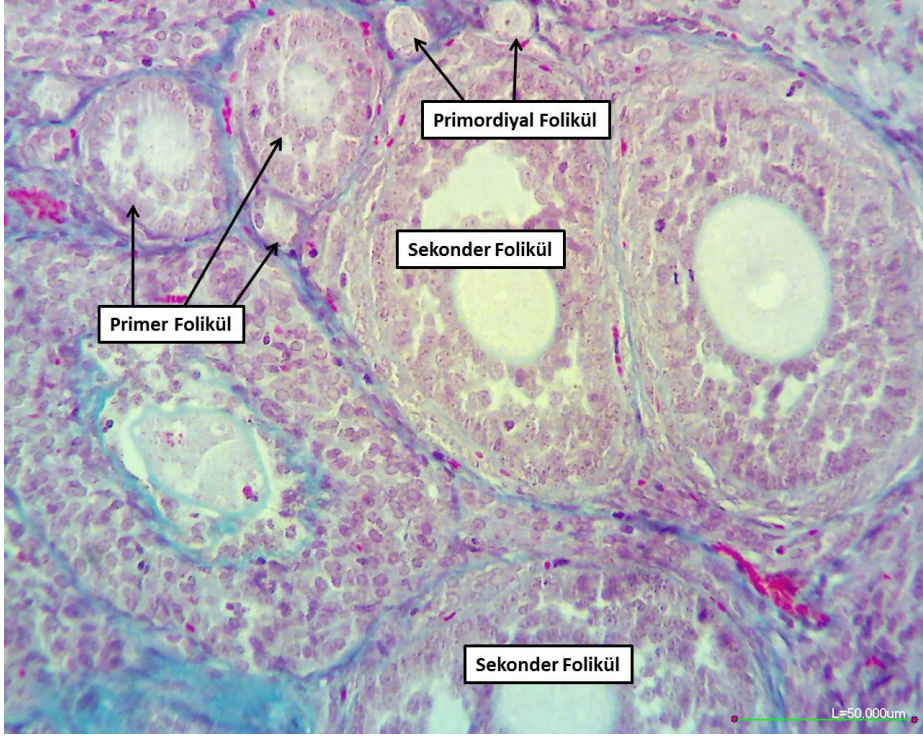
^b TCE grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



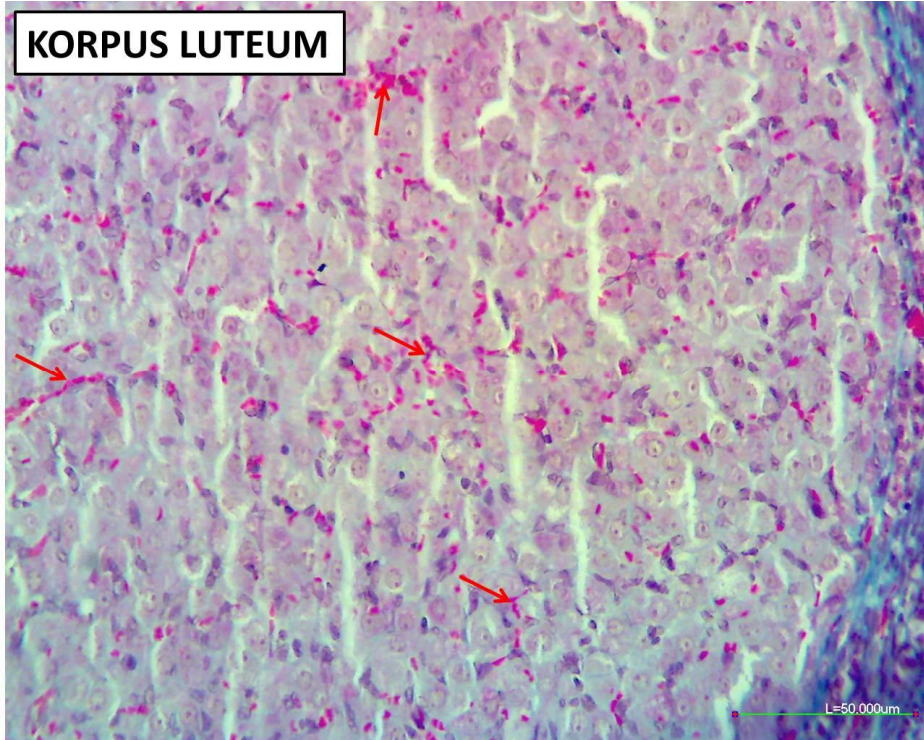
Şekil 12. Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



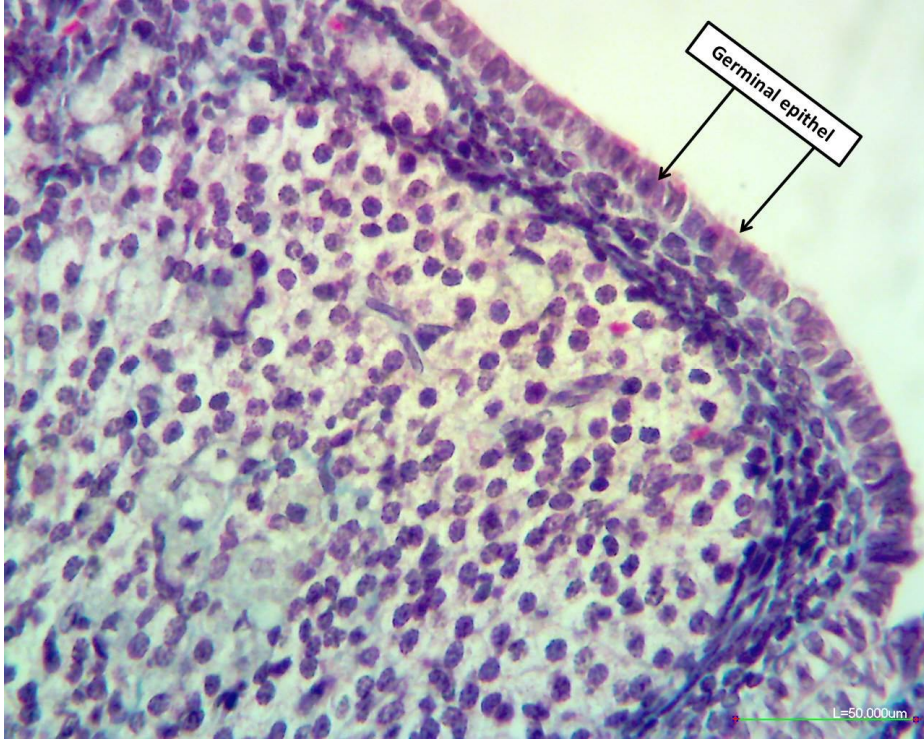
Şekil 13. Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



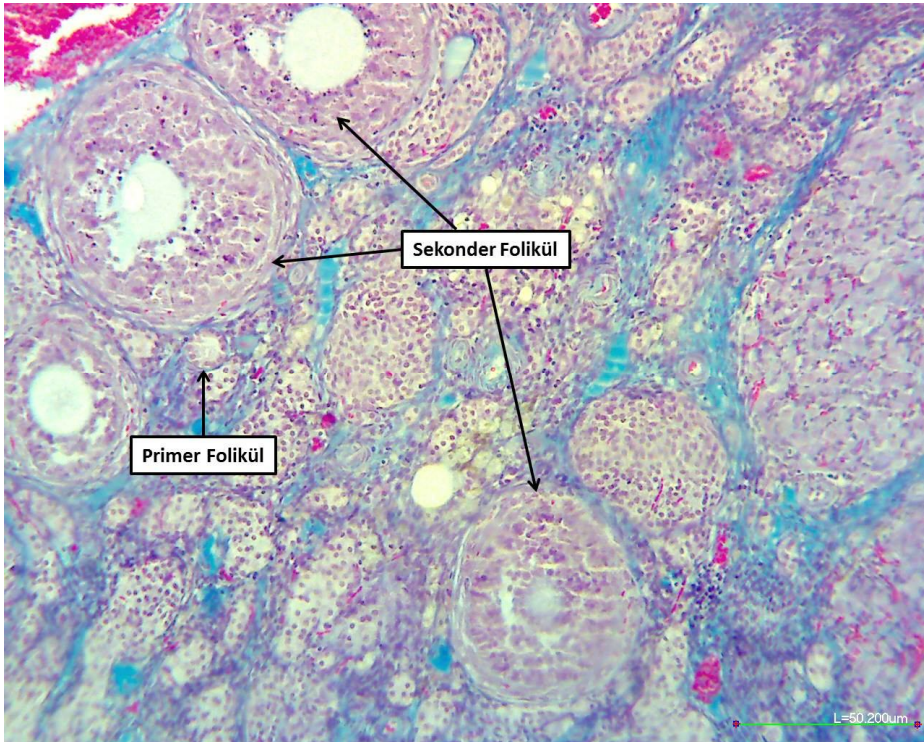
Şekil 14. Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



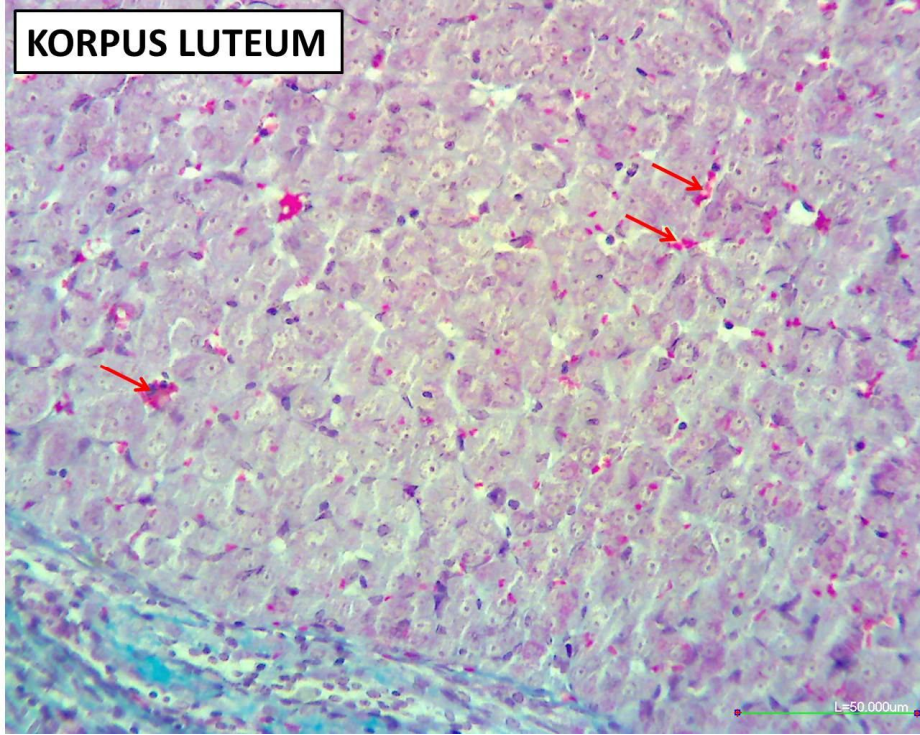
Şekil 15. Vit D grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



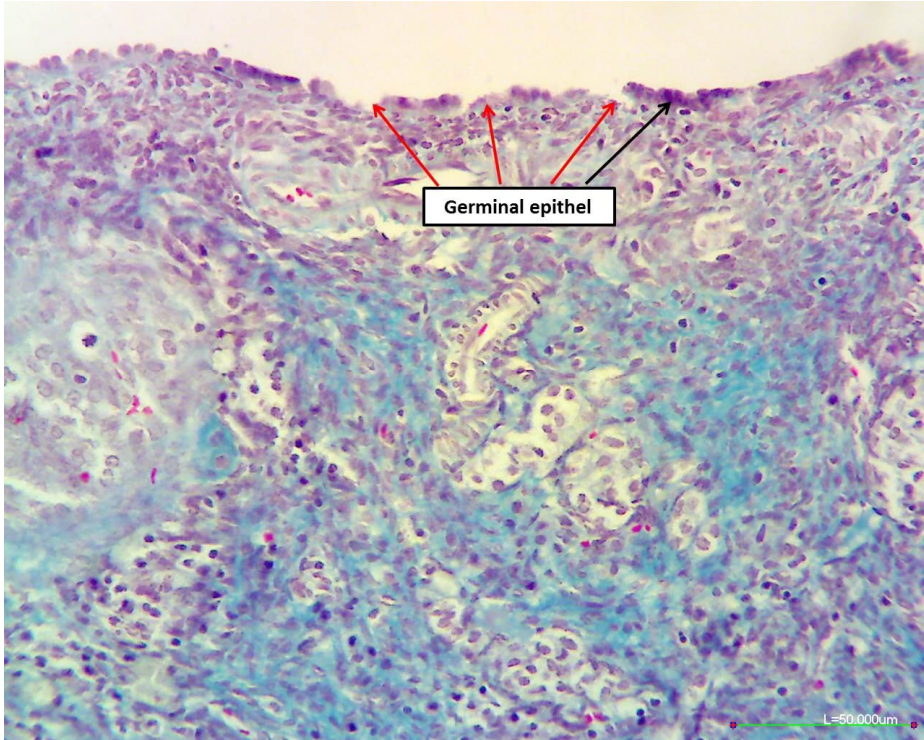
Şekil 16. Vit D grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



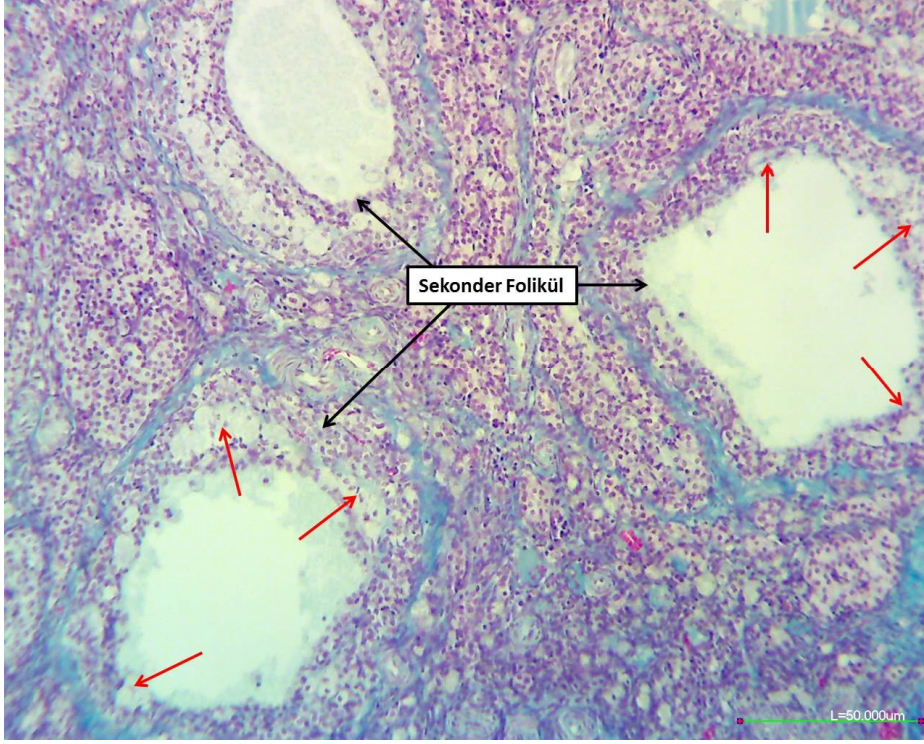
Şekil 17. Vit D grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



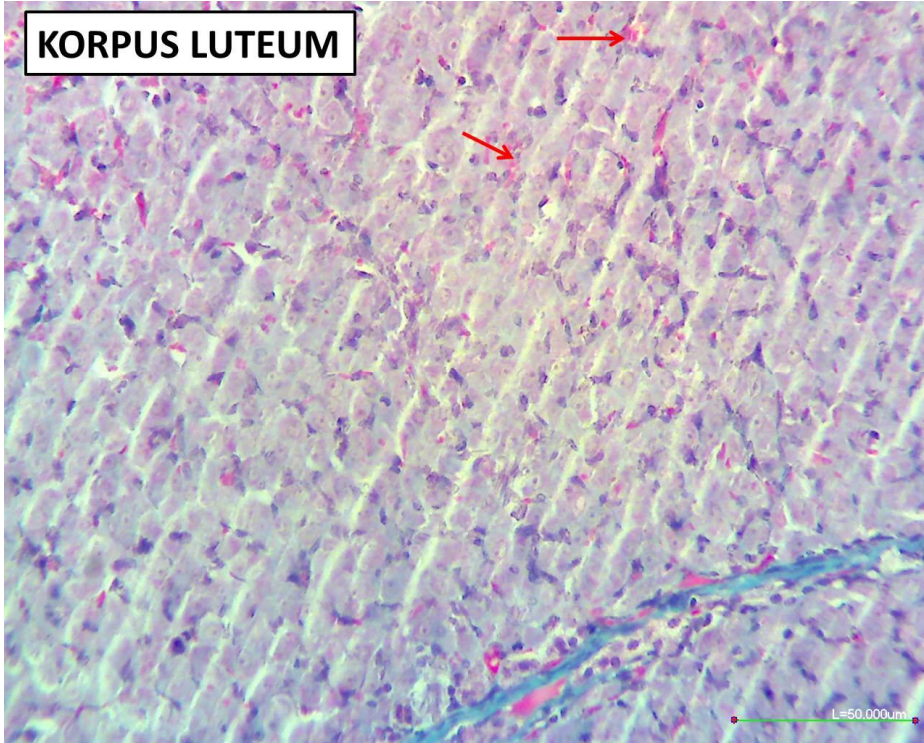
Şekil 18. TCE grubunda korpus luteumda azalmış angienez (kırmızı ok).



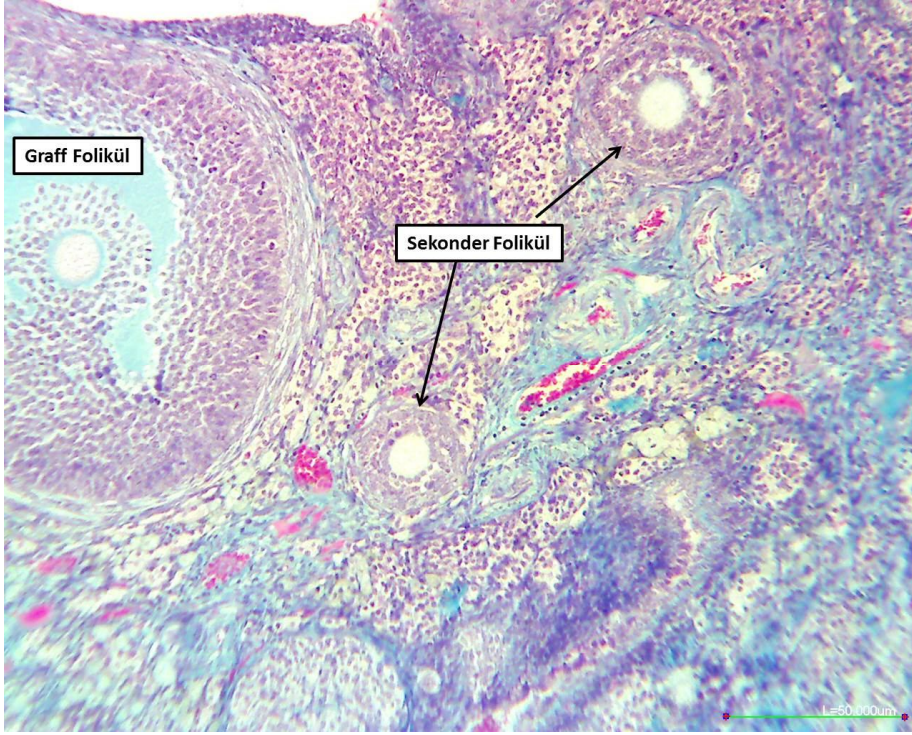
Şekil 19. TCE grubunda germinal epitelde dejenerasyon (kırmızı ok).



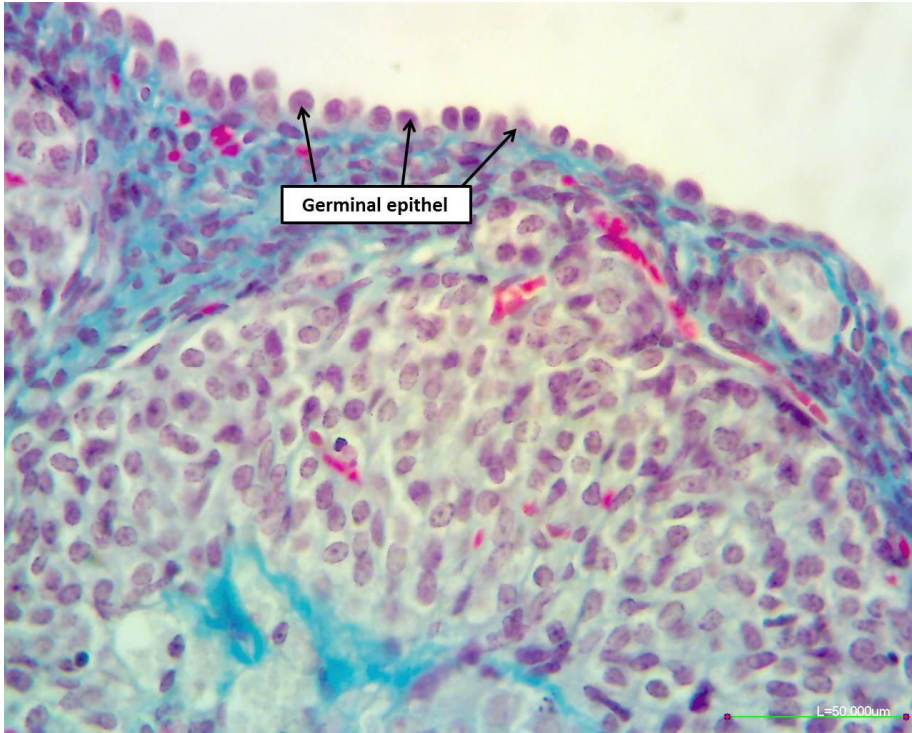
Şekil 20. TCE grubunda over follikül rezervinde azalma ve folliküllerde dejenerasyon (kırmızı ok).



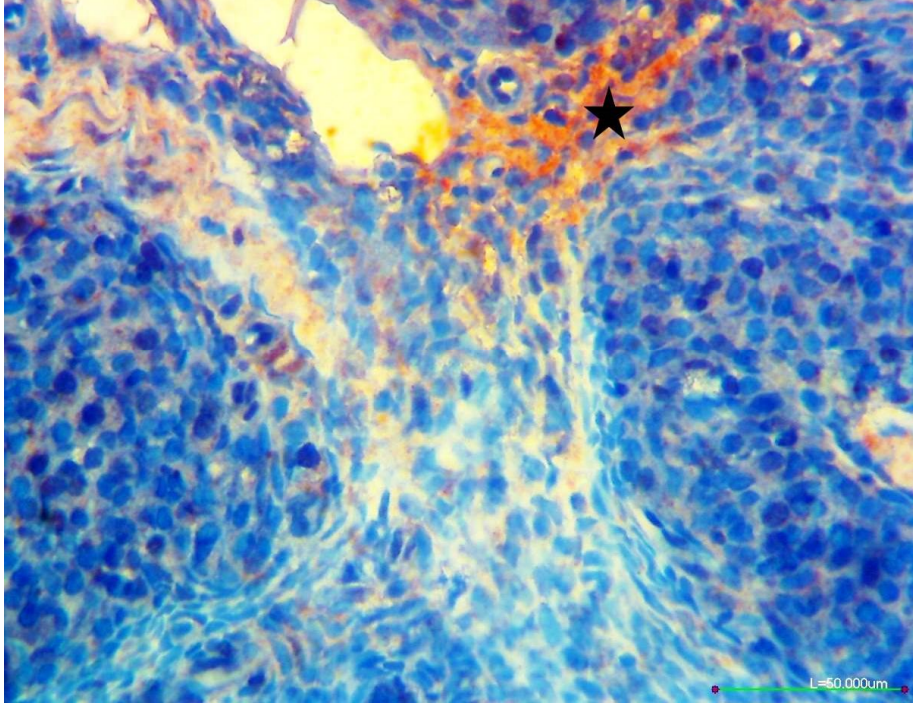
Şekil 21. TCE+Vit D grubunda korpus luteum angiogenezi (kırmızı ok).



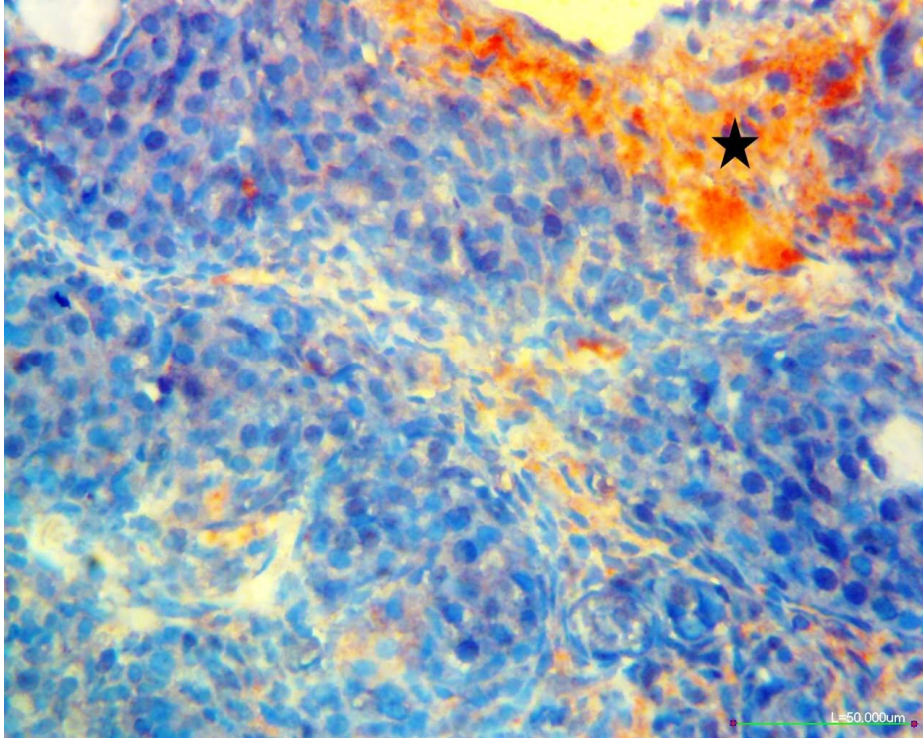
Şekil 22. TCE+Vit D grubunda folliküllerde dejenerasyonda belirgin düzelme.



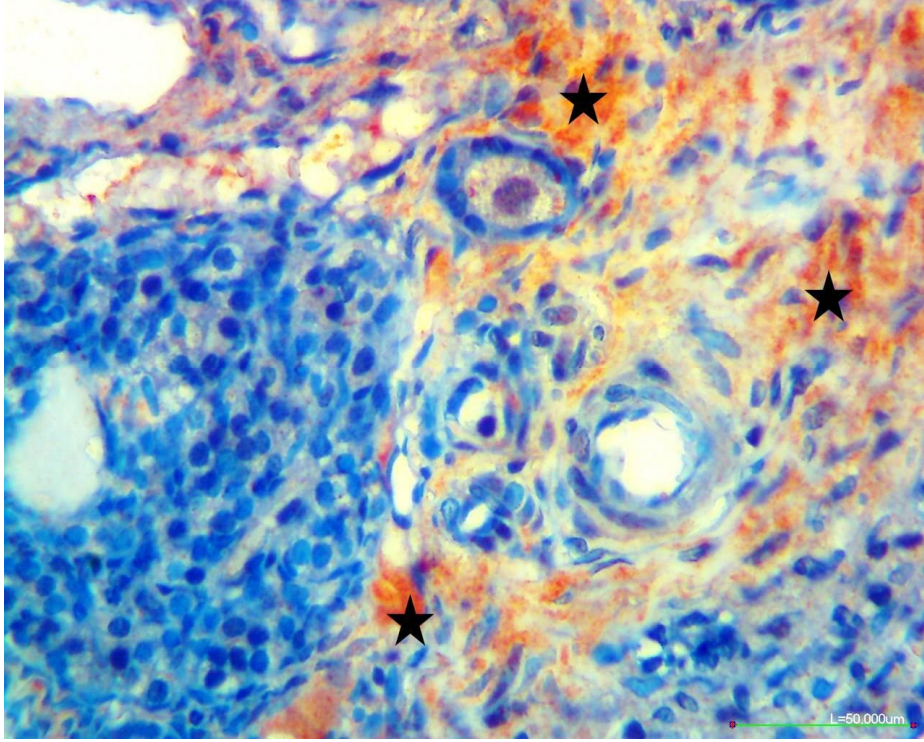
Şekil 23. TCE+Vit D grubunda germinal epitelde belirgin düzelme.



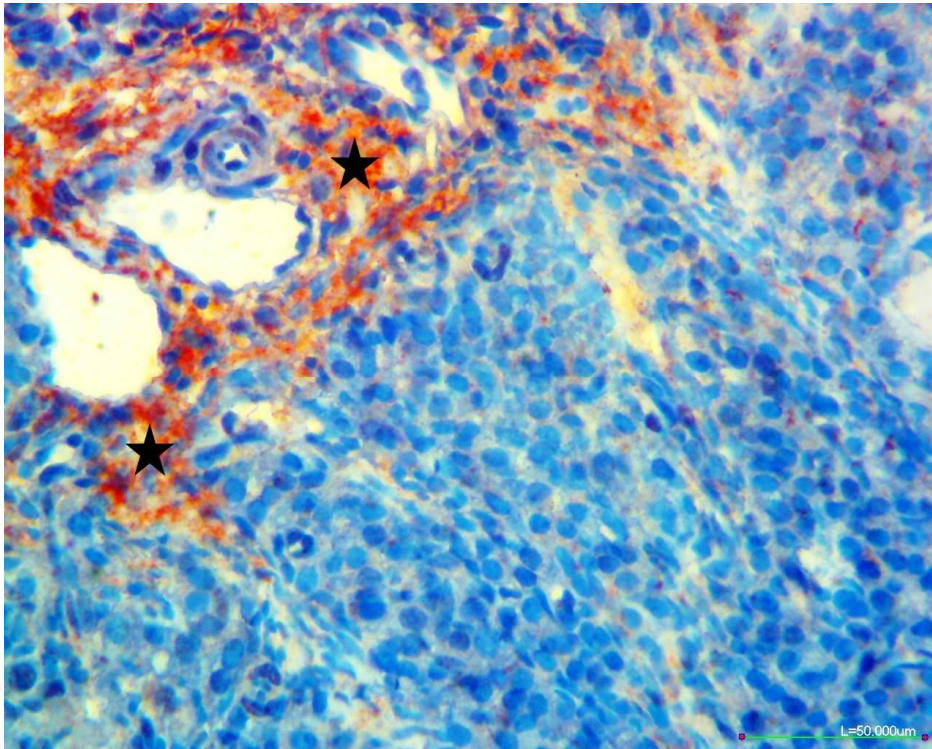
Şekil 24. Kontrol grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi (siyah yıldız).



Şekil 25. Vit D grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi (siyah yıldız).



Şekil 26. TCE grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi (siyah yıldız).



Şekil 27. TCE+Vit D grubu over stromasında MDA immünreaktivitesi (siyah yıldız).

4. TARTIŞMA

Trikloretilen, primer olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılan klorinli bir hidrokarbondur. ABD’de üretilen TCE’nin yaklaşık olarak %85’i metal temizleyicisi olarak kullanılır (77). TCE, yağ, parafin, selüloz esterleri, kauçuk, resin, boya ve cilalar için çözücü olarak kullanılır. TCE normal şartlarda doğada bulunmamakla birlikte atık ürün şeklinde zararlı, çevresel bir toksin olarak ortaya çıkmaktadır. TCE’nin parçalanma oranı TCE ‘nin fiziksel durumuna bağlı olarak çevrede değişiklik gösterir ve yarı ömrü konsantrasyonuna bağlı olarak yeraltı sularında 10.7 ay ile 4.5 yıl arasında değişmektedir (1).

Trikloretilen, havanın ve yeraltı sularının sık rastlanan bir kirleticisi olduğundan insan sağlığı üzerindeki potansiyel yan etkileriyle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. TCE kemirgenlerde kanserojendir ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Enstitüsü (IARC) tarafından insanlar için de olası bir kanser etkeni olarak kabul edilmektedir (2).

Kimyasal özelliklerinden uçuculuk ve lipofiliten dolayı TCE biyolojik membranlardan hemen absorbe edilir. Maruziyet durumunda TCE akciğerlerden veya gastrointestinal sistemden hızlı ve büyük oranda absorbe edilir. Absorbe olan TCE daha sonra akciğerler, karaciğer, böbrekler ve sinir sistemi gibi hedef organlara dağılır (83).

Her ne kadar diğer dokularda da metabolize olsa da TCE metabolizması primer olarak karaciğer ve böbreklerde oluşur. TCE metabolizmasından bilinen iki yolak sorumludur. Bunlar sitokrom P450 aracılı oksidasyon ve glutatyon ile konjugasyondur (43). Oksidatif yol yüksek afinitesi olan yoldur (86). Her iki yolakta da enzimler TCE’nin metabolizmasına katılırlar (43).

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda gamet seviyesinde TCE’nin erkek üremesi üzerine negatif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (5, 87). Ancak bu negatif etkinin üremeye mi spesifik olduğu ya da yüksek TCE seviyelerinin neden olduğu sistemik toksisiteden mi olduğu konusunda çelişkiler bulunmaktadır (130).

Son epidemiyolojik çalışmalar, TCE’nin de içinde olduğu klorlu çözücülere maruziyet ile azalmış semen konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal spermin artan yüzdeleri arasındaki ilişkiyi göstermiştir (88, 89).

Paternal TCE maruziyeti spontan düşüklerin riskinde artış, azalan implantasyon oranı, azalan fertilizasyon ve geç gebelik ile ilişkilendirilmiştir (90-92, 131)

Trikloretilen maruz bırakılan erkek ratların efferent duktus epitelinde histolojik değişiklikler gözlenmiştir, spermelerin baş ve orta kısımlarında oksidize proteinler bulunmuştur ve uygulama yapılmamış oositi spermin dölleme kapasitesinde azalma meydana gelmiştir, bunlarda TCE metabolitlerinin efferent duktuslarındaki sitokrom p450 bağımlı oksidatif yollar tarafından oluştuğunu göstermektedir (5).

Trikloretilenin oksidatif metabolizmasından sorumlu temel enzim sitokrom p450 2E1'dir (83, 93)

Sitokrom p450 2E1 rat efferent kanallarında ve epididimiste lokalizedir ve bu dokular oksidatif olarak TCE metabolize etme yetisine sahiptir (5, 132) Bu metabolizma sonucu oluşan metabolitler erkek üreme toksisitesine sahiptir (133, 134). Gözlenen etkileri azalmış sperm sayısı ve hareketi, bozuk sperm başı ve akrozom kusurları ve azalmış fertilitedir (135, 136).

Böylece TCE'ye maruziyetin erkek gamet kalitesini etkileyebileceğini gösteren bazı kanıtlar bulunmaktadır (87).

Trikloretilene maruz kalan oositlerin 6-10, 11-14. günlerde ve 2 haftalık maruziyeti olanlar ile kontrol kıyaslandığında daha az sperm bağlanma kapasitesine sahip olduğu görülmüştür (1).

Sitokrom p450 2E1 aktivitesi sonuçları, ovaryum da TCE metabolizması ya da TCE metabolitlerinin bulunmasını takiben oluşan oksidatif hasarın oosit döllelenmesinin azalmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (94, 95).

Tüm bu sonuçlar, bir dişinin yüksek seviyede TCE'ye maruziyetinden sonra in vivo olarak oosit döllelenmesini geçici olarak engelleyebileceğini göstermiştir. TCE gibi çevresel toksik maddelerin biyoaktivasyonu veya metabolizma tarafından rat overlerinde bulunması, in vivo TCE maruziyetinden sonra rat oosit döllelenmesini azaltmada önemli bir role sahip olabilir ve dişi gametleri üzerine toksik maddelerin etkisi için bir model olabilir (1).

Karaciğer, deneysel hayvan çalışmalarında TCE maruziyetinde toksisitenin primer hedef organdır. Sitokrom p450 bağımlı oksidasyon, enzim mevcudiyeti ve

substrat affinitesi bakımından TCE metabolizmasının major yolağıdır (86,139). TCE glutatyonla konjugasyon aracılığıyla da metabolize olabilir.Bu yolak böbreklerde kısmi olarak daha anlamlıdır (137, 1138)

Sitokrom p450E1 ve glutatyon s-transferaz α (GST α) TCE metabolizmasından sorumlu olan başlangıç enzimlerinin primer izoformları olup kemirgen overlerinde tespit edilmiştir (94, 139, 140)

Overler tarafından TCE'nin metabolizması, daha bioaktif ve toksik ürünlere göre üreme üzerinde yan etkilere sahiptir.Rat oosit fertilizabilitesi TCE maruziyeti sonucu azalmıştır. Bununla beraber bu azalmanın nedeni tam olarak değerlendirilmemiştir (1, 141).

Trichloroethylenenin dişi üreme sistemi üzerine toksisitesi olduğunu ileri süren araştırmalar, oositin plasma membranının bileşenlerindeki değişimlerden dolayı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (141). 4, 5 ve 14 gün tce ye maruz kalan dişi ratların oositleri kontrol dişilerinden elde edilen oositlerle karşılaştırıldığında normal rat spermleri tarafından daha az bağlanma ve fertilize olma yeteneğindedirler (1). Yapılan çalışmada TCE maruziyetinin granuloza hücre proteinlerinin artmış oksidasyonuna, sperme ve sperm plasma membranına bağlanmada azalmış bir kapasiteye neden olduğu gösterilmiştir.Yine bu çalışmada TCE maruziyetinin akut ve uzamış maruziyetinden sonra ovarian mRNA transkripsiyonunun değişip değişmediği araştırılmıştır.Ovarian RNA incelendiğinde granuloza hücre gen ekspresyonundaki değişimlerin oosit fertilizasyon yeteneğinde TCE'nin indüklediği azalmanın etkilerinde olduğu yönünde değerlendirilmiştir (142).

Vitamin D klasik bir vitaminden çok bir hormon olarak görev yapmaktadır. Çünkü güneş ışınlarının etkisiyle vitamin D ciltte yapılmaktadır. Bu yapılan madde bir ön madde olup, böbrek ve karaciğerde iki defa transformasyona uğratarak, biyolojik aktif madde haline dönmektedir. Ayrıca vitamin D'nin aktif şeklinin kimyasal yapısı steroid hormonları ile benzerlik göstermektedir (100).

Vitamin D'nin sağlıklı kemik gelişiminin yanında, birçok kanser tipinin, otoimmün, kardiyovasküler ve infeksiyon hastalıklarının önlenmesinde gerekli olduğu yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur (103).

Vitamin D tarafından birçok onkogen ürününü içeren elliden fazla proteinin düzenlendiği bilinmektedir (143).

Vitamin D eksikliği kolon, meme, over ve prostat kanserleri ile ilişkili bulunmuştur. Yeterli Vitamin D alımı ile hem meme hem de kolon kanseri riskinde % 50, over kanseri riskinde ise % 36 ve prostat kanseri riskinde % 49 azalma görülmüştür (124).

Vitaminin D'in antioksidan, antiinflamatuvar ve otoimmün özellikleri olduğu yapılan başka bir çalışma da görülmüştür. Yapılan in vitro, in vivo ve hayvan deneylerinde D vitamininin beyinde farklılaşma, neurotrofismi, nöroproteksiyonu, nörotransmisyonu ve nöroplastisiteyi uyardığını ve glutatyonu arttırdığını, DNA tamirinde görevli genleri arttırdığını ve nöbet eşliğini yükselttiğini tespit etmişlerdir. (126).

Çalışmamızda Histolojik inceleme sonucu Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; TCE grubunda korpus luteumda belirgin olarak azalmış angiogenez, germinal epitelde dejenerasyon, over follikül rezervinde azalma ve folliküllerde dejenerasyon (follikül hücre kaybı+folliküler sıvı artışı) gözlemlendi. TCE grubu ile kıyaslandığında TCE + Vit D grubunda ise korpus luteum angiogenezinde ve over rezervinde anlamlı bir farklılık izlenmedi fakat folliküllerde dejenerasyon ve germinal epitelde belirgin bir iyileşme olduğu gözlemlendi.

Trichloroethylenin over dokusundaki bu histopatolojik etkileri oluşturması oksidatif stress hasarı ile açıklanabilir. Zira çalışmamızda TCE grubunda MDA değerindeki artış bunun iyi bir göstergesi olup TCE + Vit D grubunda azalmış MDA seviyesi ise vitamin D'nin antioksidan etkisine bağlı olabilir.

Zira lipid peroksidasyonunun nispeten stabil bir son ürünü olan MDA, lipid peroksidasyon belirteci olarak kullanılabilir. Uzun ömre ve yüksek reaktiviteye sahip olup hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomolekülü etkileyerek geri dönüşümü mümkün olmayan hücre hasarlarına neden olur. Ayrıca membran akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktive olmasına ve Ca^{+2} iyonlarının membran geçişlerinin artmasına neden olmaktadır (144).

Herhangi bir nedenle oksidan maddelerin organizmada aşırı miktarlarda sentezlenmesi, nükleik asitler, lipidler, proteinler, enzimler ve karbonhidratlarla etkileşmesine; aynı zamanda kalsiyum metabolizmasına etki ederek hücre içi

kalsiyumun kontrolsüz yükselmesine, dolayısıyla hücre hasarı ve ölümüne neden olmaktadır (145).

Trichloroethylenenin farklı doku ve organlarda oksidatif strese bağlı hasar oluşumunu indüklediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Bununla birlikte verilen antioksidan ajanların bu oksidatif stresi azalttıklarını belirlemişlerdir (97, 98).

Lin ve ark. (15) çinko ile deneysel olarak beyinde oksidatif stres oluşturmuş ve vitamin D'nin etkilerini melatonin, beta östradiyol ve vitamin E ile karşılaştırmışlardır. Vitamin D'nin bu antioksidanlardan daha etkili olduğunu göstermiş olup bununda lipid peroksidasyonunu ve otooksidasyonu azaltıcı etkilerine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Wiseman (146) ise yaptıkları çalışmasında vitamin D₃'ün beyinde demirin indüklediği lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir.

Ayrıca Sardar ve ark. (147) ratlarda yaptıkları çalışmalarında karaciğerde lipid peroksidasyonu üzerine vitamin D₃'ün vitamin E gibi antioksidan etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak,

- TCE 'nin over dokusunda MDA'yı arttırdığı ve histopatolojik değişiklikler oluşturduğu,
- Tedavi olarak verilen Vitamin D'nin MDA ve histopatolojik değişiklikleri azalttığı,
- Vitamin D'nin bu etkisinin antioksidan özelliğine bağlı olabileceği,
- Over dokusunda gözlenen histopatolojik değişikliklerde Vitamin D seviyelerinin önemli olabileceği
- Vitamin D'nin klinik olarak kullanılabilmesi için gelecekte daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Wu KL, Berger T. Trichloroethylene metabolism in the rat ovary reduces oocyte fertilizability. *Chem. Biol Interact.* 2007; 17: 20-30.
2. Cunli H, Liping J, Chengyan G. Possible involvement of oxidative stress in trichloroethylene induced genotoxicity in human HepG2 Cells. *Mutat Res* 2008; 652: 88-94.
3. Bradford BU, Lock EF, Kosyk O. Interstrain differences in the liver effects of trichloroethylene in a mutant strain panel of inbred mice. *Toxicol Sci* 2011; 120; 206-217.
4. Sano Y, Nakashima H, Yoshioka N, Etho N, Nomiyama T, Nishiwaki Y, et al. Trichloroethylene liver toxicity in mouse and rat: microarray analysis reveals species differences in gene expression. *Arch Toxicol* 2009; 83: 835-849.
5. DuTeaux SB, Berger T, Hess RA, Sartini BL, Miller MG. Male reproductive toxicity of trichloroethylene: sperm protein oxidation and decreased fertilizing ability. *Biol Reprod* 2004; 70: 1518-1526.
6. US Environmental Protection Agency. Health Assessment Document for Trichloroethylene. Final Report. EPA/600/8-82/006F. Environmental Protection Agency. Washington DC: Office of Health and Environmental Assessment, 1985.
7. Karami S, Lan Q, Rothman N, Stewart PA, Lee KM, Vermeulen R, Moore LE. Occupational trichloroethylene exposure and kidney cancer risk: a meta-analysis. *Occup Environ Med* 2012; 69: 858-867
8. Berger T, Horner CM. In vivo exposure of female rats to toxicants may affect oocyte quality. *Reprod. Toxicol* 2003; 17: 273–281.
9. Reinke LA, Moyer MJ, p-Nitrophenol hydroxylation. A microsomal oxidation which is highly inducible by ethanol. *Drug Metab Dispos* 1985; 13: 548–552.
10. Wang G, Jianling Wang, Huaxian MA, Ansari, M. Khan F. N-Acetylcysteine protects against trichloroethylene-mediated autoimmunity by attenuating oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2013; ; 273: 189–195.

11. Channel SR, Latendresse JR, Kidney JK, Grabau JH, Lane JW, Steel-Goodwin L, Gothaus MC. A subchronic exposure to trichloroethylene causes lipid peroxidation and hepatocellular proliferation in male B6C3F1 mouse liver. *Toxicol Sci* 1998; 43: 145–154.
12. Cooper GS, Makris SL, Nietert PJ, Jinot J. Evidence of autoimmune- related effects of trichloroethylene exposure from studies in mice and humans. *Environ. Health Perspect* 2009; 117: 696–702.
13. Jameson JL. Harrison Endokrinoloji. Bereket A, Akçay T (Çeviren) s. 425-430, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.
14. Garcion E, Sindji L, Leblondel G, Brachet P, Darcy F. 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulates the synthesis of gamma-glutamyl transpeptidase and glutathione levels in rat primary astrocytes. *J Neurochem* 1999; 73: 859-66.
15. Lin AM, Chen KB, Chao PL. Antioxidative effect of vitamin D3 on zinc-induced oxidative stress in CNS. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1053: 319-29.
16. Berek SJ. Novak Jinekoloji. Onüçüncü baskı. Nobel Yayınevi, 2004: 164-169
17. Clement PB. Anatomy and Histology of the Ovary. Kurman R (ed). Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, 5th ed. New York, Springer-Verlag, 2002: 649-650.
18. Clement PB. Histology of the Ovary. Sternberg SS (ed). Histology for pathologists, 2nd ed. New York: Lippincott-Raven 1997: 929-959
19. Reeves G. Specific stroma in the cortex and medulla of the ovary. Cell types and vascular supply in relation to follicular apparatus and ovulation. *Obstet Gynecol* 1971; 37.
20. Kamina P. L'Ovaire Anatomie gynécologique et obstétricale, Maloine 1974: 193–221.
21. <http://academic.amc.edu/martino/grossanatomy/site/Medical/CASES/>
22. Sadler TW, Langman's Medikal Embriyolojisi (Çev. Başaklar AC, Sönmez K) 7. Basım, İstanbul: Palme Yayıncılık, 2007: 1-20.

23. Martini FH, Welch K. Fundamentals of Anatomy and Physiology, 2001: 233-237.
24. Kierszenbaum LA. Histology and Cell Biology, 200: 565-567.
25. Karabulut O, Delilbaşı L. Oogenezis, Oosit Toplama Prosedürü, Oosit Morfolojisi in vitro Maturasyon. Delilbaşı L (Ed). IVF Laboratuar Yöntemleri, 2007: 85-86
26. Erkoçak, A. Özel histoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1982.
27. Gartner LP, Hiatt J. Colour text book of histology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: 458.
28. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji, (Çev. AYTEKİN, A. ve SOLAKOĞLU, S.), Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 2003: 512.
29. Kalaycı S. Histoloji Bursa: Uludağ Üniversitesi Yayıncılık, 1986: 565.
30. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. (Çev. Demir R), Ankara: Palme Yayıncılık, 2006: 618.
31. Bukovsky A, Svetlikova M, Caudle MR. Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries. Rep Biol Endocrinol 2005; 3: 1-13.
32. Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly L. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary, Nature 2004; 428: 145-150.
33. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası, (Çev. Demir R) Palme Yayıncılık, Ankara, 2001; 366.
34. Esrefoglu M. Genel ve Özel Histoloji. Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık, Ankara, 2004: 356.
35. Fawcett DW. Bloom and Fawcett: concise histology. Chapman And Hall, 1997: 964.
36. Solomon EP. İnsan anatomisi ve fizyolojisine giriş, (Çev. Süzen LB), İstanbul: Birol Basın Yayın Dağıtım, 2000: 274.
37. Themmen APN. Anti-Müllerian Hormone: Its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker, J Natl Cancer Inst 2005; 34: 18-21.

38. <http://www.tarleton.edu/Departments/anatomy/ovary.html>.
39. Delilbaşı L. In Vitro Fertilizasyon (IVF) Labaratuvar Yöntemleri. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi, 2008: 85-87.
40. Çolgar U. Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2006:9-17.
41. <https://courses.stu.qmul.ac.uk/smd/kb/microanatomy/humandev/answers>
42. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley.
43. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, Temel Histoloji. Aytekin Y (Çeviren) Barış Kitabevi, 1995; 307-319.
44. Kahraman S, Yakın K. Ovulasyon İndüksiyonu, 2000: 24-32, 101.
45. Tremellen KP, Kolom GA, Lekam DN. Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve. Aust Nz j Obstet Gynaecol 2005; 45: 20-24.
46. Cevrioğlu S. Ovaryan Rezerv Testleri. Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A (eds). Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2. Baskı. Ankara-İstanbul: Güneş Kitabevi ltd. Şti; 2006: 1427-1432.
47. Hendriks DJ, Broekmans FJ, Bancsi LF, Looman W, de Jong FH, te Velde ER. Single and repeated GnRH agonist stimulation tests compared with basal markers of ovarian reserve in the prediction of outcome in IVF. J Assist Reprod Genet 2005; 22: 65-73.
48. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. Hum Reprod 2001; 7: 581-590.
49. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid life: implications for forecasting menopause. Hum Reprod 1992; 7: 1342-1346.
50. McKinlay SM, Brambilla DJ, Posner JG. The normal menopausal transition. Maturitas 1992; 14: 103-115.

51. Tanbo T, Dale P O, Lunde O, Norman N. Prediction of response to controlled ovarian hyperstimulation: a comparison of basal and clomiphene citrate-stimulated folliclestimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1992; 57: 819-824.
52. Scott RT, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 FSH levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990; 54: 297-302.
53. Licciardi FL, Hung-Ching L, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in-vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992; 64: 991-994
54. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle- stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997; 68: 272-277.
55. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64: 1136-1140
56. Magoffin DA, Jakimiuk AJ. Inhibin A, inhibin B and activin A in the follicular fluid of regularly cycling women. *Hum Reprod* 1997; 128: 1714-1719.
57. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R. Measurement of dimeric inhibinB throughout the human menstrual cycle. *Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1401-1405.
58. Kwee J, Elting MW, Schats R. Comparison of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian hyperstimulation in IVF treatment: results of a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2003; 18: 1422.
59. Ficicioglu C, Kutlu T, Demirbasoglu S, Mulayim B. The role of inhibin B as a basal determinant of ovarian reserve. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17: 287.
60. Picard JY, Josso N. Purification of testicular anti-Müllerian hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Mol Cell Endocrinol* 1984; 34: 23-29.

61. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr Rev* 2001; 22: 657-674.
62. Picard JY, Benarous R, Guerrier D, Josso N, Kahn A. Cloning and expression of cDNA for anti-müllerian hormone. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 5464-5468.
63. Picon R. Action of the fetal testis on the development in vitro of the Müllerian ducts in the rat. *Arch Anat Microse Morphol Exp* 1969; 58: 1-19.
64. Gruijters MJ, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol* 2003; 211: 85-90.
65. Lass, A, Brinsden P. The role of ovarian volume in reproductive medicine. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 256-266.
66. Andolf E, Jørgensen C, Svalenius E. Ultrasound measurement of ovarian volume. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 387-389.
67. Reuss ML, Kline J, Santos R. Age and ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 624-627.
68. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT. Use of antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive Technologies. *Fertil Steril* 1998; 69: 505-510.
69. Pan HA, Cheng YC, Li CH. Ovarian stromal flow intensity decreased by age: a three dimensional power doppler ultrasonography. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 425-430.
70. Lass A, Sitle R, Abrams DC. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997; 12: 1028- 1031.
71. Speroff L, Glass NH, Kase RG. *Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility*. 1999; 84: 171-213.
72. Loumaye E, Billion JM, Mine JM. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril* 1990; 53: 295-301.

73. Winslow KL, Toner JP, Brzyski RG, Oehninger S. The gonadotropin-releasing hormone agonist stimulation test—a sensitive predictor of performance in the flare up in vitro fertilization cycle. *Fertil Steril* 1991; 56: 711-717.
74. Padilla SL, Bayati J, Garcia JE. Prognostic value of the early serum estradiol response to leuprolide acetate in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1993; 59: 587-595.
75. Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable screening test for detecting poor responders in in- vitro fertilization. *Hum Reprod* 1994; 9: 1607-1611.
76. Güneş A. Trichloroethylene ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarı Üzerine Thymoquinone'un Etkileri ve Heat Shock Protein 70'in İmmun Reaktivitesi. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 2012.
77. EPA, Sources, Emission and Exposure for Trichloroethylene (TCE) and Related Chemicals, National Center for Environmental Assessment—Washington Office, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency 2001: 1–125.
78. Weiss, NS, Cancer in relation to occupational exposure to trichloroethylene. *Occup Environ Med* 1996; 53: 1–5.
79. ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1995 <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp19.pdf>.
80. Wu C, Schaum J. Exposure assessment of trichloroethylene. *Environ. Health Perspect* 2000; 108: 359–363.
81. ATSDR. Toxicological profile for trichloroethylene. US. Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 1997.
82. ATSDR, ToxFAQs for Trichloroethylene, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2003.

83. Lash LH, Fisher JW, Lipscomb JC, Parker JC. Metabolism of Trichloroethylene. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 177-200.
84. Jung HG, Kim HH, Song BG, Kim EJ. Trichloroethylene hypersensitivity syndrome: a disease of fatal outcome. *Yonsei Med J* 2012; 53: 231-235.
85. International Agency for Research On Cancer (IARC), Dry cleaning, some chlorinated solvents, and other industrial chemicals, IARC: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 1995; 63: 75-158.
86. Davidson IW, Beliles RP. Consideration of the target organ toxicity of trichloroethylene in terms of metabolite toxicity and pharmacokinetics. *Drug Metab Rev* 1991; 23: 493-599.
87. Xu H, Tanphaichitr N, Forkert PG, Anupriwan A, Weerachatanukul W, Vincent R, Leader A, Wade MG. Exposure to trichloroethylene and its metabolites causes impairment of sperm fertilizing ability in mice. *Toxicol Sci* 2004; 82: 590-597.
88. Tielemans E, Burdorf A, te Velde ER, Weber RF, van Kooij RJ, Veulemans H, Heederik DJ. Occupationally related exposures and reduced semen quality: a case-control study. *Fertil Steril* 1999; 71: 690-696.
89. Chia SE, Ong CN, Tsakok MFH, Ho A. Semen parameters in workers exposed to trichloroethylene. *Reprod Toxicol* 1996; 10: 295-299.
90. Taskinen H, Anttila A, Lindbohm ML, Sallmen M, Hemminki K. Spontaneous abortions and congenital malformations among the wives of men occupationally exposed to organic solvents. *Scand J Work Environ Health* 1989; 15: 345-352.
91. Lindbohm ML, Hemminki K, Bonhomme MG, Anttila A, Rantala K, Heikkila P, Rosenberg MJ. Effects of paternal occupational exposure on spontaneous abortions. *Am J Public Health* 1991; 81: 1029-1033.
92. Sallmen M, Lindbohm ML, Anttila A, Kyyronen P, Taskinen H, Nykyri E, Hemminki K. Time to pregnancy among the wives of men exposed to organic solvents. *Occup Environ Med* 1998; 55: 24-30.

93. Miller RE, Guengerich FP. Oxidation of trichloroethylene by liver microsomal cytochrome P-450: evidence for chlorine migration in a transition state not involving trichloroethylene oxide. *Biochemistry* 1982; 21: 1090–1097.
94. Cannady E, Dyer CA, Christian PJ, Sipes IG, Hoyer PB. Expression and activity of cytochromes P450 2E1, 2A, and 2B in the mouse ovary: the effect of 4-vinylcyclohexene and its diepoxide metabolite. *Toxicol Sci* 2003; 73: 423–430.
95. Manson JM, Murphy M, Richdale N, Smith MK. Effects of Oral Exposure to Trichloroethylene on Female Reproductive Function. *Toxicology* 1984; 32: 229–242.
96. Cai P, König R, Boor PJ, Kondraganti S, Kaphalia BS, Khan MF, Ansari GAS. Chronic exposure to trichloroethene causes early onset of SLE-like disease in female MRL+/+ mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 228: 68–75.
97. Atkinson A, Meeks RG, Roy D. Increased oxidative stress in the liver of mice treated with trichloroethylene. *Biochem Mol Biol Int* 1993; 31: 297-304.
98. Gharib OA, Gharib MA. Kombucha tea ameliorates trichloroethylene induced hepatic damage in rats via inhibition of oxidative stress and free radical induction. *Egypt J Sci Applic* 2008; 21: 481-498.
99. Yumuturuğ U, Ellenberger HA. Trichloroethylene ile çalışanların idrarlarında trichloroacetic asit ve trichloroethanol'ün kantitatif olarak tayini üzerinde çalışmalar. *Ankara Ecz Fak Mec* 1974; 4: 179.
100. Jameson JL, Weetman AP. Tiroid bezi hastalıkları. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Jameson JL, (editors). Çeviri editörü: Sağlık Y. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (15. Edisyon). İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2004; 2060-2075.
101. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1678-1688.
102. Bell NH, Shaw S, Turner RT. Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits the hepatic production of 25- hydroxyvitamin D in man. *J Clin Invest* 1984; 74: 1540-1544.

103. Hollick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1678-1688.
104. Zempleni J, Rucker RB. *Handbook of vitamins*. 4th ed. CRC Press 2008; 608.
105. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than Vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5387–5391.
106. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 4-8.
107. Zittermann, A, Gummert JF. Nonclassical Vitamin D Actions. *Nutrients*, 2010; 2: 408-425.
108. Schoor VM, Lips P. Worldwide Vitamin D Status. *Best Practise & Research Clin Endocrinol Metabol* 2011; 25: 671-680.
109. Whiting SJ, Calvo MS. Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of Vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97: 7-12.
110. Haddad JG. Vitamin D--solar rays, the Milky Way, or both? *New Eng J Med* 1992; 326: 1213-1215.
111. MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* 1985; 76: 1536-1538.
112. Rucker RB. *Handbook of vitamins*. Marcel Dekker 2001; 3: 616.
113. Bringhurst FR, Demoy MB, Kronenberg HM. Vitamin D. *Williams Textbook of Endocrinology*. Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS (ed). Tenth edition. Philadelphia: Saunders Elsevier 2003; 1317-1323.
114. Chagas CE, Borges MC, Martini LA, Rogero MM. Focus on vitamin D, inflammation and type 2 diabetes. *Nutrients* 2012; 4: 52-67.
115. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endoc Metabol* 2011; 96: 1911-1930.
116. van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97: 93-101.

117. Karadavut Kİ, Başaran A, Çakçı A. Osteoporoz tedavisinde vitamin D'nin yeri. *TJ Geriatrics* 2002; 5: 115-122.
118. Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. Vitamin D and diabetes. *Diabetologia* 2005; 48: 1247–1257.
119. Harris S. Can vitamin D supplementation in infancy prevent type 1 diabetes *Nutr Rev* 2002; 60: 118-121.
120. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358: 1500-1503.
121. Yener E, Coker C, Cura A, Keskinoglu A, Mir S. Lymphocyte subpopulations in children with vitamin D deficient rickets. *Acta Paediatr Jpn* 1995; 37: 500–502.
122. Abe J. Prevention of immunological disorders in MRL/l mice by a new synthetic analogue of vitamin D₃, 22-oxa-1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃. *J Nutr Sci Vitaminol* 1990; 36: 21–31.
123. Lemire JM, Ince A, Takashima M. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ attenuates the expression of experimental murine lupus of MRL/l mice. *Autoimmunity* 1992; 12: 143–148.
124. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1586-1591.
125. Tümay Sözen. D hormonu: Guncel gelişmeler, *Hacettepe Tıp Dergisi* 2011; 42: 14-27.
126. Cannell JJ. Autism, will vitamin D treat core symptoms? *Med Hypotheses* 2013; 81: 195-198.
127. Wiesman H. Vitamin D is a membrane antioxidant, ability to inhibit iron-dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol and tamoxifen and relevance to anticancer action *FEBS Lett* 1993; 326: 285-288.
128. Ardeniz Ö. Vitamin D ve immün sistem. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008; 28: 198-205.

129. Holick MF. Vitamin D: its role in cancer prevention and treatment. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 49-59.
130. Lamb JC, Hentz KL. Toxicological review of male reproductive effects and trichloroethylene exposure: Assessing the relevance to human male reproductive health. *Reprod Toxicol* 2006; 22: 557–563.
131. Tielemans E, van Kooij R, Looman C, Burdorf A, te Velde E, Heederik D. Paternal occupational exposures and embryo implantation rates after IVF. *Fertil Steril* 2000; 74: 690–695.
132. Forkert PG, Lash LH, Nadeau V, Tardif R, Simmonds A. Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 182: 244–254.
133. Bhunya SP, Behera BC. Relative genotoxicity of trichloroacetic acid (TCA) as revealed by different cytogenetic assays: bone marrow chromosome aberration, micronucleus and sperm-head abnormality in the mouse. *Mutat Res* 1987; 188: 215–221.
134. Toth GP, Kelty KC, George EL, Read EJ, Smith MK. Adverse male reproductive effects following subchronic exposure of rats to sodium dichloroacetate. *Fundam Appl Toxicol* 1992; 19: 57–63.
135. Klinefelter GR, Suarez JD, Roberts NL, DeAngelo AB. Preliminary screening for the potential of drinking water disinfection byproducts to alter male reproduction. *Reprod Toxicol* 1995; 9: 571–578.
136. Linder RE, Klinefelter GR, Strader LF, Suarez JD, Roberts NL. Spermatotoxicity of dichloroacetic acid. *Reprod Toxicol* 1997; 11: 681–688.
137. Goepfert AR, Commandeur JN, van Ommen B, van Bladeren PJ, Vermeulen NP. Metabolism and kinetics of trichloroethylene in relation to toxicity and carcinogenicity. Relevance of the mercapturic acid pathway. *Chem Res Toxicol* 1995; 8: 3–21.
138. Dekant W. Bioactivation of nephrotoxins and renal carcinogens by glutathione S-conjugate formation. *Toxicol Lett* 1993; 67: 151–160.

139. Singh D, Pandey RS. Glutathione-S-transferase in rat ovary: its changes during estrous cycle and increase in its activity by estradiol-17 beta. *Ind J Exp Biol* 1996; 34: 1158–1160.
140. Toft E, Becedas L, Soderstrom M, Lundqvist A, Depierre JW. Glutathione transferase isoenzyme patterns in the rat ovary. *Chem Biol Interact* 1997; 108: 79–93.
141. Berger T, Horner CM. In vivo exposure of female rats to toxicants may affect oocyte quality. *Reprod Toxicol* 2003; 17: 273–281.
142. Katherine Lily Wu and Trish Berger Ovarian Gene Expression is Stable after Exposure to Trichloroethylene *Toxicol Lett* 2008; 177: 59–65.
143. Dursun A. D vitamininin kemik metabolizması dışındaki etkileri. *Beslenme Yenilikler I- II. Katkı Pediatri Dergisi* 2007; 28: 225-234
144. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Comm* 2005; 338: 668–676.
145. Halliwell B, Chirico S. Lipid Peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nut* 1993, 57: 715-725.
146. Wiseman H. Vitamin D is a membrane antioxidant: ability to inhibit iron-dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol, and tamoxifen and relevance to anticancer action. *FEBS J* 1993; 326: 285–288.
147. Sardar S, Chakraborty A, Chatterjee M. Comparative effectiveness of vitamin D3 and dietary vitamin E on peroxidation of lipids and enzymes of the hepatic antioxidant system in Sprague-Dawley rats. *Int J Vitam Nutr Res* 1996; 66: 39-45.

6. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlkokulu Yenişehir ilkokulunda okudum. Ortaokul ve lise öğrenim hayatıma Diyarbakır Anadolu Lisesinde devam ettim. Tıp Fakültesini Çukurova Tıp Fakültesinde okudum. Mezun olduktan sonra mecburi hizmetimi Diyarbakır'da yaptım. Daha sonra Dicle Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda asistanlığa başladım. Oradan istifa ettikten sonra 2010'da yapılan Tıpta Uzmanlık Sınavı sonucu Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD'da araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu birimde çalışmaya devam etmekteyim.