

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

**TRİKLORETİLEN UYGULANAN RATLARIN OVER VE
UTERUS DOKULARINA BENFOTİAMİN'İN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Selçuk KAPLAN**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Alpaslan AKYOL**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Alpaslan AKYOL

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım ve uzmanlık tezimde büyük destek ve katkısı olan tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Alpaslan AKYOL'a,

Her konuda desteklerini esirgemeyen, deneyim ve yardımları ile bu alanda yetişmemde katkısı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK, Doç.Dr. Burçın KAVAK, Yrd. Doç.Dr. Remzi ATILGAN, Yrd. Doç. Dr. E. KAVAK, Y.Doç.Dr. Şehmuz Pala, Uzm.Dr. Şeyda Yavuzkır'a

Tezimin her aşamasında tasarım ve sürdürülmesi, materyal temini, preperat değerlendirilmesi, istatistik aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Tuncay Kuloğlu'na

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi 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 sevgili eşim ve biricik kızıma, değerli anneme, babama ve kardeşlerime,

Sonsuz teşekkür ederim.....

ÖZET

Trikloretilen (TCE) klorinli hidrokarbondur. Esas olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılmaktadır. TCE maruziyeti genellikle TCE ile kontamine suların kullanımı veya metal indirgeme işlemleri sırasındaki buharlaşma ile olmaktadır. TCE leke gidericilerde, yapıştırıcılarda, parke temizleme solüsyonlarında bulunduğundan dolayı ev içinde de bulunabilen zararlı bir maddedir. Yapılan bir çok çalışmada TCE nin böbrek, karaciğer, testis ve over dokuları üzerine toksik etkileri gösterilmiştir. Vitamin B1'in yağda çözünen hali benfotiamindir. Benfotiaminin reaktif oksijen türleri üzerinde baskılayıcı olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışma ile TCE uygulanan sıçanların over ve uterus dokularına benfotiamin'in etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 24 adet 8-10 haftalık Wistar albino cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney süresi olan 3 hafta boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı. TCE grubuna 1000 mg/kg/gün TCE oral olarak verildi. TCE+Benfotiamin grubuna 1000 mg/kg/gün TCE ile birlikte 70 mg/kg/gün Benfotiamin oral olarak uygulandı. Benfotiamin grubuna ise Benfotiamin 70 mg/kg/gün oral olarak verildi.

Deney süresi sonunda tüm gruptaki sıçanlar anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların over ve uterus dokuları hızla çıkarılıp uygun fiksatiflerle tespit edilip ardından histolojik takip serilerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınan doku kesitlerine Masson-Trikrom boyası yapılarak gruplar arası histopatolojik farklılıklar incelendi. Ayrıca bu kesitlere TUNEL tekniği uygulanarak apoptotik hücreler tespit edildi. Bununla birlikte over ve uterus dokularında Malondialdehid (MDA) seviyelerine bakılacağından dokular çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

Over dokusunda TCE grubunda MDA düzeyleri, apoptotik hücreler ve histopatolojik değişikliklerde belirgin olarak artış izlendi. TCE grubuyla kıyaslandığında ise TCE + Benfotiamin grubunda bu değişikliklerde azalmalar gözlemlendi. Uterus dokusunda ise TCE grubunda MDA düzeyleri azalmış gözlenirken TCE + Benfotiamin grubunda MDA düzeylerinde belirgin artış izlendi. Apoptotik hücreler için yapılan değerlendirmede gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Histopatolojik olarak uterusu TCE grubunda belirgin inflamatuvar hücre artışı izlenirken TCE + Benfotiamin grubunda bir değişiklik gözlenmedi.

Sonuç olarak; TCE'nin over dokusunda MDA, apoptotik hücreler ve histopatolojik değişiklikleri arttırdığı ve tedavi olarak verilen Benfotiamin bu değişikliklerde azalmalar yaptığı, uterus dokusunda ise TCE'nin sınırlı bazı değişikler yaptığı, gelecekte daha ileri ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Trikloretilen, Over, Uterus, Benfotiamin

ABSTRACT

'EFFECT OF BENFOTIAMINE ON OVARIAN AND UTERINE TISSUES OF RATS ADMINISTERED TRICHLOROETHYLENE'

Trichlorethylene (TCE) is a chlorinated hydrocarbone. Essentially it is used for reduction of metals. TCE exposure usually becomes the water is contaminated with TCE or evaporates methal reduction process. Because of TCE found in adhesives, for flooring cleaning solution, stain remover is a hazardous substance that can be found in the house. Many studies done by TCE showed its toxic effects on liver, kidney and ovarian tissues. Benfothiamin is vitamin B1's fat soluble form. Benfothiamin showed repressive effect on reactive oxygen metabolites.

The aim of this study was to investigate the effects of benfothiamin on ovarian and uterus 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. Nothing was given during the 3 weeks test period to control group. It was given 1000mg/kg/day TCE to TCE group, orally. It was given 1000mg/kg/day TCE and 70 mg/kg/day benfothiamin to TCE+Benfothiamin group, orally. It was given 70mg/kg/day benfothiamin to benfothiamin group, orally.

After the experimental period the all groups of rats were decapitated under anesthesia. After decapitation removed ovarian and uterus tissues were embedded into paraffin blocks by routine procedures for histologic evaluation. The tissue sections are received from paraffin blocks is stained with Masson Trichrome and examined the histopathologic changes in groups. Also TUNEL technic was applied to this section and established apoptotic cells. However over and uterine tissues is hold in -80 °C for measure MDA (malondialdehyd) levels.

Ovarian tissues in TCE groups showed significant increase MDA levels, apoptotic cells and histopathologic changes. Compared with TCE group in TCE+Benfothiamin group the changes showed decrease. In the uterine tissue, while MDA levels showed decrease in TCE group, MDA levels showed significant increase in TCE+ Benfothiamin group. There is no important different between

groups in evaluation of apoptotic cells. Histopathologically, while inflammatory cells increased in TCE group's uterus tissue, TCE+Benfothiamin group was no changes.

Consequently, TCE enhances MDA, apoptotic cells and histopathologic changes in over tissue and treatment of Benfothiamin reduces these changes. After all TCE has made limited changes in uterus, more advanced and extensive studies are needed to designate other effects.

Keywords: Trichlorethylene, Uterus, Over, Benfothiamin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel bilgiler	2
1.1.1. Uterus	2
1.1.1.1. Embriyolojisi	2
1.1.1.2. Anatomi	5
1.1.1.3. Histolojisi	7
1.1.1.4. Menstrual siklus	9
1.1.2. Overler	10
1.1.2.1. Over Anatomisi	10
1.1.2.2. Over Embriyolojisi	12
1.1.2.3. Over Histolojisi	13
1.1.2.5. Primordiyal Follikül Seçilimi (Primordiyal Follikülden Primer Folliküle Geçiş)	17
1.1.2.6. Primer Follikül	18
1.1.2.7. Sekonder Follikül	18
1.1.2.8. Antral (Graaf) Follikül	19
1.1.2.9. Folikül Atrezisi	20
1.1.2.10. Ovulasyon	20
1.1.2.11. Oogenez	20
1.1.2.12. Korpus Luteum	21
1.1.2.13. Over Rezervi	21
1.1.2.14. Over rezervini belirlemek için kullanılan testler;	23

1.2. Trikloretillen	27
1.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	27
1.2.2. Trikloretillen'in Metabolizması	30
1.2.3. Trikloretillen'in biyolojik dokulara etkileri	32
1.2.3.1. Benfotiamin	34
2. GEREÇ VE YÖNTEM	38
2.1. Malondialdehid (MDA) Çalışması	38
2.2. TUNEL Metodu	39
2.3. Histolojik Çalışma	40
2.4. İstatistiksel Analiz	41
3. BULGULAR	42
3.1. MDA Bulgular	42
3.2. TUNEL Bulgular	42
3.3. Histolojik Bulgular	48
4. TARTIŞMA	56
5. KAYNAKLAR	61
6. ÖZGEÇMİŞ	74

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. TUNEL Boyama Prosedürü.	40
Tablo 2. Histolojik takip serileri	41
Tablo 3. Doku MDA değerleri	42
Tablo 4. Apoptotik indeks (%)	43
Tablo 5. Over Dokusu Histoskor ve Over rezervi	48
Tablo 6. Uterus Dokusu Histoskor	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Primordial germ hücrelerinin primitif gonadlara göçü	3
Şekil 2.	Primordiyal germ hücrelerinin gonadal kabartıya yerleşmesi	3
Şekil 3.	Mezonefrik ve Paramezonefrik kanallar.	4
Şekil 4.	Uterusun anatomik görüntüsü.	6
Şekil 5.	İnsanda ovaryumun yerleşimi ve yapısı	11
Şekil 6.	Over anatomisi ve kanlanması	12
Şekil 7.	Ovaryumun histolojisi	15
Şekil 8.	Foliküler gelişim (Folikülogenez)	16
Şekil 9.	Primordiyal, primer ve sekonder follikülün morfolojik görünümü	18
Şekil 10.	Yaşla azalan follikül havuzu	23
Şekil 11.	TCE'nin kimyasal yapı formülü	27
Şekil 12.	TCE metabolizmasının 2 yolağı: glutatyon ile konjugasyon, P450 bağımlı oksidasyon.	31
Şekil 14.	Benfotiaminin kimyasal yapısı.	34
Şekil 15.	Kontrol grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler	43
Şekil 16.	Benfotiamin grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler	44
Şekil 17.	TCE grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler	44
Şekil 18.	TCE+ Benfotiamin grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler	45
Şekil 19.	Kontrol grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler	45
Şekil 20.	Benfotiamin grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler	46
Şekil 21.	TCE grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler	46
Şekil 22.	TCE+ Benfotiamin grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler	47
Şekil 23.	Pozitif kontrol. Meme dokusu TUNEL pozitif hücreler	47
Şekil 24.	Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	49
Şekil 25.	Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	49
Şekil 26.	Benfo grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	50
Şekil 27.	Benfo grubuna ait normal görünümlü over dokusu.	50
Şekil 28.	TCE grubuna ait over dokusu.	51
Şekil 29.	TCE grubuna ait over dokusu.	51
Şekil 30.	TCE+ Benfotiamin grubuna ait over dokusu.	52
Şekil 31.	TCE+ Benfotiamin grubuna ait over dokusu.	52

Şekil 32.	Kontrol grubuna ait normal görünümlü uterus dokusu.	53
Şekil 33.	Benfotiamin grubuna ait normal görünümlü uterus dokusu.	54
Şekil 34.	TCE grubuna ait uterus dokusu.	54
Şekil 35.	TCE+ Benfotiamin grubuna ait uterus dokusu.	55

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	: Trikloretilen, Klorinli hidrokarbon olan Trikloretilen
TGF-β	: Büyüme faktörü-beta

1. GİRİŞ

Trikloretilen (TCE) esas olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılan klorinli hidrokarbondur. Yağ, parafin, resin, kauçuk, selüloz esterleri, boya ve cilalar için kullanılmakta olan genel bir çözücüdür. Kısmen suda çözünebilen kısmen de uçucu olan TCE'ye yaygın kullanımından dolayı 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 TCE ile kontamine suların kullanımı veya metal indirgeme işlemleri sırasındaki buharlaşma ile olmaktadır. TCE leke gidericilerde, yapıştırıcılarda, parke temizleme solüsyonlarında bulunduğundan dolayı ev içinde de bulunabilen zararlı bir maddedir (1).

Çevresel ve endüstriyel bir kirletici olan TCE'nin deney hayvanlarında hepatotoksik etkisi kanıtlanmıştır. 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).

Trikloretilen nin karaciğer, böbrek, testis ve over dokuları üzerine toksik etkileri Triklloretilen ile yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (4-7).

Dişi ratlara yapılan çalışmalarda inhalasyon ve oral yolla TCE verilmiş olup TCE nin oosit fertilizasyonu azalttığı gösterilmiştir (1,8). TCE uygulanan ratların over dokularında yapılan deneysel çalışmalarda artmış CYP2E1(Sitokrom P450 2E1) aktivitesi saptanmış ve bundan dolayı ovaryan TCE metabolizmasının oksidatif CYP enzimi aracılığı yolu ile oluşabileceği ileri sürülmüştür (9).

Çevresel bir kirletici olan TCE maruziyetinin hem insan hem hayvan modellerinde otoimmunitiyi induklediği biliniyor (10).

Trikloretilen serbest radikal oluşturuyor olarak bilinsede nedeni artmış oksidatif stres ve otoimmun cevap induksiyonudur (11).

Hem insan hem hayvan çalışmalarında SLE, sistemik skleroz ve fasiitisi içeren otoimmun hastalıkların gelişmesinin TCE ile ilişkisi belgelenmiştir (12).

Benfotiamin; B1 vitamininin yağda eriyen türüdür. Normal suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, özel yağda çözülebilen B1 vitaminine ise benfotiamin denilir. Benfotiamin transketolaz aktivitesinde artışa neden olarak pentoz fosfat yolunu aktive eder. Bu yolağın aktive olmasıyla vasküler hasara oluşumuna neden sayılan heksosamin yolağı, hücre içi AGE oluşum yolu ve DAG/Protein kinaz C yollarının etkilerinin azalmasına sebebiyet verir (14).

Hayvan deneylerinde uygulanan yüksek doz tiamin ve benfotiamin kullanımının, hayvanlarda transketolaz aktivitesinde artışa ve bununla birlikte albuminüri düzeyinde azalmaya neden olmuştur (15).

Tiamin kökenli birleşimlerin eşsiz kaynaklarından biri olan Benfotiamin, allitiamin olarak isimlendirilen, soğan, taze soğan, kızarmış veya ezilmiş sarımsakta ve pırasa gibi sebzelerde eser miktarda bulunur. (13)

1.1. Genel bilgiler

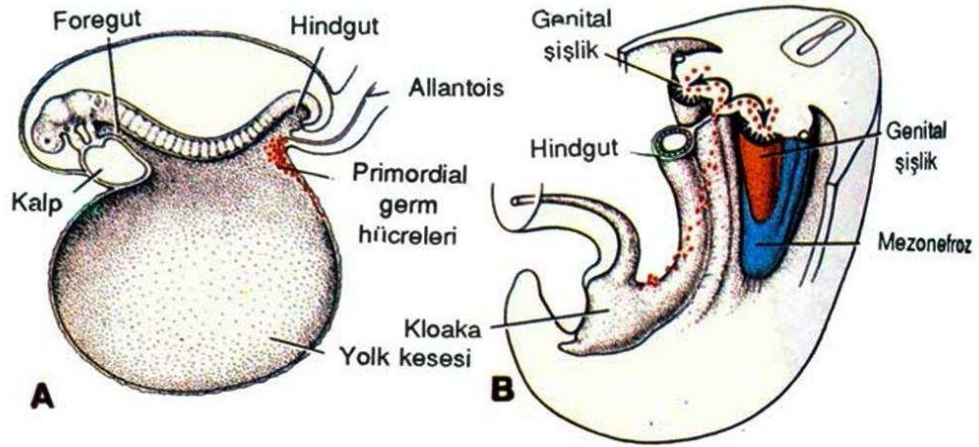
1.1.1.Uterus

1.1.1.1. Embriyolojisi

Genetik açıdan embriyonun cinsiyeti, daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gonadlar gelişimin 7. haftasına kadar erkek veya dişi morfolojik özelliklerine sahip değildir.

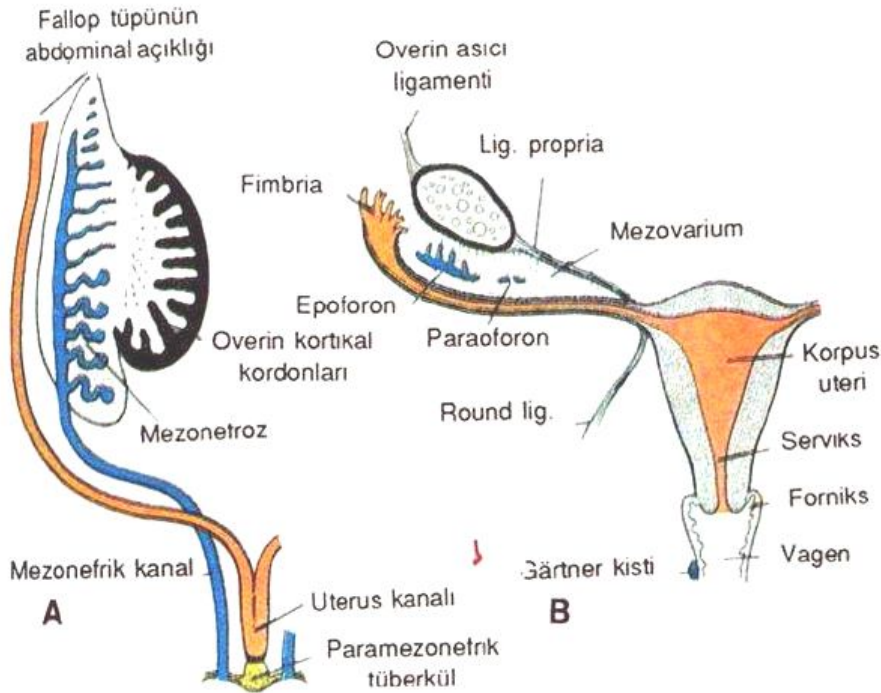
Gonadlar başlangıçta bir çift uzunlamasına, sölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş genital veya gonadal kabarıklık halinde belirirler. Genital kabarıklıklar içinde gelişimin 6. haftasına kadar germ hücreleri mevcut değildir.

İnsan embriyosunda gelişimin erken evrelerinde, primordiyal germ hücreleri, yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirirler. Ameboid hareketlerle, son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır (Şekil 1) ve 6. haftada da genital kabarıklıkları işgal ederler. Kabarıklıklara ulaşmadıkları takdirde, gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farkanmasında, primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır (16).



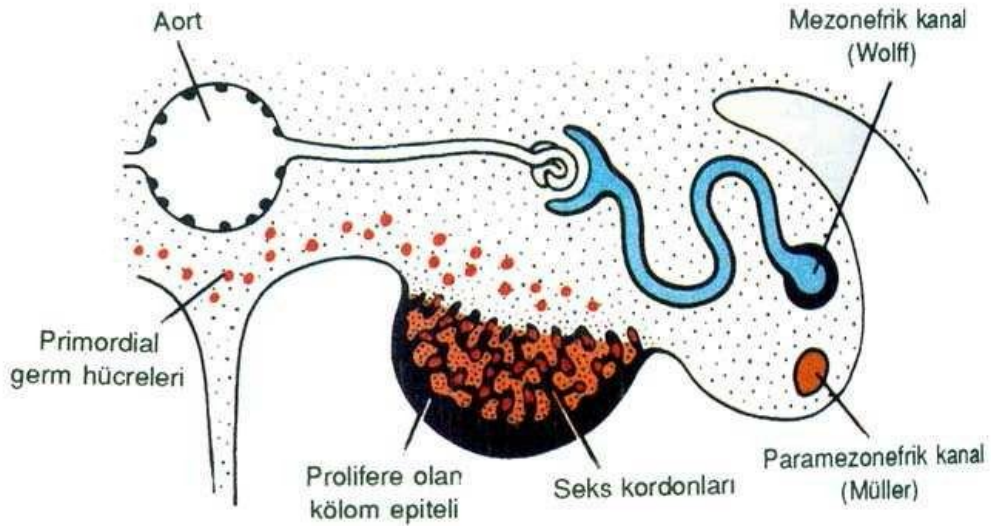
Şekil 1. Primordial germ hücrelerinin primitif gonadlara göçü

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabarıklığın sölomik epiteli proliferer olur ve epitel hücreleri, altındaki mezenşim içine girerler (Şekil 2). Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Hem erkek, hem de dişi embriyolarında bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. İşte bu devredeki gonad, farklanmamış gonad olarak bilinir (16).



Şekil 2. Primordiyal germ hücrelerinin gonadal kabartıya yerleşmesi

Hem erkek, hem de dişi embriyoda başlangıçta iki çift genital kanal vardır. Mezonefrik kanallar ve paramezonefrik kanallar (Şekil 3). Paramezonefrik kanal, ürogenital kabarıklığın anterolateral yüzeyindeki sölomik epitelin uzunlamasına bir invajinasyonu halinde belirir. Kanal, kranial uçtan sölomik boşluk içine huni şeklinde bir yapıyla açılır. Kaudal yönde de, önce mezonefrik kanalın lateralinde seyrederek ve onu çaprazladıktan sonra kaudomedial yönde gelişmeye devam eder. Orta hatta paramezonefrik kanala aksi yönden yaklaşır. Başlangıçta bir septumla birbirinden ayrılmış olan bu iki kanal, daha sonra birleşerek uterus kanalını oluşturur. Birleşmiş olan kanalların kaudal ucu, ürogenital sinusun arka duvarına doğru ilerleyerek paramezonefrik veya müllerian tüberkül denilen küçük bir şişliği meydana getirirler. Mezonefrik kanallar, ürogenital sinusa müllerian tüberkülün her iki yanından açılırlar (16).



Şekil 3. Mezonefrik ve Paramezonefrik kanallar.

Dişide ana genital kanalları, paramezonefrik kanallar oluşturur. Başlangıçta her bir kanalda üç kısım tanımlanabilir.

- Sölomik boşluğa açılan kranial vertikal bir kısım,
- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal bir kısım
- Karşı taraftaki eşiyile birleşen kaudal vertikal bir kısım

Overlerin inişiyile, ilk iki kısımdan uterus tüpleri gelişir ve kaudal kısımlar da uterus kanalını oluşturmak üzere kaynaşır. Paramezonefrik kanalın ikinci kısmı mediokaudal yönde hareket ettiğinden, ürogenital kabarıklıklar giderek daha transvers bir düzleme gelmeye başlarlar. Kanallar orta hatta birleştikten sonra,

geniş bir transvers pelvik katlantı oluşur. Kaynaşmış haldeki paramezonefrik kanalların lateralinden, pelvis duvarına kadar uzanan bu katlantıya uterusun broad ligamenti denir. Bu ligamentin üst sınırında uterus tüpleri, arka yüzünde de overler yer alır. Uterus ve broad ligamentler, pelvisi uterorektal poş ve uterovezikal poşolarak ikiye böler. Kaynaşan paramezonefrik kanallardan uterusun korpusu ve serviksi gelişir. Bunlar, uterusun muskuler tabakasını (miyometriyum), ve peritoneal örtüsünü (perimetriyum), meydana getiren bir mezenşim tabakasıyla sarılmış haldedir (16).

1.1.1.2. Anatomi

Uterus pelvis boşluğunda, mesane arkasında rektumun ve vaginanın önünde yer alan, kas dokusu ağırlıklı bir organdır. Yaş ve hormonal duruma göre uterus boyutları farklılık gösterir. Yenidoğanda maternal ve plasental östrojen uyarısına bağlı olarak çocukluk dönemine göre uterus daha büyük olup, yapılan ultrasonografik çalışmalarda yenidoğanın uterus uzunluğu yaklaşık 4.6 cm olarak bildirilmiştir (17). Yaşamın ilk aylarında uterus uzunluğu 2.5 cm'e regrese olup, puberteye doğru tekrar artış gösterir (18, 19). Erişkin nulliparlarda 8 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığında olup 30-40 gram ağırlığındadır. Doğum yapmışlarda ise bu ölçülerde biraz artış görülür (20).

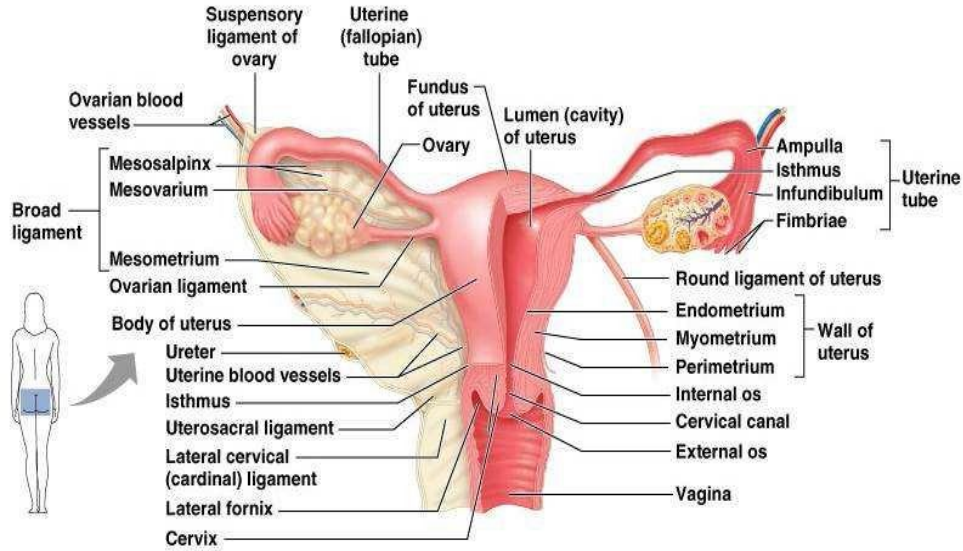
Uterus anatomik olarak fundus, korpus, istmus ve serviks olmak üzere dört bölümde incelenir (21, 22).

Fundus, uterusun en üst kısmı olup tuba uterinaların uterusu açıldıkları seviyenin üzerinde kalan bölümüdür. Korpus, uterusun asıl parçası olup tuba uterinaların uterusu açıldıkları seviyeden istmusa kadar uzanır. Istmus 0.5 cm uzunlukta olup serviks ile korpus arasında kalan bölümdür. Serviks, vagina ön duvarında sonlanan uterusun en alt parçasıdır. Serviks, vagina duvarının altında kalan portio vaginalis ve vagina duvarının üzerinde kalan portio supravaginalis olarak iki bölüme ayrılır (20).

Uterus içindeki boşluk kavum uteri adını alır. Boşluk koronal kesitte üçgen, sagittal kesitte ise bir yarık şeklindedir. Kavum uteri yukarıda tuba uterinalar aracılığı ile periton boşluğuna, aşağıda servikal kanal aracılığıyla da vaginaya açılır. Servikal kanalın uterus kavitesine açılan kısmı internal orifis, vaginaya açılan kısmı ise eksternal orifis adını alır. Uterus, önde uterovesikal çıkmazla mesaneyle, arkada

ise Douglas çıkması ile ileum veya kolon ile komşuluk gösterir. Yanlarda ligamentum latum uteri, uterin arter, uterin ven ve üreterler ile komşuluk yapar (23).

Uterusu yerinde tutan beş adet bağ bulunmaktadır. Ligamentum latum uteri uterusu çepeçevre saran peritondan oluşur. Uterusu pelvis yan duvarlarına bağlayıp pariyetal periton ile devam eder (Şekil 4). Periton ile diafragma pelvis arasında bağ dokusunun doldurduğu parametrium bulunur. Ligamentum rotundum uterusun yan köşelerinden başlayıp inguinal kanal yolu ile labium majusun subkutan dokusuna karışır. Ligamentum kardinale serviks ve vaginanın üst kısmını pelvis lateral duvarlarına bağlayan pelvik fasyanın bir fibromuskuler yoğunluğudur. Ligamentum uterosakrale serviks ile sakrum üzerindeki fasya arasında uzanan iki fibromuskuler dokudur. Ligamentum puboservikale uterusu alttan destekler (20).



Şekil 4. Uterusun anatomik görüntüsü.

Uterus iki taraflı olarak internal iliak arterlerden gelen uterin arterlerle beslenir. Uterin arter vaginal arter ile anastomoz yapan desenden ve ovarial arter ile anastomoz yapan asendan dallarına ayrılır. Uterin ven, arterleri takip ederek internal iliak vene dökülür. Fundusun lenfatikleri ovarial arter boyunca giderek birinci lumbal vertebra hizasında paraaortik nodüllere dökülür. Korpus ve serviksin lenfatikleri ise internal ve eksternal iliak lenf nodüllerine dökülür. Bazı lenf damarları da ligamentum rotundum boyunca ilerleyerek inguinal süperfisyal lenf nodüllerine dökülür. Uterusun sempatik lifleri T12 ve L1'den, parasempatik lifleri de S2, S3 ve S4'den gelir (20).

1.1.1.3. Histolojisi

Uterus armut şeklinde bir organ olup, bir gövde (korpus), aşağıda uterus kavitesinin daraldığı internal orifis ile iç ağızdan aşağıya doğru uzanan silindirik bir yapı olan serviksten oluşur. Uterus gövdesinin tuba uterinaların uterus korpusuna girdiği, kubbe biçimli kısmına fundus ismi verilir.

Uterus duvarı nispeten kalındır ve üç katmandan oluşur. Dışta, uterusun farklı bölümlerine göre ya seroza (bağ dokusu ve mezotel) ya da adventisya (bağ dokusu) yer alır, bu tabaka uterusu perimetriyum olarak adlandırılır. Bunun altında ise kalın bir düz kas tabakası olan miyometriyum ve en içte endometriyum ya da uterus mukozası bulunur (Şekil 4).

Endometriyum, epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propriadan oluşur. Bezler myometriyuma yakın alt bölümlerinde bazen dallanmalar gösterir. Endometriyum epiteli tek katlı silyalı ve salgılayıcı prizmatik epiteldir. Uterus bezlerinin epiteli yüzey epiteline benzese de, bezlerde silyalı hücreler çok azdır.

Lamina propriada bağ dokusu fibroblastlardan zengindir ve bol miktarda ara madde içerir. Bağ dokusu lifleri çoğunlukla tip üç kollajenden oluşmuştur.

Endometriyum tabakası iki bölüme ayrılabilir. Stratum bazale; miyometriyuma komşu olan en alttaki bölümdür ve endometriyumun tekrar oluşması için yeni bir epitel ile lamina propriayı sağlar. Stratum bazale içinde bulunan uterus bezlerinin tabanları, bölünen hücrelerin kaynağıdır. Çoğalan bu hücreler, endometriyumun genişlemiş bağ dokusu içine göç ederler bundan dolayıdır ki, menstruasyondan sonra uterusun yeni epitelini sağlarlar. Stratum fonksiyonale; lamina propria ve bezlerin geri kalanı ve yüzey epitelini içerir. Stratum fonksiyonale her menstrual siklus esnasında menstruasyonla dökülen ve tekrar yenilenen kısmı teşkil eder. Endometriyumu besleyen kan damarları bu tabakanın büyük bir bölümünün periyodik olarak dökülmesinde özel bir öneme sahiptir. Arkuat arterler miyometriyumun orta tabakalarında dairesel olarak yerleşmiştir. Bu damarlardan endometriyumu besleyen iki grup damar çıkar. Bunlar, stratum bazaleyi besleyen düz arterler ve stratum fonksiyonale kan taşıyan kıvrımlı spiral arterlerdir.

Miyometriyum bağ dokusu ile ayrılmış düz kas demetlerinden oluşan uterusun en kalın tabakasıdır. Düz kas demetleri sınırları iyi belirlenemeyen üç

tabaka oluşturur. Dıştaki ve içteki tabaka esas olarak longitudinal, yani organın uzun eksenine paralel yerleşmiş liflerden oluşur. Orta tabaka ise sirküler yani dairesel olarak yerleşmiş liflerden oluşur ve daha büyük kan damarları içerir.

Gebelik sırasında, miyometriyum hem hiperplazi hem de hipertrofi sonucu çok büyür. Gebelik sırasında pek çok düz kas hücresi protein salgısı yapan hücrelerin ince yapı özelliklerini gösterir ve aktif olarak kollajen sentezler. Böylece uterusun kollajen içeriği önemli ölçüde artar. Gebelik sonrasında, bazı düz kas hücrelerinde bozulmalar görülür, bazılarının boyutları azalır ve kollajen enzim etkisiyle yıkılır. Böylece uterusun boyutları gebelik öncesindeki yakın ölçülere iner (24).

Perimetriyum ise uterusun en dışında yer alır. Uterusun ön ve arka bölümünün büyük kısmı seroza ile örtülüdür ve retroperitonealdir. Periton serviksin üst bölümünde sonlanır, geri kalan kısmında adventisya bulunur.

Serviks uteri, uterusun alttaki silindirik kısmıdır ve histolojik olarak uterusun geri kalan kısmından farklıdır. Yüzeyde mukus salgısı yapan tek katlı prizmatik epitel bulunur. Serviks az sayıda düz kas lifi içerir ve esas olarak sıkı bağ dokusundan oluşur. Vagina lümenine doğru çıkıntı yapan serviksin dış kısmı ise çok katlı yassı epitel ile örtülüdür.

Serviks mukozası oldukça dallanmış, müköz servikal bezler içerir. Bu mukoza menstruasyon esnasında dökülmemesine rağmen, bezleri menstruasyon siklusunu esnasında yapısal küçük değişikliklere uğrar. Bu bez kanalları tıkanıp zaman zaman biriken sekresyon Nabothian kistlerini oluşturan bir şişmeye sebep olur. Gebelik esnasında, servikal müköz bezler çoğalarak daha koyu ve bol müköz salgı yaparlar.

Servikal salgılar oositin döllenenmesinde önemli bir rol oynar. Ovulasyon sırasında müköz salgı sıvı ve spermin uterusu girmesine olanak sağlar. Luteal fazda ya da gebelikte, progesteron düzeyleri müköz salgının karakterini değiştirerek daha visköz bir hal almasına neden olur ve böylece uterus gövdesine spermlerin ve mikroorganizmaların geçişi engellenir. Doğumdan önce servikste görülen genişleme ise, şiddetli kollajenolizise ve bunun yol açtığı yumuşamaya bağlıdır (24).

1.1.1.4. Menstrual siklus

Hipofizin anterior lobunun uyarısı altında olan östrojen ve progesteron dışı üreme sisteminin organlarını kontrol ederler. Epitel hücrelerinin ve bağ dokusunun çoğalması ve farklılaşması bu hormonların etkisiyle gerçekleşir. Menopozdan sonra bu hormonların sentezinde görülen azalma, üreme organlarında genel bir gerilemeye neden olur.

Puberte sonrasında, hipofizin ön lobunun uyarısıyla ovaryum hormonları menstrüel siklus sırasında endometriyumun döngüsel yapısal değişiklikler geçirmesine neden olur. Menstrüel siklus süresi ortalama 28 gün olmakla birlikte değişkenlik gösterir. Menstrual siklus genellikle 12-15 yaşlar arasında başlar ve 45-50 yaşına kadar devam eder. Döngüler, oosit üretimi ile ilişkili ovaryumda oluşan değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıktığından, dışı sadece menstruasyon gördüğü yıllar boyunca doğurgandır. Menstrual siklus proliferasyon, sekresyon ve menstrual evrelere sahip olarak kabul edilir. Siklus esnasında meydana gelen yapısal değişiklikler geçicidir.

Proliferatif faz; Östrojenler endometriyum üzerinde etki ederek hücre çoğalmasına yol açar ve menstruasyon sırasında kaybedilen endometriyumun yeniden oluşmasını sağlar. Yenilenme fazı sırasında endometriyum tek katlı prizmatik epitel ile kaplıdır. Tek katlı prizmatik epitelden oluşan bezler, dar lümenli düz tübüller oluşturur. Bu hücrelerde salgılama aktivitesine hazırlık olarak, granüllü endoplazmik retikulum (GER) sisternalarının sayısı ve golgi kompleksi boyutları giderek artar. Yenilenme fazı sonunda endometriyum 2-3 mm kalınlığa ulaşır.

Sekretuar faz; ovulasyondan sonra, korpus luteum tarafından salgılanan progesteronun etkisiyle başlar. Progesteron, östrojenin etkisi ile gelişmiş olan bezler üzerinde etki göstererek bezleri daha da uyarır. Epitel hücreleri çekirdeğin altında glikojen depolamaya başlar. Daha sonra glikojen miktarı azalır ve glikoprotein salgı ürünleri bezlerin lümenini genişletir. Bu fazın önemli özelliklerinden biri bezlerin son derece kıvrımlı bir hale gelmesidir. Bu fazda endometriyum, salgıların birikmesi ve stromadaki ödem sonucu maksimum kalınlığa (5 mm) ulaşır. Sekretuar faz sırasında mitoz bölünmeler enderdir.

Döllenme gerçekleşirse, embriyo uterusu taşınır ve ovulasyondan yaklaşık 7-8 gün sonra salgılama evresinde bulunan uterus epiteline tutunur. Uterus bezlerinin salgısının, implantasyondan önce embriyonun gereksinimleri için başlıca beslenme kaynağını oluşturduğu düşünülmektedir. Progesteron miyometriyumun düz kas hücrelerinde kasılmaları baskılar, yoksa embriyonun implantasyonu tehlikeye girebilir.

Menstruasyon fazı; oositin döllenmesi ve embriyonun tutunması gerçekleşmediği zaman, korpus luteumun işlevi yaklaşık 14 gün sonra sona erer. Bunun sonucunda kandaki progesteron ve östrojen düzeyleri hızla düşer. Bu spiral arterlerde kasılmalara neden olur, kan akımı engellenir ve oluşan iskemi damar duvarının ve endometriyumun işlevsel tabakasının bir kısmının nekrozuna neden olur. Kasılmaların yukarısında bulunan kan damarları yırtılır ve kanama başlar. Endometriyumun işlevsel tabakasının bir kısmı ayrılır ve endometriyumun geri kalanı, interstisyel sıvı kaybına bağlı olarak büzülür. Menstruasyon siklusu sonunda endometriyum genellikle ince bir tabaka haline gelir. Hücreleri, mukozayı yeniden oluşturmak üzere bölünmeye başlar ve endometriyum yeni bir sıklusa hazır hale gelir.

İmplantasyon gerçekleşirse embriyonik trofoblast hücreleri human koryonik gonadotropin (HCG) üretmeye başlar ve bu hormon korpus luteumu progesteron salgılamayı sürdürmesi için uyarır. Gebelik oluştuğunda menstruasyon gelişmez ve gebelik boyunca menstrual siklus ertelenir. Progesteron uterus bezlerini daha geniş, daha kıvrımlı ve sekretuar faza göre daha fazla salgı üretebilir hale getirir (25).

1.1.2. Overler

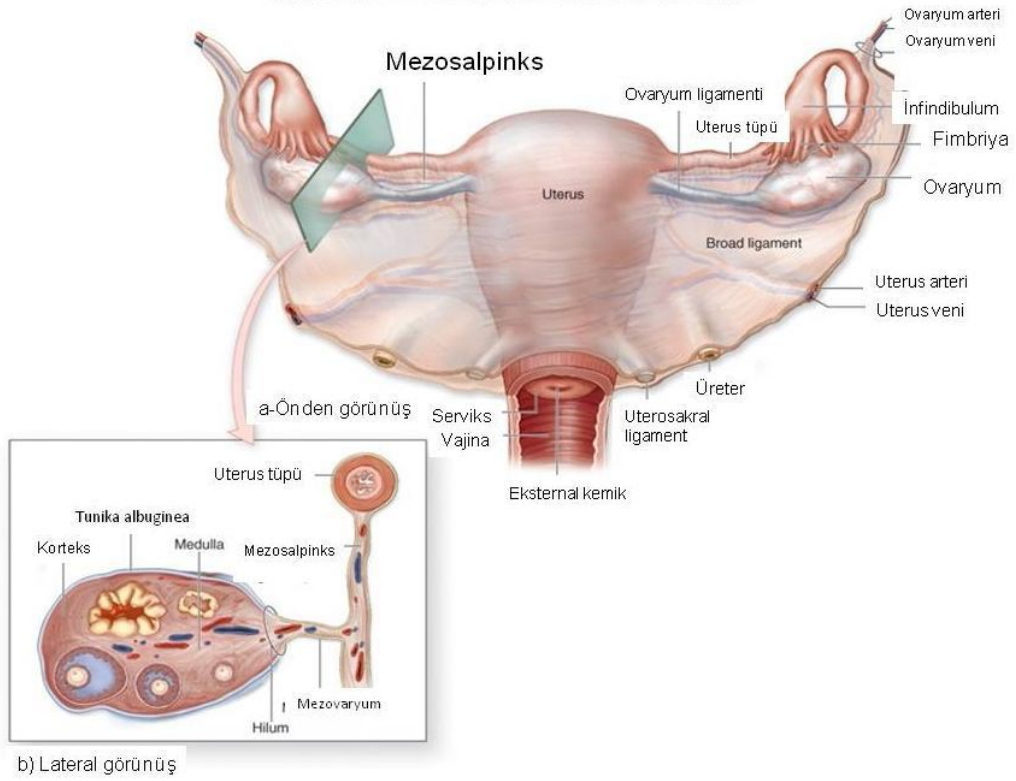
1.1.2.1. Over Anatomisi

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

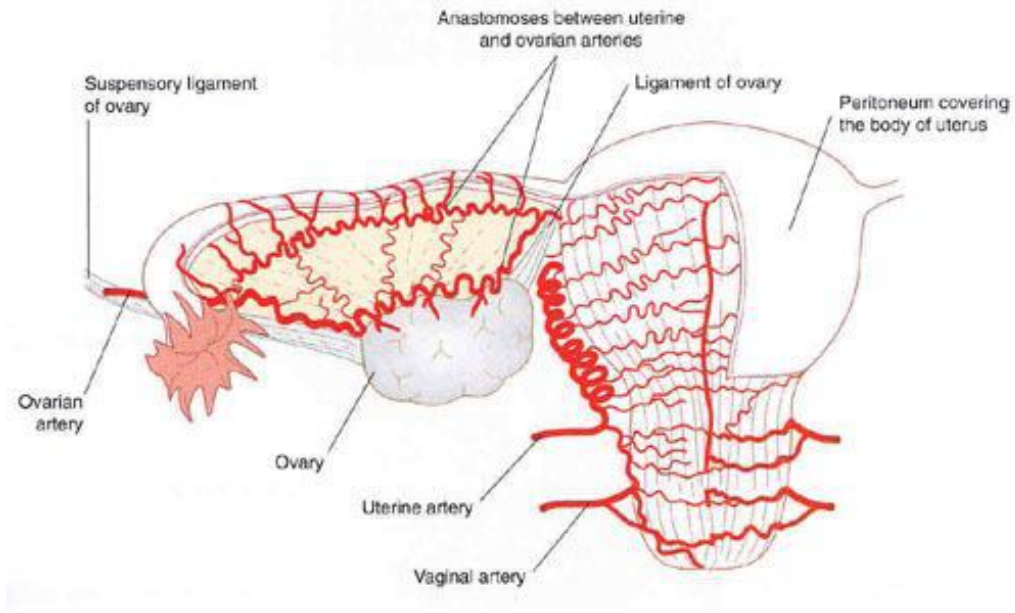
Medulla, fibromüsküler tabaka ile kan damarlarını içeren küçük bir alan olan hiler bölgede yer alır. Overler, arteria ovaricadan beslenir (26).

Aortanın bir dalı olan arteria ovarica, infundibulopelvik ligament üzerinden overin mezoovaryal sınırında arteria uterinanın ovaryan dalı ile anastomoz yapar ve buradan çıkan yaklaşık 10 arterial dal ile medullaya over hilusundan girer (Şekil 5) (27-30).

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 (27).



Şekil 5. İnsanda ovaryumun yerleşimi ve yapısı (31)



Şekil 6. Over anatomisi ve kanlanması (31)

1.1.2.2. Over Embriyolojisi

Kompleks bir süreç olan cinsiyetin farklanmasının bir kısmında otozomal olmak üzere çok sayıda geni içerir. Testis belirleyici faktör genini taşıyan Y kromozomu anahtar rol oynar. Bu faktörün varlığı veya yokluğu gonadal farklanma üzerinde 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 (23).

Fertilizasyon aşamasında genetik açıdan daha embriyonun cinsiyeti belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadların dişi veya erkek morfolojik özellikleri yoktur (32).

Çöломik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşan, gonadlar bir çift gonadal kabarıklık şeklinde oluşurlar. Gelişimin erken evrelerinde, primordiyal germ hücreleri yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında gelişir. Barsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketler yaparak ilerleyerek primitif gonadlara 5. haftanın başında ulaşır ve genital kabarıklıkları da 6. haftada işgal ederler. Germ hücreleri gelişimin 6. haftasına kadar genital kabarıklıklar içinde bulunmaz.

Gonadların over veya testise farklanmasında, primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır ve genital kabarıklığa ulaşamazlarsa, gonadlar gelişemez (333).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşılmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabarıklığın çöломik 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 bağlıdır. Farklılanmamış gonad olarak bilinen bu dönemdeki erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir (33).

Başlangıçta çöлом epitelinden mezenşim içine uzanan primer seks kordonları farklılanmamış gonadın korteksinde, bulunur (34).

Primitif cinsiyet kordonları, XX cinsiyet kromozomuna sahip dişi embriyolarda düzensiz hücre kümelerine ayrılır. Bunlar, daha çok overin medullar bölgesinde yerleşir ve sonradan, kaybolarak yerlerini over medüllasını 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 yüzeye yakın kalmayı sürdüren, kortikal kordonlar denen ikinci nesil kordonlar meydana gelir.

Bu kordonlar dördüncü ayda, bir veya daha çok sayıdaki primitif germ hücrelerini saran izole hücre topluluklarına ayrılır. Zamanla bu germ hücreleri oogoniaya dönüşürken, yüzey epitelinden aşağıya göçer ve germ hücrelerini saran epitel hücrelerinden de follüküler hücreler oluşur. Cinsiyet spermatozitin X veya Y kromozomu taşıyıp taşıymasına 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 (33).

1.1.2.3. Over Histolojisi

Overlerin, gametlerin üretilmesi (gametogenez) ve steroid yapıdaki hormonların (östrojen ve progesteron) sentezlenip salgılanması olmak üzere başlıca iki önemli fizyolojik görevi vardır. Kadınlar puberteden itibaren, üreme çağı boyunca

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. Hipofizde üretilen ve overler üzerine etkili iki hormonun salınmasını GnRH uyarır. Bunlar; ovulasyonu tetikleyen, follikül hücreleri ve korpus luteumu uyararak progesteron üretimini sağlayan Luteinleştirici hormon (LH) ve over folikülünün gelişimini ve folikül hücrelerinden östrojen salınımını uyan Follikül stimüle eden hormon (FSH) 'dur. (33, 35).

Overlerin yüzeyindeki germinal epitel gençlerde tek katlı kübik, ileri yaşlarda ise tek katlı yassı epitelden oluşur. Çoğu histolojik preparatlarda germinal epitel kolaylıkla döküldüğünden ya bir bölümü görülür ya da hiç görülmez. Germinal epitel ultrastrüktürel olarak incelendiğinde peritona benzer. Germinal epitel hücrelerinde glikojen, epidermal büyüme faktörleri, mukopolisakkaritler, progesteron ve östrojen reseptörleri bulunur (24, 25, 28, 34, 36-38,).

Germinal kök hücreleri, germinal epitel içinde bulunur. Büyük, oval şekilli ve mitotik olarak aktiftir ve ayrıca oosit ve onu çevreleyen granüloza hücrelerinin bipotent kaynağıdır (39, 40).

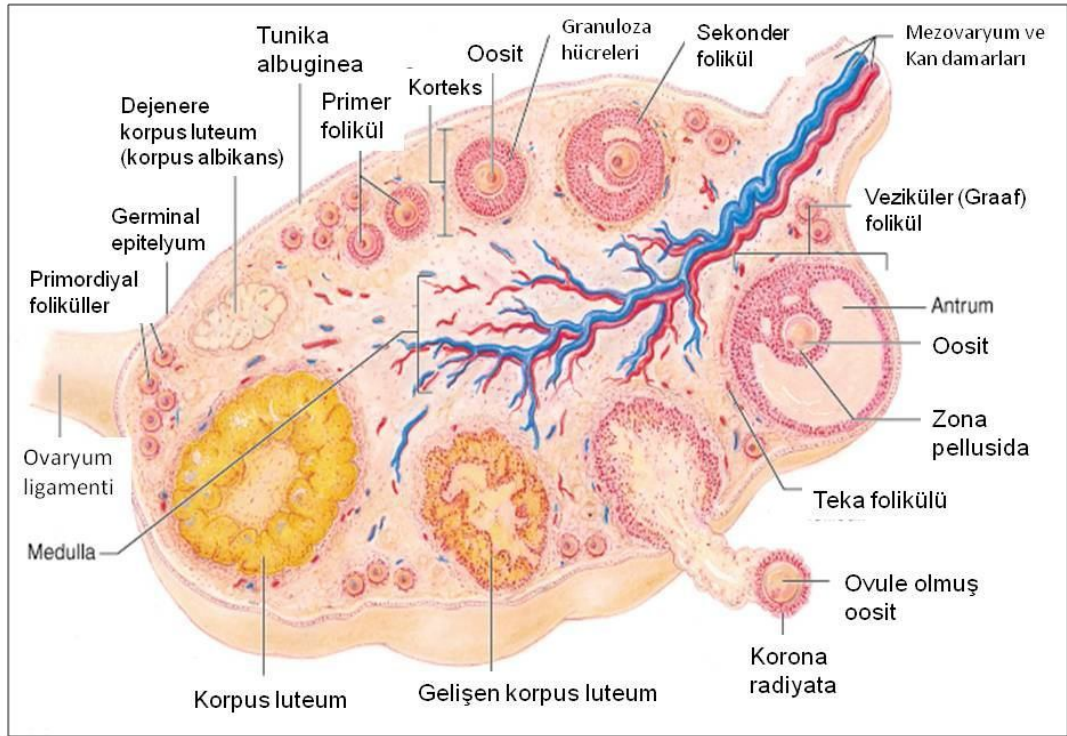
Tunika albuginea, germinal epitelin hemen altında zayıf olarak damarlanmış, kollajen fibrilleri over yüzeyine paralel yerleşen ve yoğun, düzensiz bağ dokusudur. Makroskobik olarak, overlerin pembemsi-gri renkte görünmesi bu tabakadan dolaydır. Tunika albuginea ileri yaşlarda gençlere göre daha kalındır (24, 34-36, 41)

Over kesitlerinde içte medulla (substantia medullaris), dışta korteks (substantia corticalis) görülür. Bu iki tabaka arasında kesin bir sınır yoktur (24, 36, 37, 42-44).

Gelişimin farklı evrelerinde olan foliküller overin korteksinde 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 (38, 43, 45, 46).

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 (36, 38, 43, 44).

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 interstisiyel ve hilus hücreleri de bulunur. Foliküllerin atreziye uğramasından sonra teka interna hücreleri tek tek ya da gruplar halinde kalır ve interstisiyel hücreler ya da bezler oluşur. İnsanda menstruasyondan önce bazı interstisiyel hücreleri östrojen veya progesteron salgılar. İlk menstruasyonda interstisiyel 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 (24, 28, 36, 38, 43, 44)

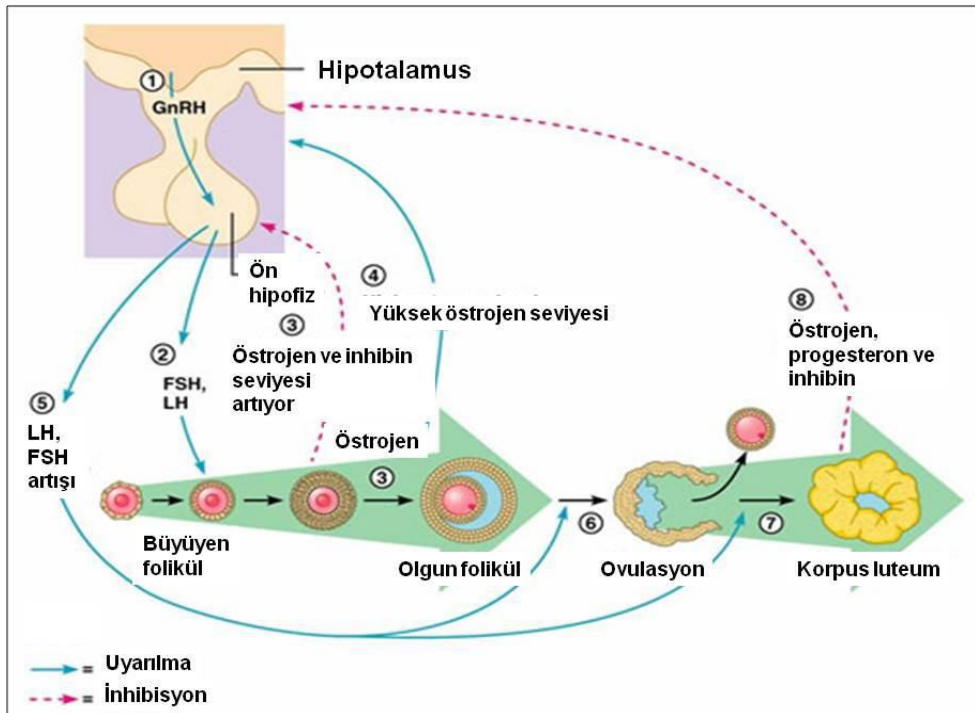


Şekil 7. Ovaryumun histolojisi (47)

1.1.2.4. Folliküler Gelişim (Folikülogenez)

Overin korteks tabakasında follikülogenez meydana gelir. Dişi germ hücreleri, overlerin farklılaşmasının ardından 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 çoğalırlar (48).

Folikülogenez, 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 gonodotropinden 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 burda 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 (49).



Şekil 8. Folliküler gelişim (Folikülogenez) (50)

Hücre proliferasyonu ve farklılaşması nedeni ile follikülogenez, üst düzey bir organizasyon niteliğindedir. Follikülogenezin dört büyük gelişim evresi vardır:

1. Primordiyal follikül seçilimi,
2. Preantral follikül gelişimi,
3. Antral (Graaf) follikül gelişimi ve seçimi,
4. Follikül atrezisi (49)

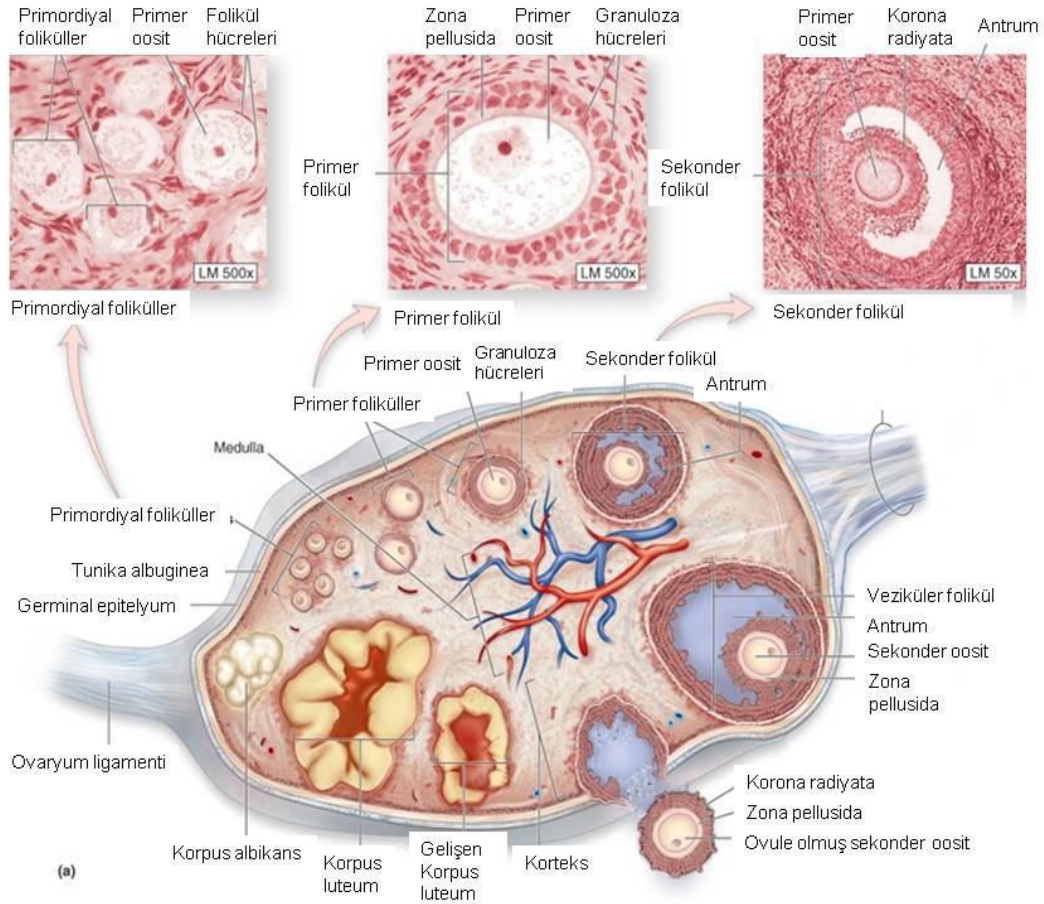
1.1.2.5. Primordiyal Follikül Seçilimi (Primordiyal Follikülden Primer Folliküle Geçiş)

Primordiyal folliküller overin temel reproduktif birimleridir. Seçilim veya primordiyal follikülden primer folliküle geçiş, gelişim sırasında duraklamış olan primordiyal follikülün büyüyen folliküllerin olduğu havuza girmesi 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 direk olarak temas etmezler. Primordiyal folliküller bağımsız bir kanlanmaları olmadığından endokrin sistemden daha sınırlı olarak etkilenirler (49).

Follikül hücrelerinin mitotik fonksiyon kazanması ve şekillerini yassı epitelden küboidal epitele dönüştürmeleri, follikül seçiliminin histolojik göstergesi olarak gösterilir. (Şekil 9). Bunu gen aktivasyonu ve oositin gelişimi izler. Memelilerde seçilimi pozitif veya negatif yönde etkileyen faktörler, granuloza hücresi kaynaklı kit-ligand ve yüksek pitüiter FSH düzeyi gibi aktivatörler, teka hücresi kaynaklı Bone Morphogenic Protein (BMP) ve Mullerian Inhibition Substance (MIS) gibi inhibitörlerdir. Kadında follikül seçiliminin nasıl kontrol edildiği ile ilgili henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır (49).



Şekil 9. Primordiyal, primer ve sekonder follikülün morfolojik görünümü (51)

1.1.2.6. Primer Follikül

Primer follikül, primer oosit ve onun etrafında dizilen tek katlı küboidal follikül hücrelerinden oluşur. FSH reseptörü ekspresyonu ve oosit büyümesi ve farklılaşması gibi major olaylar primer follikülde meydana gelir. Primer follikül unilaminar ve multilaminar olmak üzere ikiye ayrılır. Unilaminar primer follikülde, oosit etrafında tek sıralı follikül hücreleri bulunurken, multilaminar primer follikülde, follikül hücreleri oosit etrafında en az 2 ve daha fazla sayıda sıra meydana getirirler (49).

1.1.2.7. Sekonder Follikül

Follikülün yapısı preantral follikül gelişimi sırasında değişmeye başlar. Sekonder follikül gelişimi sırasında büyük değişiklikler gözlenir. Sayıca artış gösteren follikül hücrelerine granuloza hücresi denir. Sekonder follikülün oluşumu ile bazal lamina çevresinde stroma hücresi benzeri, teka hücresi adı verilen hücreler meydana gelir. Primer follikülden tam gelişmiş bir sekonder follikül gelişiminde

otokrin ve parakrin etki gösteren ve oosit tarafından üretilen büyüme faktörleri etkilidir. Sekonder follikülün gelişiminin devam etmesi ile teka interna ve teka eksterna olarak adlandırılan iki primer teka tabakası meydana gelir. Teka internanın hücreleri tamamen farklılaşıp granuloza hücre tabakasına taşınan bir steroid hormon olan androstenedionu üretirler. FSH hormonu etkisi ile granuloza hücreleri de androstenedionu östrojene çeviren aromataz enzimini sentez ederler. Folikülü 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 (52).

İçteki teka interna tabakası interstisyel hücrelere ve teka eksterna tabakası düz kas hücrelerine dönüşür. Teka tabakalarının gelişmesi ile çok sayıda küçük damar yapıları da anjiyogenez yolu ile gelişir. Folikül çevresi kan dolaşımı başlar ve bu sayede; gonadotropinlerin ve besinlerin buraya taşınması, atıklar ve sekrete edilen maddelerin buradan uzaklaştırılması sağlanır (Şekil 5), (49, 52)

Oosit genomu preantral gelişim süresince tekrardan aktive olur ve oosit büyümeye başlar. Oositin büyüme ve farklılaşmasında, bazı oosit mRNA'larının genetik okunması ile meydana gelen proteinler etkilidirler. Örneğin zona pellusida (ZP) proteinlerini kodlayan ZP-1, ZP-2, ZP-3 ve ZP-4 genlerinin aktivasyonu ile sekrete edilen ZP proteinleri, etrafında oositi korumak için bir tabaka meydana getirirler (48).

1.1.2.8. Antral (Graaf) Follikül

Granuloza hücrelerinin sayısı ve büyüklüğünde artış; folliküler gelişim devam ederken, FSH hormonu salgılanması sonucu, meydana gelir. Bu sırada hyaluronik asitten zengin bir sıvı follikül içerisinde granuloza hücreleri arasında oluşan boşluklarda birikmeye başlar. Bu aşamadaki folliküle preantral follikül adı verilir. Follikül içerisinde bu biriken sıvı arttıkça 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.

Tersiyer veya graaf follikül olgunlaşma aşamasındaki folliküle denir. Teka interna tabakası, kan damarı bakımından zengindir, graaf follikülünü çevreler ve steroid salgısı yapar. Teka eksterna tabakası ise destek görevi görür ve ovaryan stroma ile yakın ilişkidir (Şekil 9) (48, 49).

1.1.2.9. Folikül Atrezisi

Foliküler atrezi, gelişmekte olan bir follikülün, gelişiminin herhangi bir döneminde, sağlıklı yapısını kaybederek gelişimini durdurmasıdır. Apoptozun aktive olması oosit ve granuloza hücrelerinde 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 (49).

1.1.2.10. Ovulasyon

Gelişimini tamamlamış olgun bir oositin overlerden atılmasına ovulasyon denir. 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 ovariyal 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. Menstruel siklusun foliküler fazı süresince östrojen salgılayan dominant follikül, ovulasyondan sonra siklusun luteal fazı boyunca progesteron sentezinden sorumlu olan korpus luteuma dönüşür. Embriyonun implantasyonu için uterus üzerinde, östrojen ve progesteron etkilidir (48).

1.1.2.11. 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 I. mayoz bölünme olur. I. 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 (48).

1.1.2.12. Korpus Luteum

Folikül duvarında kalan teka interna ve granuloza hücreleri ovulasyonun ardından, vaskülarize olurlar. Bu hücreler LH etkisi ile luteal hücrelere dönüşerek teka lutein ve granuloza lutein hücreleri olarak adlandırılır. Oluşan bu yapı korpus luteum adını alır ve progesteron salgılanmasından sorumludur. Endometriyumda, folliküllerden salgılanan östrojenin etkisi ile ovulasyondan önce 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 (49).

1.1.2.13. Over Rezervi

Doğumdan itibaren over rezervinde, yaşla beraber azalma olmakta, oosit kalitesinde de 35 yaşından itibaren bozulma olmaktadır. Bu rezerv azalmasının mekanizması tam anlamıyla bilinmemektedir. Fakat folikülü atreziye götüren nedenlerin, çevresel faktörler ve hormonal dengesizlik nedeniyle oluşan oksidatif hasar olduğu düşünülmektedir. Zarar gören yaşlı oositin hücre siklusu bozulmakta, mayotik ayrılmama, mozaikizm, anoploid oositler ve gebelik kayıpları meydana gelmektedir (53).

İnfertilitenin giderek artan önemli bir nedeni over rezervinde azalmadır. Over dokusunda follikülogenez ve steroidogenez fonksiyonlarını yerine getirecek folliküllerin sayısı, yeterliliği ve kalitesi over rezervi ile tanımlanır. Kadının yaşı

ilerledikçe primordiyal folliküllerin apoptoz ile kaybına bağlı olarak over rezervinde azalma görülür. İntrauterin dönemde, 20. gebelik haftasından itibaren over rezervinde azalma başlar. Bu döneme kadar hızlı mitoz ile çoğalan oogoniyaların çoğalması durmakta, daha sonra sayılarında azalma olmakta, yenidoğan döneminde 1-2 milyona, puberte başlangıcında 300-400 bin civarına düşmektedir. Bunların arasından her ay yaklaşık olarak 1000 tanesi, follikülün ovulasyona gidişinin farklı dönemlerinde, 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 (54, 55).

Overin yaşlanması da over rezervinde azalmada önemlidir. Geç yaşta çocuk sahibi olma, kadının üretkenliğinde azalmaya neden olmaktadır. Sonunda primordiyal folliküller azalmakta, oosit kalitesi bozulmakta, implantasyon oranı azalmakta, embriyoda kromozomal anomali oranı ve bunun sonucunda abort oranında da artışlar olmaktadır. Over rezervinin bir tarama testi ile önceden değerlendirilmesi infertilite tedavisine başlanmadan önce önemlidir (56).

Prematür over yetmezliği etyolojisinde birçok teori ortaya atılmıştır. Bunlardan bazıları bozulmuş granüloza hücrelerine karşı oluşan otoantikolar, anjiogenesis, patolojik apoptotik aktivite, otokrin ve parakrin faktörlerin etkisidir. Ayrıca ailesel yatkınlık ve genetik temelde önemlidir. Prematür over yetmezliği olanlarda yapısal ve sayısal kromozomal anomali görülme sıklığı gerçekten artmıştır (53).

Over rezervini etkileyen başlıca parametreler şunlardır:

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

1.1.2.14. 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

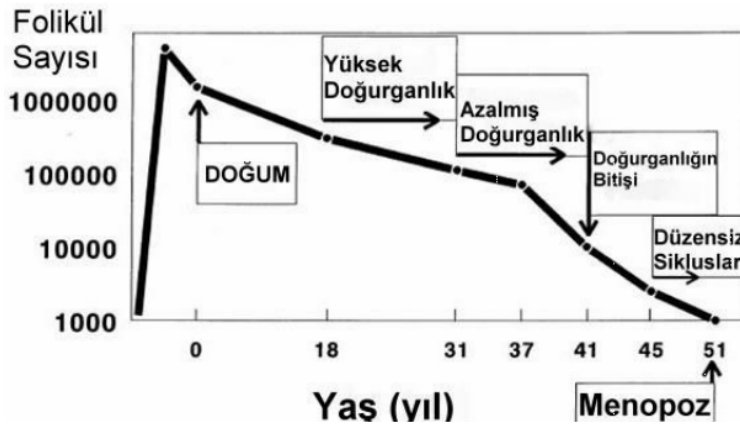
Dinamik testler:

- 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 (57).

Yaş, over rezervi için kesin bir epidemiyolojik tahmin yöntemi değilse de, spontan ya da yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebeliklerin prognozunu da önemlidir (57).



Şekil 10. Yaşla azalan follikül havuzu (58).

Şekil 10’de fertilité durumu belirtilerek yaşa bağlı azalan follikül oranları bulunmaktadır (58).

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 (59).

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 değışebileceği gibi en yüksek değeri 25 mIU/ml kabul edilmektedir. FSH değeriinde sikluslar arasında dalgalanmalar olmaktadır, bununla beraber en az bir kez yüksek bulunması zayıf over rezervi yönünden anlamlıdır (60, 61).

Serum E2:

Siklusun 2 veya 3. günlerinde ölçülen E2 değeriinin <20 pg/ml nin üzerinde olması siklus iptali için riskin arttığını gösterir (62).

E2 ‘nin ideal değeri <45 pg/ml’dir ve FSH ile beraber değeriendirildiğinde anlamlıdır. Sadece bazal E2 düzeyi ile tedavi sonuçları arasında anlamlı korelasyon yoktur, aynı zamanda yüksek E2 değeri, FSH üzerinde negatif feedback etkili olduğundan FSH’in yanlış olarak düşük saptanmasına yol açar.

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 gerçekleştirir. İnhibin B foliküler fazda, İnhibin A ise daha çok luteal fazda salgılanmaktadır (63).

Serum inhibin B konsantrasyonu normal ovuluar sikluslarda FSH konsantrasyonu ile ters ilişkilidir. Foliküler fazın ortasına kadar artar, ardından progresif bir düşüş gösterir. LH pikinden sonraki kısa bir artış dışında luteal faz süresince bu düşük konsantrasyonlarda seyrederek (64).

İnhibin B düzeyi ilerleyen yaş ve azalan over rezervi ile paralel olarak azalmaktadır.

Antimüllerian Hormon (MIF)

Antimüllerian Hormon (Müllerian İnhibing Faktör), 72 kDa ağırlığında, dimerik bir glikoproteindir. Disülfit bağlarıyla bağlanmış iki monomerden meydana gelir (65).

AMH; Transforming Growth Faktör-B ailesinin bir üyesidir ve inhibin, aktivin glikoproteinlerinin de burada yer alır (66).

Bunlar, doku büyümesi ve farklılaşmasında etkili olurlar (67).

AMH, kadında overin granuloza 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 (66, 68).

Kadında serum AMH seviyeleri erkeğe göre daha düşüktür. AMH'nin kan değerleri 2-5 ng/ml arasındadır. Puberteden sonra menstrüel siklusla birlikte sirkülasyondaki AMH seviyeleri giderek azalır ve menopozda izlenmez (66).

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 (66, 69).

Bazal over volumünün ölçülmesi (OOV)

Sık kullanılan transvajinal ultrasonografi ile over volum ölçülmesinin kolay, ucuz, doğru olarak yapılabilmesi, over rezervini belirlemek için bu yöntemin kullanımını hızla artırmıştır (70).

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 (70).

Over volumü kadın hayatı süresince değişiklikler gösterir. Over volümü 10 yaşında 0, 7 cm³, 18 yaşında 5 cm³'tür. Ortalama over volumünün 35 yaş üzeri kadınlarda, 35 yaş altı kadınlara göre anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur (71).

Bazal antral follikül sayımı (AFS)

AFS, her iki overdeki antral foliküller (2-9mm) 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. (72) tarafından antral follikül sayısında yaşa bağlı azalma meydana geldiği gösterilmiştir.

AFS <3 olan hastalarda serum FSH daha yüksek seviyede bulunmuş, Oİ için daha yüksek doz ekzojen gonadotropin verilmek zorunda kalınmasına rağmen gebelik elde edilememiştir (73).

Ovarian stromal kan akımı

Genel populasyon üç boyutlu power doppler ultrasonografi ile incelendiğinde artan yaşla birlikte overin stromal vaskülaritesinde azalma meydana geldiği gösterilmiştir (74).

Ovaryan Biyopsi

Yapılan çalışmada follikül sayısı ile artan yaş arasında negatif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir (75).

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 terkedilmiştir.

Klomifen Sitrat 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. (76) . 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 (57, 77).

GnRH Analogu Stimulasyon Testi (GAST)

GnRH Analogu Stimulasyon Testi (GnRH) analogu verilmesini takiben ilk 4-6. günü içinde FSH, LH ve bunlara bağılı olarak E2 artışı meydana gelir. Siklusun 2. günü 1 mg leuprolide asetat sc uygulanarak 3. gün E2 seviyelerine bakılır (78). 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 (53).

Bu gruplarda klinik gebelik oranları oldukça farklıdır, sırasıyla % 46, % 38, %16 ve % 6 (79).

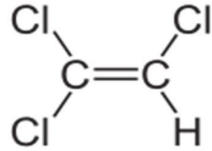
Gonadotropin Stimulasyonuna Cevap Testi (EFORT)

Gonadotropin Stimulasyonuna Cevap Testi (EFORT) (Exogenous FSH Ovarian Reserve Test/ Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi), IVF sikluslarında iyi ve düşük cevaplı hastaların saptanması için geliştirilen bir tarama testidir (80).

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 (61).

1.2. Trikloretilen

1.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler



Şekil 11. TCE'nin kimyasal yapı formülü

- Ticari Adı : Trikloretilen (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 (81)

Klorinli bir hidrokarbon olan Trikloretilen, primer olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılır (82).

TCE'yi lipofilik karakteri ve düşük kaynama noktası, kuru temizleme ve metali yağdan arındırma gibi endüstriyel işlemler için ideal hale getirmiştir (83)

Metal indirgeme sırasındaki buharlaşma ile veya TCE bulaşmış suların kullanımı ile de insanlar TCE'ye maruz kalabilirler (1).

Endüstride metalleri indirgeyen bir ajan olarak kullanılan TCE, bir çözücü olarak (örneğin; bilgisayar çiplerini ve elektronik aletleri temizlemek için)' da kullanılmaktadır. TCE, 9295 içme suyu raporunun % 25'inde saptanmıştır. (IARC, International Agency for Research on Cancer, 1995) ve ABD'de en fazla rapor edilen organik bir bileşik olan TCE ile içme suyu kaynaklarının % 34'ünden fazlası kontaminedir (84).

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

Trikloretilen, sıklıkla elektronik temizlik, mesleki olarak ipek üretimi ve hayvan doldurma gibi durumlarla TCE'ye maruz kalan kişilerde yüksek seviyelerde tespit edilmektedir. Genel popülasyonda ise içilen suyla sindirimde, çevresel havayı soluma veya transdermal absorpsiyon yoluyla maruz kalındığından 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 (85)

Mesleki ve çevresel kaynaklı olarak her yıl 3 milyonun üzerinde bireyin TCE'ye maruz kaldığı tahmin edilmektedir (86).

Normal şartlarda doğada bulunmayan Trikloretilen atık ürün şeklinde zararlı, çevresel bir toksin olarak ortaya çıkmaktadır. TCE'nin yarı ömrü konsantrasyonuna

bağlı olarak yer altı sularında 10.7 ay ile 4.5 yıl arasında değişmektedir ve parçalanma oranı TCE 'nin fiziksel durumuna bağlı olarak çevrede değişiklik gösterir. (87)

Trikloretilen'nin su yüzeyinden buharlaşması hava da TCE buharı üretimine neden olur, bu da yaklaşık 7 günlük bir yarı ömre sahiptir (88).

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

Açık havada trikloretilen'nin 1 ppm'den daha az düzeyleri 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 trikloroetilen'e maruz kalmaktadır. Kimyasal ayrıca bir çok 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 trikloretilen'e maruz kalabilirler. İçerisinde Trikloretilen içerebilen ürünler: bazı daktilo düzeltme sıvıları, boya ve boya sökücüler, halı temizleme sıvıları, yapıştırıcılar, leke çıkarıcılar ve metal temizleyicileridir (86).

İnhalasyon yolu ile maruziyetten sonra yüksek kan/gaz değişiminden dolayı 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. Risk yönetim analizlerinde TCE buharının dermal yoldan emilimi major yol olarak görülmez (89).

Solunum, dermal 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 (90).

Trikloretilen biyolojik membranlardan kimyasal özelliklerinden olan uçuculuk ve lipofilite nedeni ile hemen absorbe edilir. TCE akciğerlerden veya gastrointestinal sistemden maruziyet durumunda hızlı ve büyük oranda absorbe edilir. TCE absorbe olduktan sonra akciğerler, karaciğer, böbrekler ve sinir sistemi gibi hedef organlara dağılır (89).

Buharı indirgeyici olarak da kullanılan Triklloretilen klor içeren bir çözücüdür ve birçok ülkede 1920'lerden beri etilen veya asetilenin klorlanması yoluyla ticari olarak üretilmiştir. Kuru temizlemede kullanılması da 1930'larda olmuştur. Şu anda dünya çapında TCE'nin %80-90 kullanımını 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 (91).

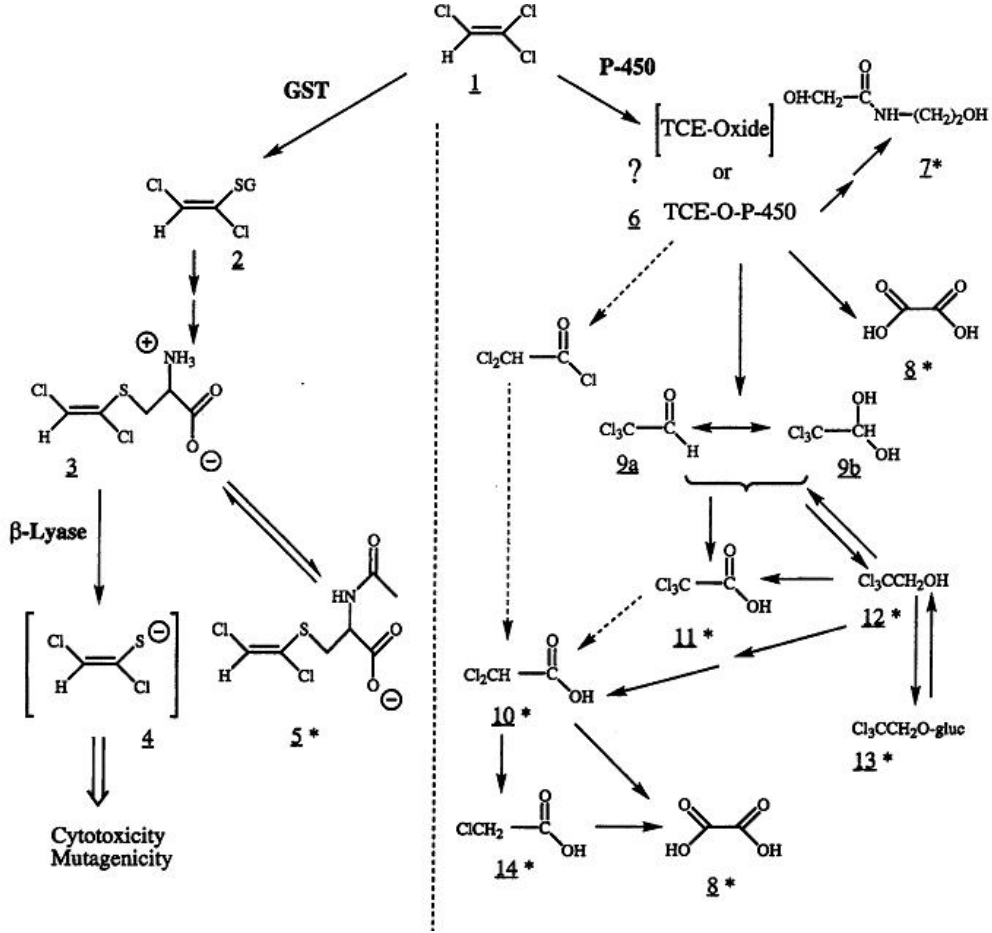
1.2.2. Triklloretilen'in Metabolizması

Trikloretilen; her ne kadar diğer dokularda da metabolize olsa da primer olarak karaciğer ve böbreklerde metabolize edilir.. TCE metabolizmasından bilinen iki yolak sorumludur. Bunlar sitokrom P450 aracılı oksidasyon ve glutatyon ile konjugasyondur (52).

Yüksek afinitesi olan yol oksidatif yoldur (92). Her iki yolakta da enzimler TCE'nin metabolizmasına katılırlar (52).

Trikloretilen'nin toksisitesinin metabolizmasını, emilim ve dağılım farklılıklarını 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,

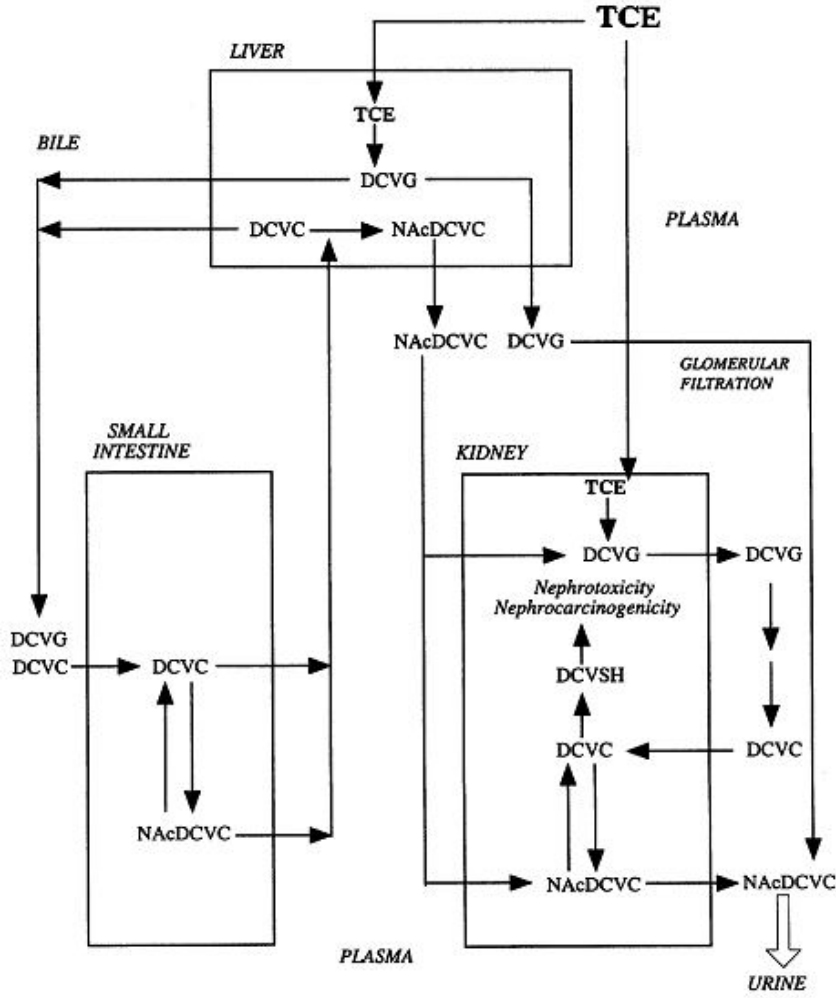
trikloroasetat ve dikloroasetatın hedef organları karaciğer ve akciğerlerdir. TCE'nin glutatyon ile konjugasyonundan türeyen metabolitlerinin hedef organı sadece böbrek ile ilişkilidir (89).



Şekil 12. 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-cysteine); 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=dichloroacetic acid; 11=trichloroacetic acid; 12=trichloroethanol; 13=trichloroethanol glucuronide; 14=monochloroacetic acid;

GST=Glutatyon konjugasyon yolağı (89).



Şekil 13. TCE'nin glutatyon konjugasyonu yoluyla organlar arası süreci ve metabolizması (89).

1.2.3. Trikloretalenin biyolojik dokulara etkileri

Trikloretalenin erkek üremesi üzerine negatif etkiye sahip olduğu deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda gamet seviyesinde, gösterilmiştir. (5, 93).

Trikloretalenin de içinde olduğu klorlu çözücülere maruziyet ile azalmış semen konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal sperm artan yüzdeleri arasındaki ilişkiyi son epidemiyolojik çalışmalar göstermiştir (87, 88).

Paternal TCE maruziyeti spontan düşüklüklerin riskinde artış, azalan implantasyon oranı, azalan fertilizasyon ve geç gebelik ile ilişkilendirilmiştir. (94, 95, 96)

Sitokrom p450 2E1, TCE'nin oksidatif metabolizmasından sorumlu temel enzim'dir (89, 97).

Sitokrom p450 2E1 aktivitesi sonuçları, ovaryum TCE metabolizması ya da tce metabolitlerinin bulunmasını takiben oluşan oksidatif hasarın oosit döllenesinin azalmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (98, 98).

Bir dişinin yüksek seviyede TCE'ye maruziyetinden sonra in vivo olarak oosit döllenesini geçici olarak engelleyebileceğini yapılan çalışmalar 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).

Çevresel bir kirlenici olan TCE maruziyetinin hem insan hem hayvan modellerinde otoimmunitiyi indüklediği biliniyor (10).

SLE, sistemik skleroz ve fasiitisi içeren otoimmün hastalıkların gelişmesinin TCE ile ilişkisi hem insan hem hayvan çalışmalarında belgelenmiştir (12, 100).

Trikloretilen serbest radikal oluşturuyor olarak bilinsede nedeni artmış oksidatif stres ve otoimmün cevap induksiyonudur (11).

Farklı doku ve organlarda Trikloretilen'nin oksidatif strese bağlı hasar oluşumunu indüklediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (101-104).

Havanın ve yeraltı sularının sık rastlanan bir kirlenici olan Trikloretilen'nin insan sağlığı üzerindeki potansiyel yan etkileriyle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. TCE kemirgenlerde kanserojendir ve Uluslararası Kanseri Araştırmaları Enstitüsü (IARC) tarafından insanlar için de olası bir kanser etkeni olarak kabul edilmektedir (2).

Trikloretilen, deney hayvanlarında hepatotoksik etkileri olan çevresel ve endüstriyel bir kirlenicidir (3).

Trikloretilen, proteinlerin hidrolizi ile oluşan bir aminoasit olan sistein konjugatının reaktif metabolit üreten metabolizmasının artık ürünleri olan aminoasitler, nefrotoksikler ve nefrokarsinojeniteye yol açabilirler (89).

Zehirlenme semptomları; sindirim sistemi yolu ile alındığı zaman ağız ve yemek borusunda yanma, karın ağrısı, bulantı, kusma vertigo, baş ağrısı, şuur kaybı, konvülsion ve paresteziye neden olabilir ve lokal olarak alındığı zaman konjoktivitis, dermatitise neden olabilir (105).

Buharını düşük miktarda solumak baş dönmesine, baş ağrısına, 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.

Fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda yüksek dozda TCE maruziyetinin; karaciğer, böbrek ve akciğer kanserlerine neden olabileceği gösterilmiştir (84).

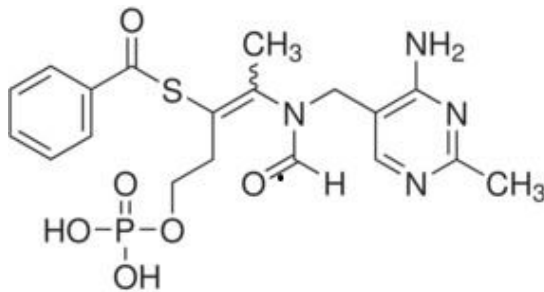
Trikloretilenin akut ve kronik toksisitesinin klinik bulguları iyi bilinir ve birçok araştırma raporunda tarif edilmiştir fakat TCE'ye bağlı hipersensitivite sendromu nadir görülür. TCE'ye bağlı hipersensitivite sendromu gelişen hastaların tedavisinde, hastanın TCE ile maruziyeti kesilip glukokortikoid tedavisine başlanması gerekir. (90).

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'nin insanlar üzerindeki bazı etkilerinin hayvanlar üzerindeki etkilerine benzer olduğu, TCE'ye maruz kalmış insanlarda yapılan çalışmalarda 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 (84).

1.2.3.1. Benfotiamin

AçıkFormülü:



Şekil 14. Benfotiaminin kimyasal yapısı.

Görünüm : Beyaz
Kimyasal Adı : S-[(Z)-2-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methylformylamino]-5-phosphonooxypent-2-en-3-yl] benzenecarbothioate.
Moleküler ağırlığı : 466,45 g/mol Cas No : 22457-89-2
Ticari adları : S-Benzoylthiamine O-monophosphate (Sigma Chemica Co. St.Louis,MO.A.B.D.) (13)

Suda çözülebilen bir vitamin olan tiamin bakliyat, hububat, kuru fasulyede, fındıkta, ekmekte, soyada, yağsız ette ve balıkta bulunur. Hücresel enerji metabolizmasında karbonhidratların enerjiye dönüştürülme sürecine tiamin, yardımcı olarak önemli bir rol oynar. Tiamin; kalbin, kasların ve sinirlerin normal durumda çalışması için gereklidir ve farklı metabolik bozuklukların tedavisi için faydalıdır (106, 107).

Allitiamin olarak isimlendirilen tiaminden türemiş bileşimler; Allium genusdaki taze soğan, soğan ve pırasa gibi bitkilerde bulunmuştur (108).

Tiamin kökenli birleşimlerin eşsiz kaynaklarından biri olan Benfotiamin, allitiamin olarak isimlendirilen, soğan, taze soğan, kızarmış veya ezilmiş sarımsakta ve pırasa gibi sebzelerde eser miktarda bulunur. (13)

Yağda-çözülebilen bir tiamin türü olan Benfotiamin; S-Benzoylthiamine-O-mono fosfat olarak tanınan eşsiz açık tiyazol-halkalı bir yapıya sahiptir ki bu yapı onun doğrudan bağırsak duvarını geçebilmesini ve kolaylıkla hücre membranına ve hücre içine geçmesini sağlar. Benfotiamin, bu yapı nedeniyle S-acyl tiamin grubunun türeği olarak da tanımlanmıştır (109, 110). Benfotiamin; başka bir tanıma göre B1 vitamininin yağda eriyen türüdür. Normal suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, özel yağda çözülebilen B1 vitaminine ise benfotiamin denilir (13). Benfotiamin transketolaz aktivitesinde artışa neden olarak pentoz fosfat yolunu aktive eder. Bu yolağın aktive olmasıyla da vasküler hasara oluşumuna neden sayılan heksosamin yolağı, hücre içi AGE oluşum yolu ve DAG/Protein kinaz C yollarının etkilerinin azalmasına sebebiyet verir (14).

Hayvan deneylerinde uygulanan yüksek doz tiamin ve benfotiamin kullanımının, hayvanlarda transketolaz aktivitesinde artışa ve bununla birlikte albuminüri düzeyinde azalmaya neden olmuştur (15).

Yapısı nedeniyle hakiki tiamine göre benfotiamin; çok daha yüksek bir biyoelverişliliğe sahiptir. Bu özelliğiyle benfotiaminin, suda-çözülebilir tiamine göre vücutta daha kolay absorbe edildiği ve oral uygulamada eşdeğer bir tiamin dozuna göre en az beş kat daha yüksek tiamin-plazma konsantrasyonuna yani suda çözülebilir tiamine göre beş kat daha yüksek plazma düzeylerine ulaşabilme etkinliğine sahip olduğu bildirilmiştir (111-114). Bundan ötürü diğer yağda çözülebilir ya da allitiamin ailesindeki lipid tiamin türevlerine göre daha iyi olduğu ve lipitte çözülebilir türdeşleri içerisinde en güçlüsü olduğu belirtilmiştir (111).

Benfotiaminin oral uygulamasıyla tiamin, tiamin mono fosfat ve tiamin difosfat düzeylerinin kanda ve karaciğerde önemli bir ölçüde arttığı fakat beyinde oluşmadığı görülmüştür. Tiamin eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan akut periferik sendromunun tedavisi için, benfotiaminin daha iyi bir absorpsiyon kapasitesinin olması nedeni ile daha faydalı olabileceği bildirilmiştir (115, 116).

Reaktif oksijen türleri üzerine de benfotiaminin inhibe edici etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (117, 118).

Benfotiaminin insan endotel hücrelerinde ilerlemiş glikasyon son ürünlerin (Advanced Glycation Endproduct, AGE) artışını engellediği görülmüştür (119). Yüksek glikoz hasarlarında benfotiamin koruyucu etkiye sahiptir (120). Hücrede çevresel oksidan ajanların etkisini kendi üzerine çeken redükte glutatyon (GSH), antioksidan gibi davranarak hücrenin fonksiyonel proteinlerini okside olmaktan korur. Bu arada glutatyonun kendisi oksitlenir (GSSG). Bu okside glutatyonun fonksiyonunu yapabilmesi NADPH ile tekrar redükte hale gelmesi ile mümkündür. Pentoz fosfat yolu NADPH için önemli bir kaynaktır ve tiamin de bu yolu aktive edici olduğundan dolayı bir antioksidan olarak kabul edilmiştir (121-123).

Yüksek glikoz maruziyetinden dolayı endotel hücrelerde ve perisitlerde meydana gelen apoptozisin iki göstergesi olan deoksiribonükleik

asit (DNA) fragmantasyonu artışı ve Caspase 3 aktivitesi benfotiamin tarafından engellenebilir (124).

Ayrıca diyabetik nefropati, diyabetik nöropatiye bağlı ağrıların giderilmesinde ve diyabetik kardiyomiyopati üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir (125, 126). Benfotiaminin Tip 2 diyabetik sıçan böbreklerinde fosfodiesteraz 5 ve izoformlarının ekspresyonu üzerine etkisi incelenmiştir (127).

Bir başka çalışmada da benfotiaminin diyabetli sıçanlardaki endotel hücrelerde fazla sayıda üretilmiş reaktif oksijen türlerini normalleştirdiği gösterilmişken (128), bir diğer çalışmada streptozotocin (STZ) indüklemeli diyabetik farelerde de oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (129).

Benfotiaminin insan perisit apoptozisinin engellenmesinde, faredeki anjiyogenesis ve sonraki apoptosizin engellenmesinde, streptozotosin-bağlı deneysel şeker hastalığı olan kardiyomyosit kontraktıl disfonksiyonun engellenmesinde, ilerlemiş titreşim persepsiyonda, motor fonksiyon ve alkolik polinöropatinin tüm sebeplerinin azaltılmasında, iskemik diabetik kol ve bacakların iyileşmesinin hızlandırılmasında, endotoksine bağlı üveitin, makro/mikrovasküler endotelial disfonksiyon gibi patolojik durumların gelişmesinin önlenmesinde çok yönlü terapötik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (130-136).Spermde tiaminin varlığına ve erkeğe özgü infertilite, spermatogenezis, sıçan testisleri, Sertoli ve Leydig hücreleri üzerine etkilerine yönelik çalışmalar yapılmıştır (137-140).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 03/12/2014 tarihli ve 2014/24 sayılı ve 222 nolu Fırat Üniversitesi etik kurul kararı ile onay alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışma için gerekli hayvanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Müdürlüğü (FÜDAM)'den temin edildi. Deney FÜDAM ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. 24 adet düzenli sıklusa sahip, ağırlıkları 200-220 gr arasında değişen 8-10 haftalık Wistar Albino cinsi dişi sıçanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 eşit gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol grubu); Deney süresi olan 3 hafta boyunca herhangi bir ilaç verilmedi.

Grup II (Benfotiamin grubu); Deney süresi olan 3 hafta boyunca Benfotiamin 70 mg/kg/gün dozunda oral olarak verildi.

Grup III (TCE grubu); Deney süresi olan 3 hafta boyunca oral yolla Trikloretilen (TCE) 1000 mg/kg/gün olarak verildi.

Grup IV (TCE+Benfotiamin grubu); Deney süresi olan 3 hafta boyunca oral yolla TCE 1000 mg/kg/gün uygulanması ile birlikte Benfotiamin 70 mg/kg/gün verildi.

Deney süresi sonunda tüm gruptardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) intraperitoneal (i.p) uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların over ve uterus dokuları hızla çıkarılıp uygun fiksatiflerle tespit edilip ardından histolojik takip serilerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınan 4-6 µm kalınlığındaki doku kesitlerine Masson-Trikrom boyası yapılarak gruplar arası histopatolojik farklılıklar incelendi. Ayrıca bu kesitlere TUNEL tekniği uygulanarak apoptotik hücreler tespit edildi. Bununla birlikte over ve uterus dokularında spektrofotometrik olarak Malondialdehid seviyelerine bakılacağından dokular çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

2.1. Malondialdehid (MDA) Çalışması

0,42gr Tris-Base + 1.43 gr Tris-HCl + 3 gr KCl ve 0.5 ml Tween 20, 250 ml distile suda hazırlandı. Hazırlanan bu tampon örneklerin homojenatında kullanıldı. X gr doku üzerine 5 ml tampon ilave edildi ve parçalandı. Homojenat 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımdan 1 ml başka bir tüpe alındı. Alınan 1ml

örnek üzerine 1ml %10 'luk TCA (10 gr TCA 100 ml distile suda hazırlandı) ilave edildi. Üzerine 1ml %0.6 TBA (0.6 gr TBA 100 ml distile suda hazırlanır hazırlanan TBA +4 en fazla bir gün saklanabilir) ilave edildi. Üzerine 1ml distile su ilave edildikten sonra, son olarak 0.5 ml %4 HCl ilave edildi.(4ml HCl 100 ml distile suda hazırlanır, asit ve su şiddetli reaksiyona girdiği için mümkünse asit damlalar şeklinde suya ilave edilmelidir). Hazırlanan karışım 90-95°C de 120 dk inkübasyona bırakıldı İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi. Daha sonra tüpler 5 dk 5000 rpm de santrijüj edilir ve oluşan (bütanol faz) Süpernatanttaki kırmızı-pembe renk spektro küvetine pipet yardımıyla alınır ve bütanole karşı 532 nm de okundu. Okunan absorbans değeri x: (okunanABS +0.0344)/0.0492 formülüyle hesaplandı. Bulunan değer 5 ile çarpıldı (nedeni doku homojenatı 5ml tamponda hazırlandı) çıkan sonuç homojenatta kullanılan doku ağırlığı kadardır.

2.2. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05% 'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37° C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az

500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. TUNEL Boyama Prosedürü.

İşlem	Süre
1 60°C etüv	Bir gece
2 Xylol	3X15 dakika
3 %100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4 PBS	5 dakika
5 Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.
6 1: 500 d ilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7 PBS	3X5 dakika
8 Endojen peroksit blokağı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9 PBS	3X5 dakika
10 Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11 Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C' de	60 dakika
12 Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13 Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14 PBS	3X5 dakika
15 DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16 PBS	3X5 dakika
17 Distile su	5 dakika
18 Harris hematoksilen	1-5 dakika
19 Distile su	5 dakika
20 %80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21 Xylol	2X5 dakika
22 Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.

2.3. Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan over ve uterus 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 2). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Masson Trikrom boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda incelenip fotoğraflandı. Değişiklikler, histopatolojik durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Her bir sıçan için skorlama yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı.

Tablo 2. 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	

2.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve posthoc tukey testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. MDA Bulgular

Over dokusunda MDA düzeyleri; kontrol ve benfotiamin gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında TCE grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). TCE grubuyla kıyaslandığında ise TCE + BENFOTİAMİN grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak azalmış izlendi ($p<0.05$).

Uterus dokusunda MDA düzeyleri; kontrol ve benfo gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında TCE grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0.05$). TCE grubuyla kıyaslandığında ise TCE + BENFOTİAMİN grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak artmış izlendi ($p<0.05$). (Tablo 3).

Tablo 3. Doku MDA değerleri

GRUP	MDA (nmol/g protein)	
	Over	Uterus
KONTROL	141.42± 24.10	779.77±89.39
BENFOTİAMİN	165.02± 6.39	838.11±74.29
TCE	361.08± 41.09 ^a	323.23±38.43 ^a
TCE + BENFOTİAMİN	207.64±3.33 ^b	490.96±34.81 ^{ab}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

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

3.2. TUNEL Bulgular

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği tüm gruplarda over dokusunda lüteal hücrelerde (kırmızı ok) ve uterus dokusunda stromal hücrelerde (kırmızı ok) gözlemlendi.

Over dokusunda TUNEL pozitifliği, kontrol (Şekil 15) ve benfo (Şekil 16) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında TCE (Şekil 17) grubunda TUNEL pozitifliği anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). TCE grubuyla kıyaslandığında ise TCE + BENFOTİAMİN grubunda (Şekil 18) ise TUNEL pozitifliği anlamlı olarak azalmış izlendi ($p<0.05$).

Uterus dokusunda TUNEL pozitifliğinde; kontrol (Şekil 19), benfotiamin (Şekil 20), TCE (Şekil 21) ve TCE + BENFOTİAMİN (Şekil 22) grupları arasında anlamlın bir fark gözlenmedi. TUNEL pozitif kontrol dokusu olarak meme dokusu kullanıldı (Şekil 23) (Tablo 4).

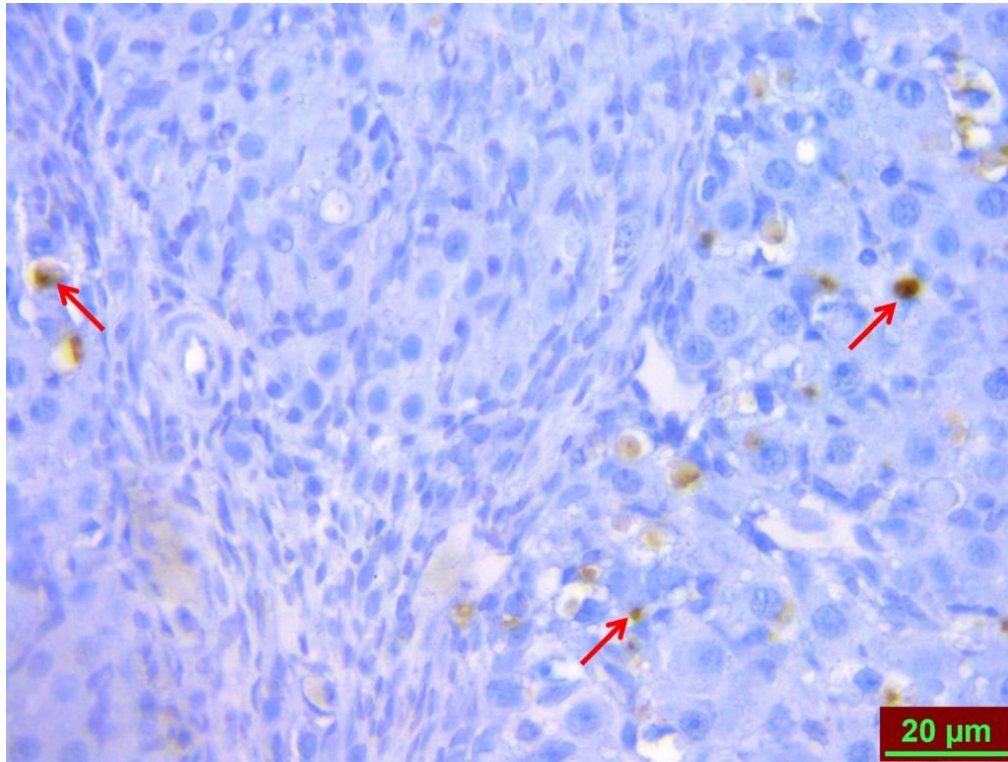
Tablo 4. Apoptotik indeks (%)

GRUP	Apoptotik indeks (%)	
	Over	Uterus
KONTROL	6.5±0.83	3.16±0.98
BENFOTİAMİN	6.16±1.47	2.83±1.94
TCE	12.17±1.72 ^a	4.2±0.83
TCE + BENFOTİAMİN	5.66±1.96 ^b	3.66±1.63

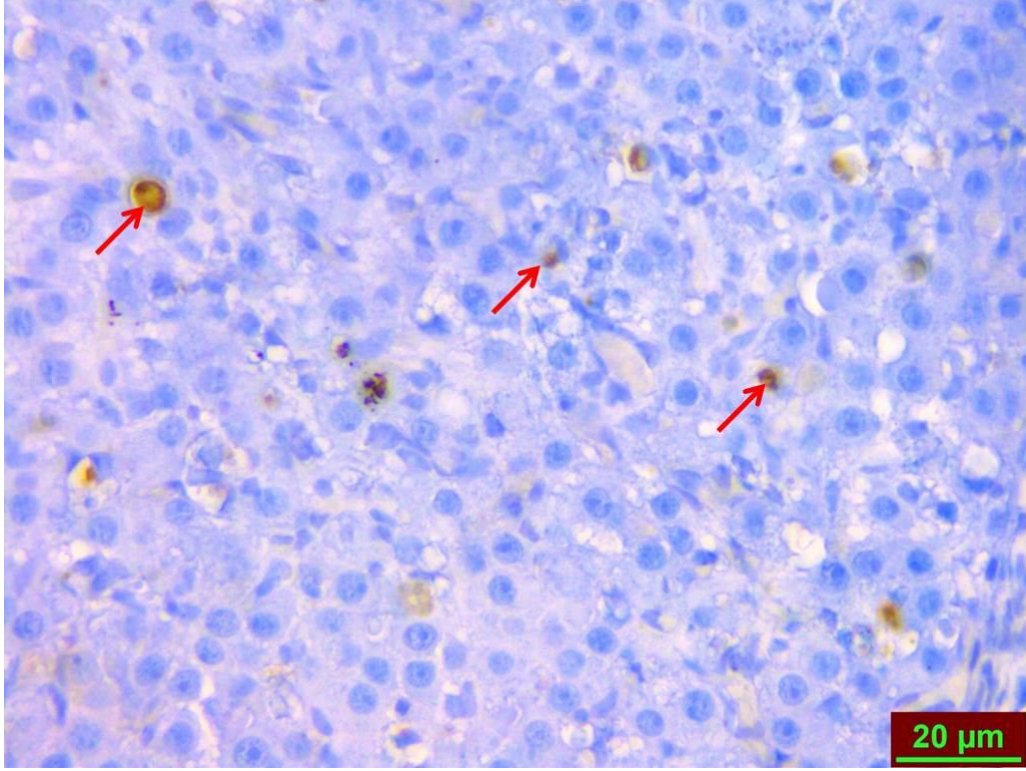
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

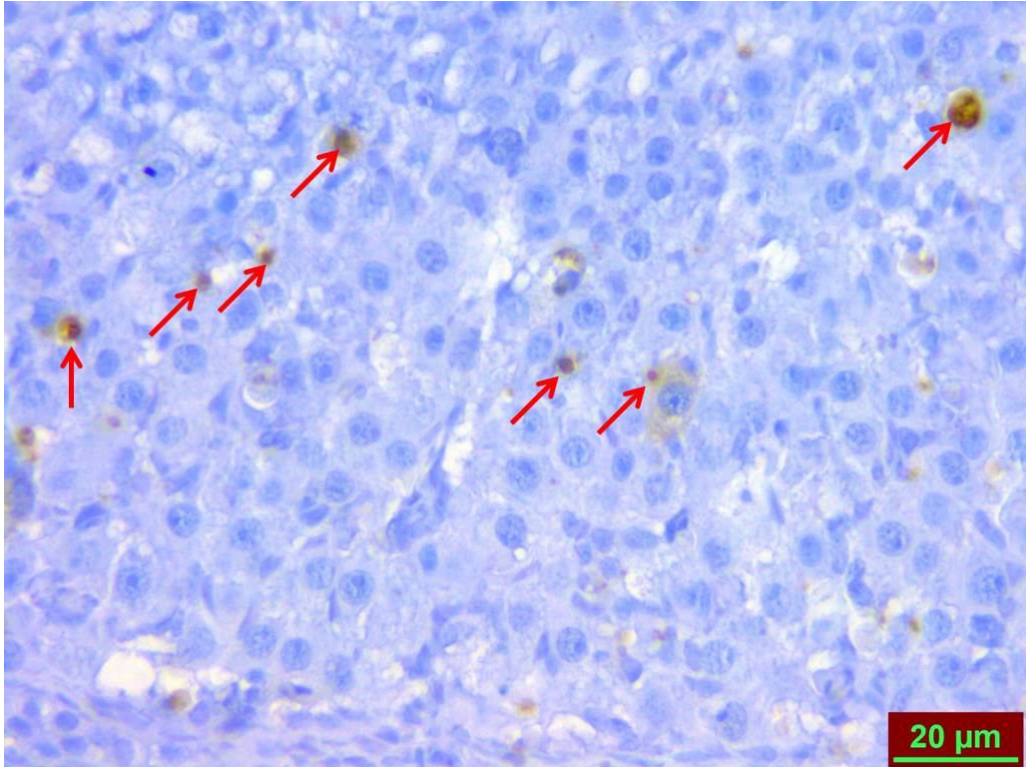
^b TCE grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



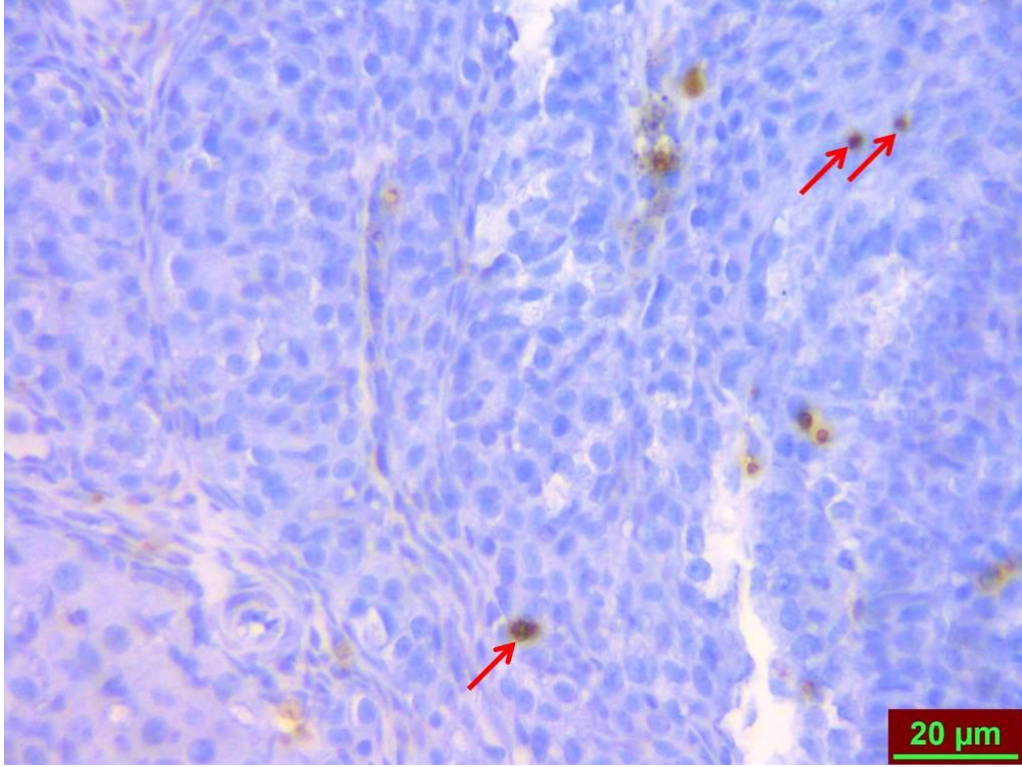
Şekil 15. Kontrol grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



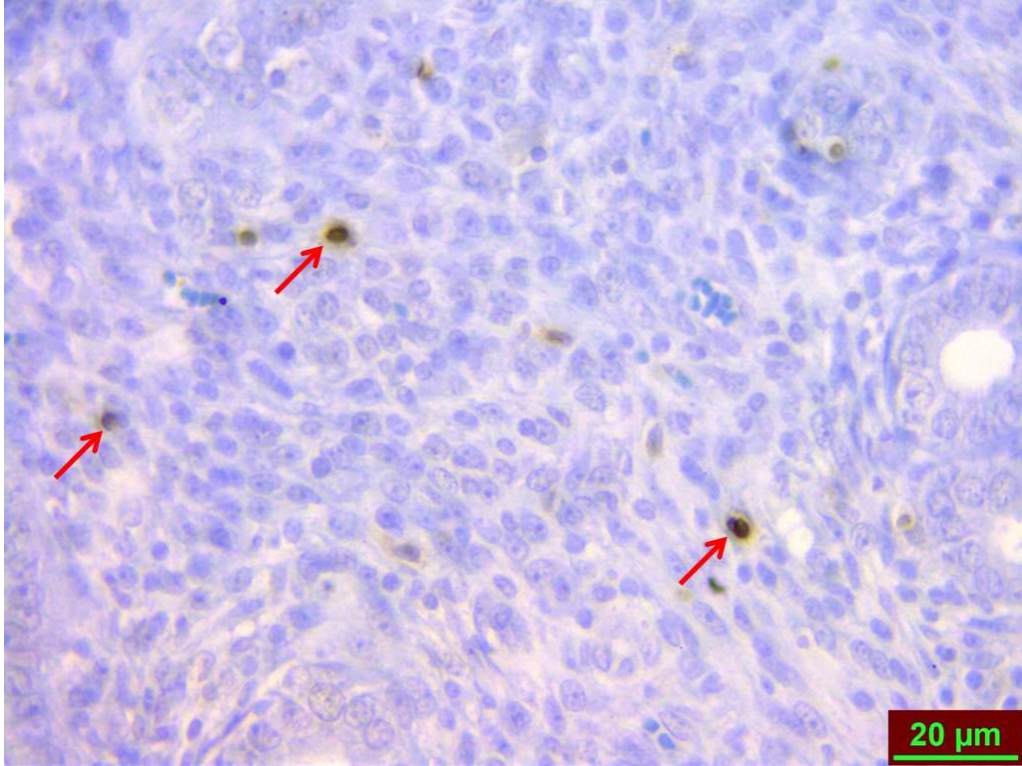
Şekil 16. Benfotiamin grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



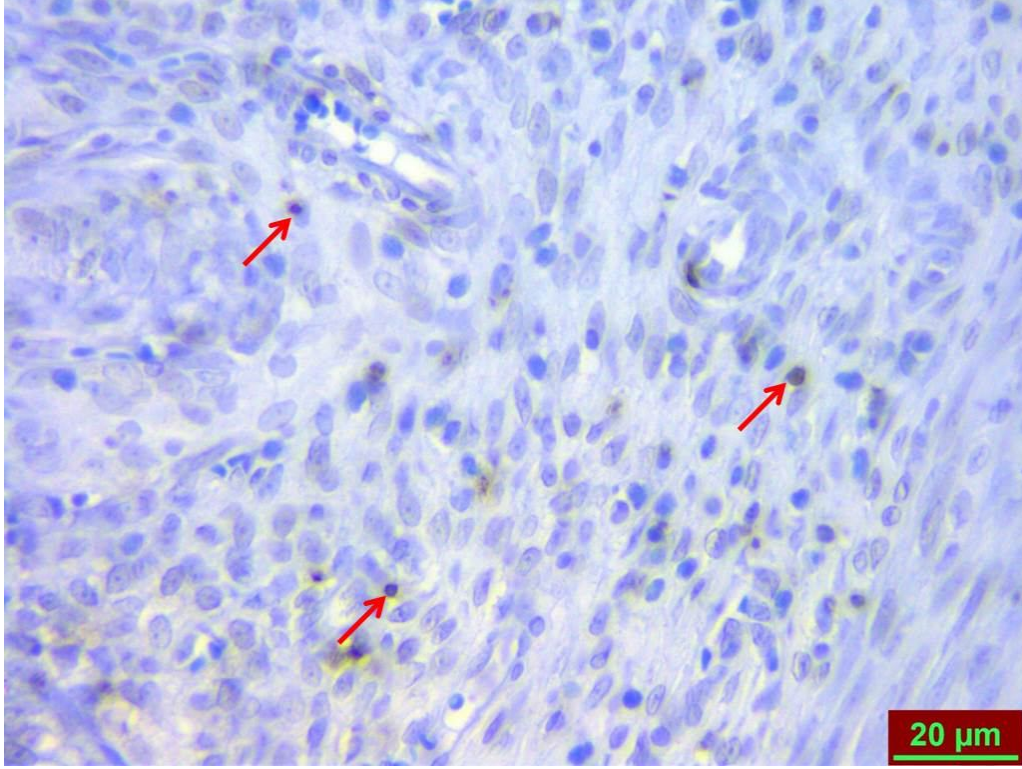
Şekil 17. TCE grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



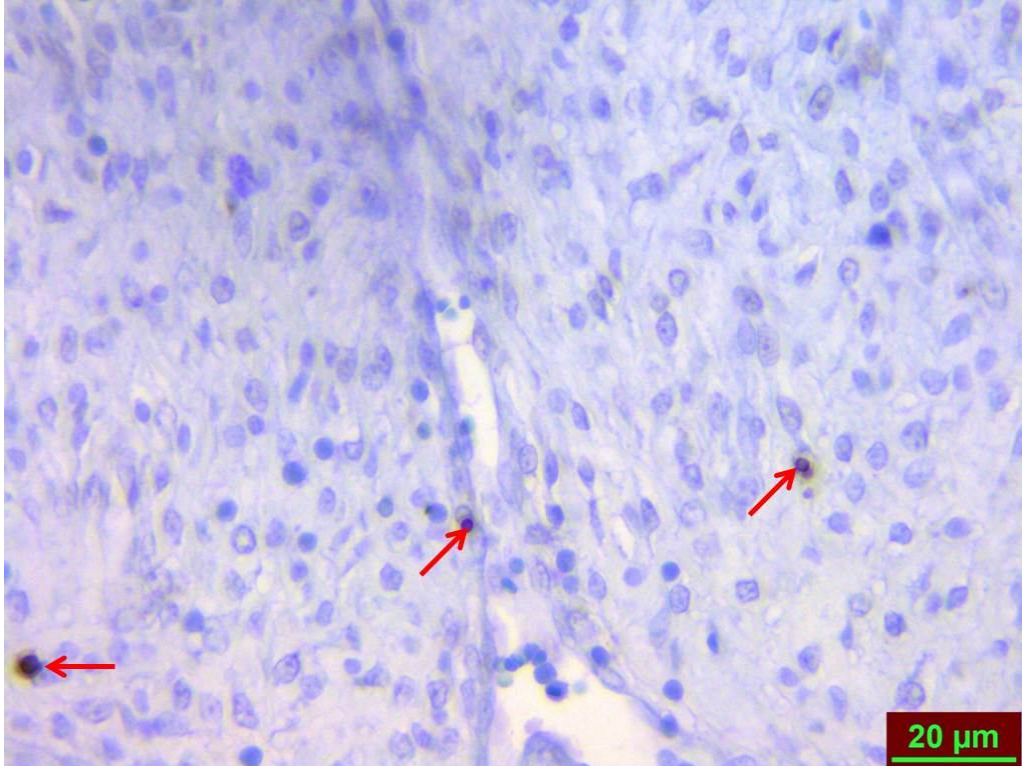
Şekil 18. TCE+ Benfotiamin grubu over dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



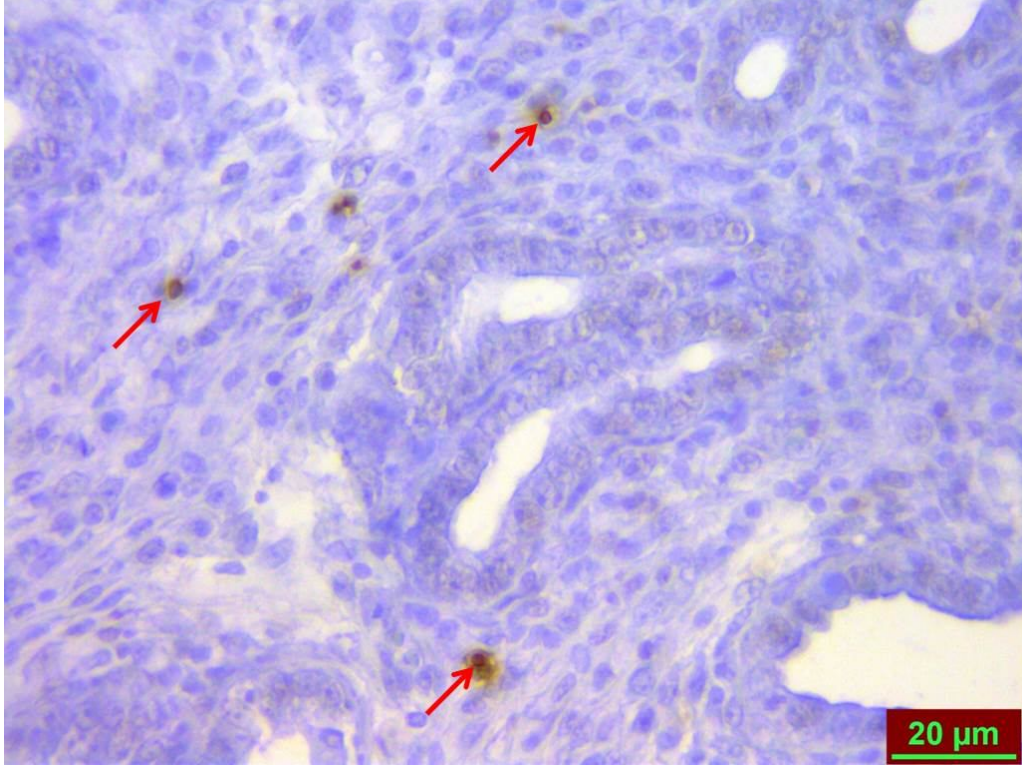
Şekil 19. Kontrol grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



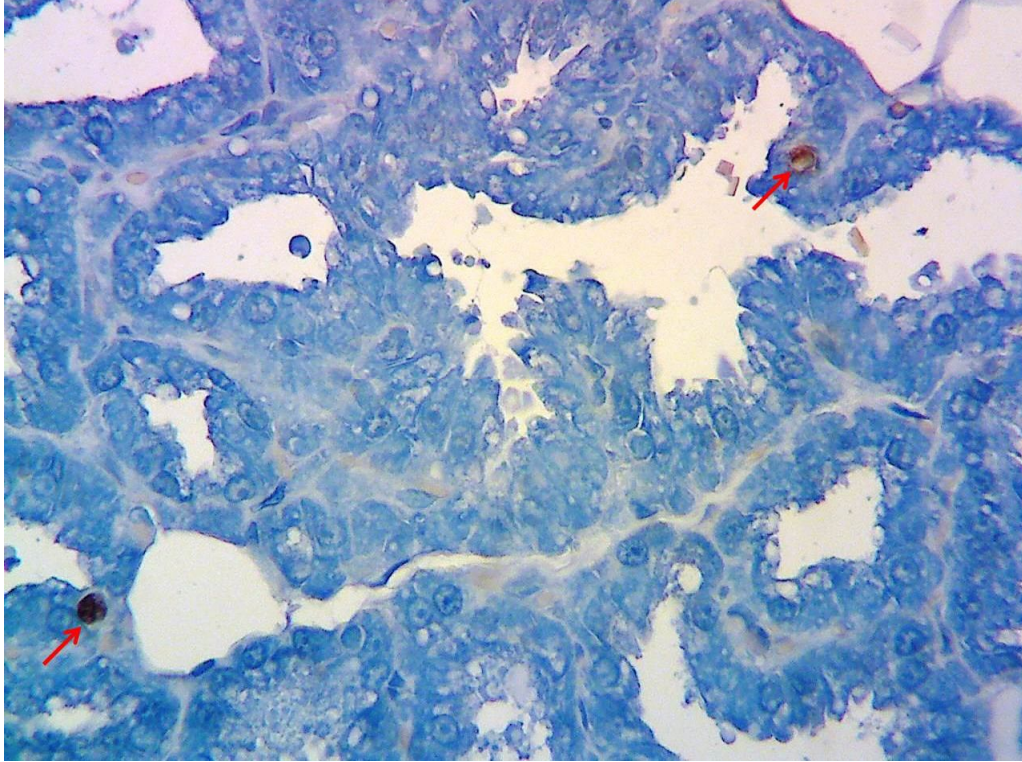
Şekil 20. Benfotiamin grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 21. TCE grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 22. TCE+ Benfotiamin grubu uterus dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 23. Pozitif kontrol. Meme dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).

3.3. Histolojik Bulgular

Over dokusunun Masson's trichrome ile boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Kontrol (Şekil 24, 25) ve Benfotiamin (Şekil 26, 27) gruplarına ait over dokuları normal görünümdeydi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; TCE grubunda korpus luteumda belirgin olarak azalmış angiogenez (kırmızı ok), germinal epitelde dejenerasyon (siyah ok) (Şekil 28), over follikül rezervinde azalma ve folliküllerde dejenerasyon (follikül hücre kaybı+folliküler sıvı artışı) (kırmızı ok) (Şekil 29) gözlemlendi. TCE grubu ile kıyaslandığında TCE + Benfotiamin grubunda ise korpus luteum angiogenezinde ve over rezervinde anlamlı bir farklılık izlenmedi fakat folliküllerde dejenerasyon ve germinal epitelde (Şekil 30, 31) belirgin bir iyileşme olduğu gözlemlendi. Skala bar: 50µm. (Tablo 5, Tablo 6)

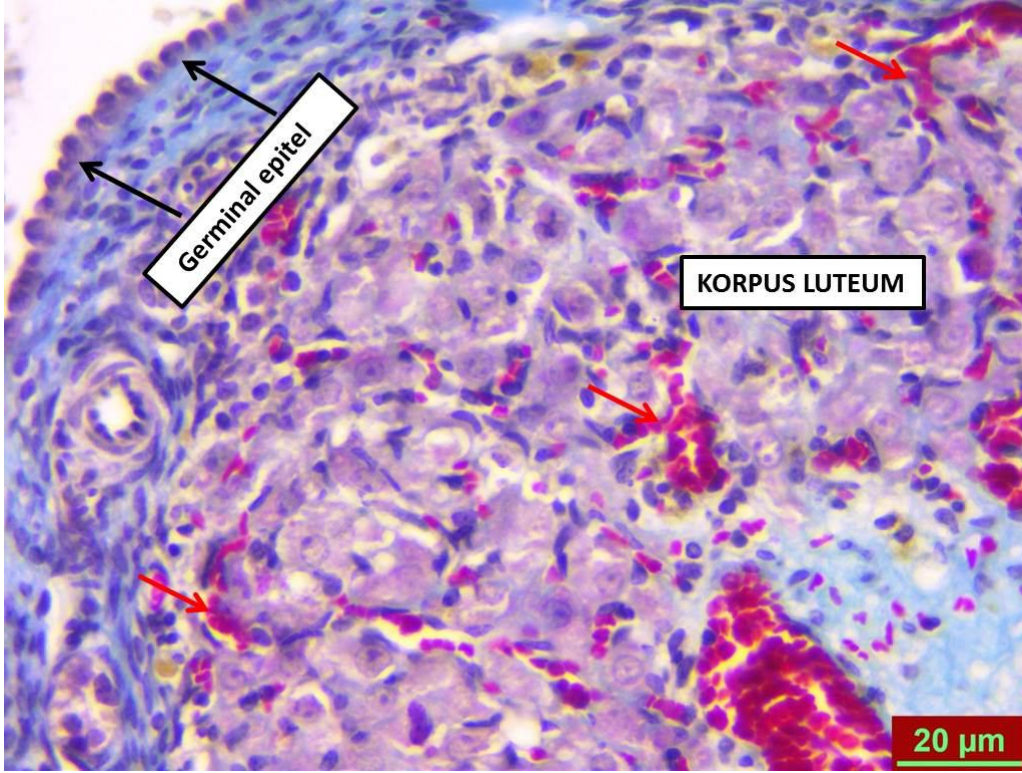
Tablo 5. Over Dokusu Histoskor ve Over rezervi

	Korpus	Germinal epitelde	Folliküllerde	Over rezervi
KONTROL	2.33±0.51	0.16±0.40	0.0±0.0	57.66 ± 4.08
BENFOTİAMİN	2.16±0.75	0.33±0.51	0.0±0.0	53.16 ± 6.21
TCE	1.33±0.51 ^a	1.33±0.51 ^a	1.66±0.81 ^a	35.50 ±6.25 ^a
TCE + BENFOTİAM	1.50±0.83	0.50±0.54 ^b	0.33±0.51 ^b	35.33 ± 5.00 ^a

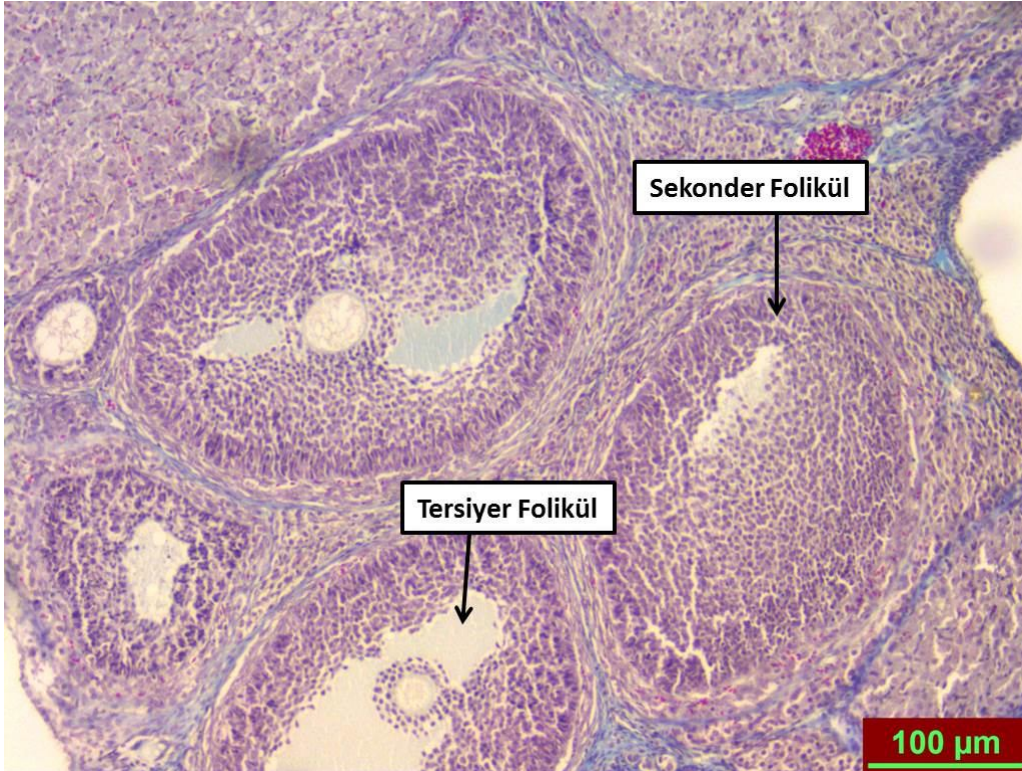
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

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



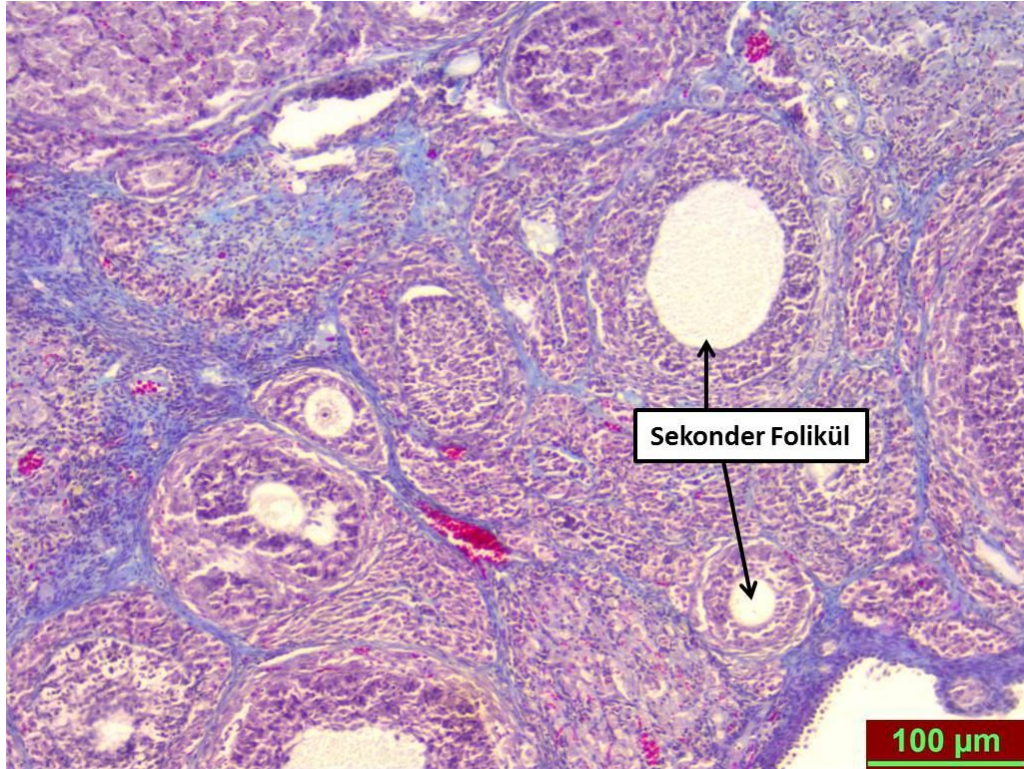
Şekil 24. Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



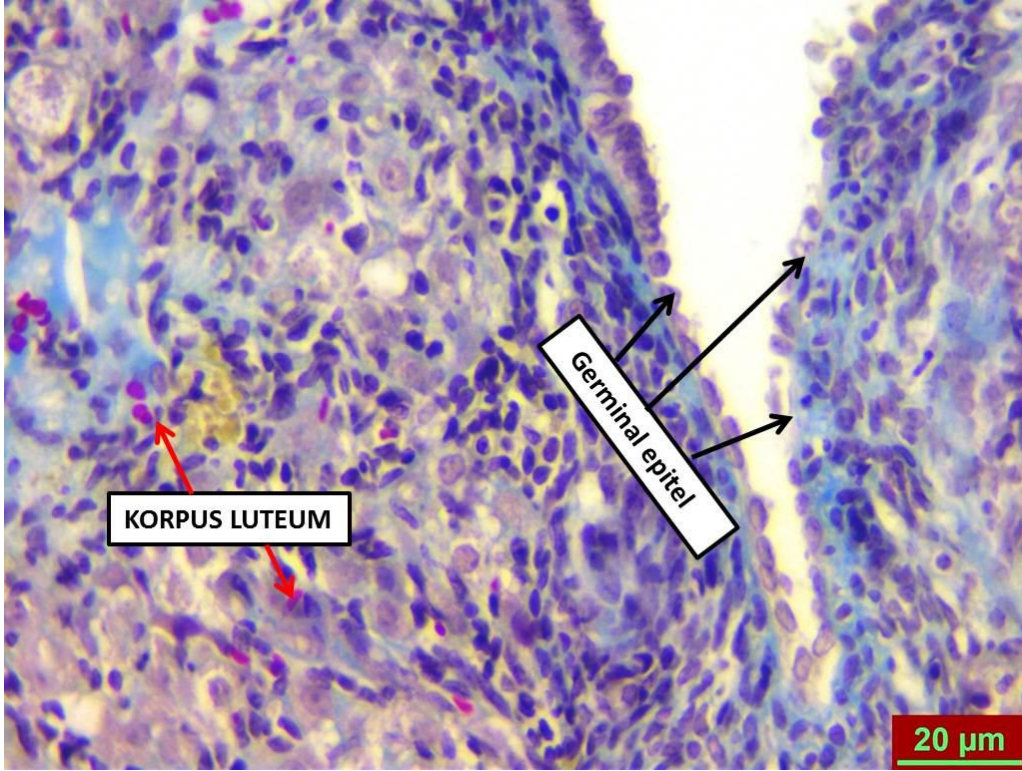
Şekil 25. Kontrol grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



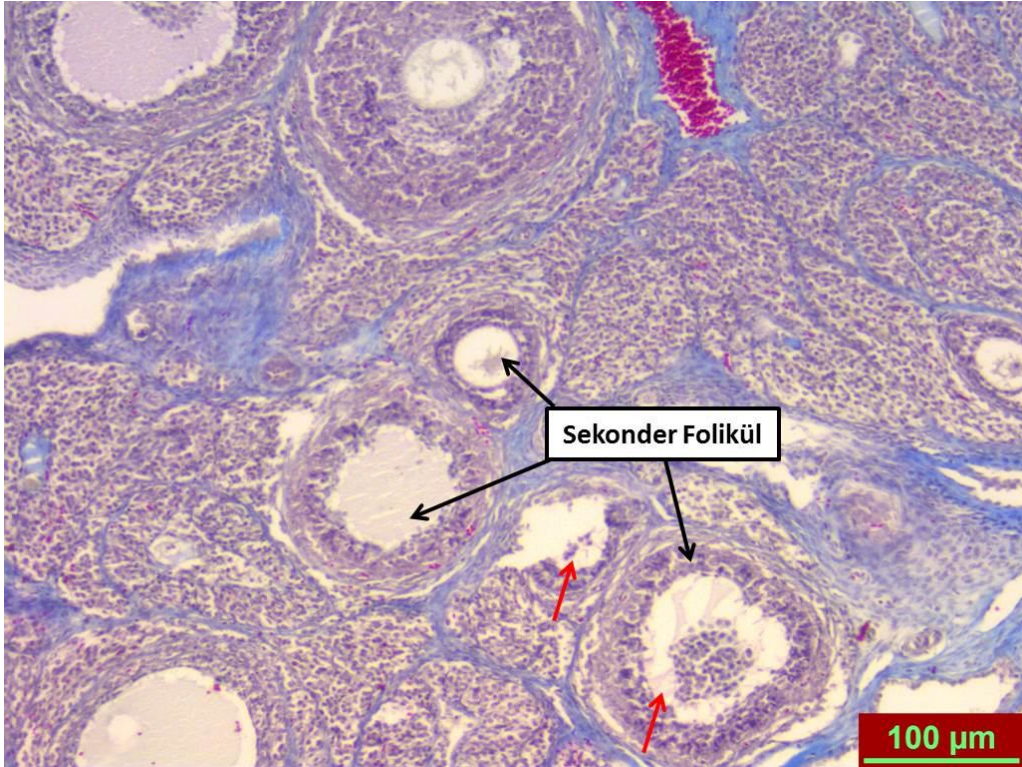
Şekil 26. Benfotiamin grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



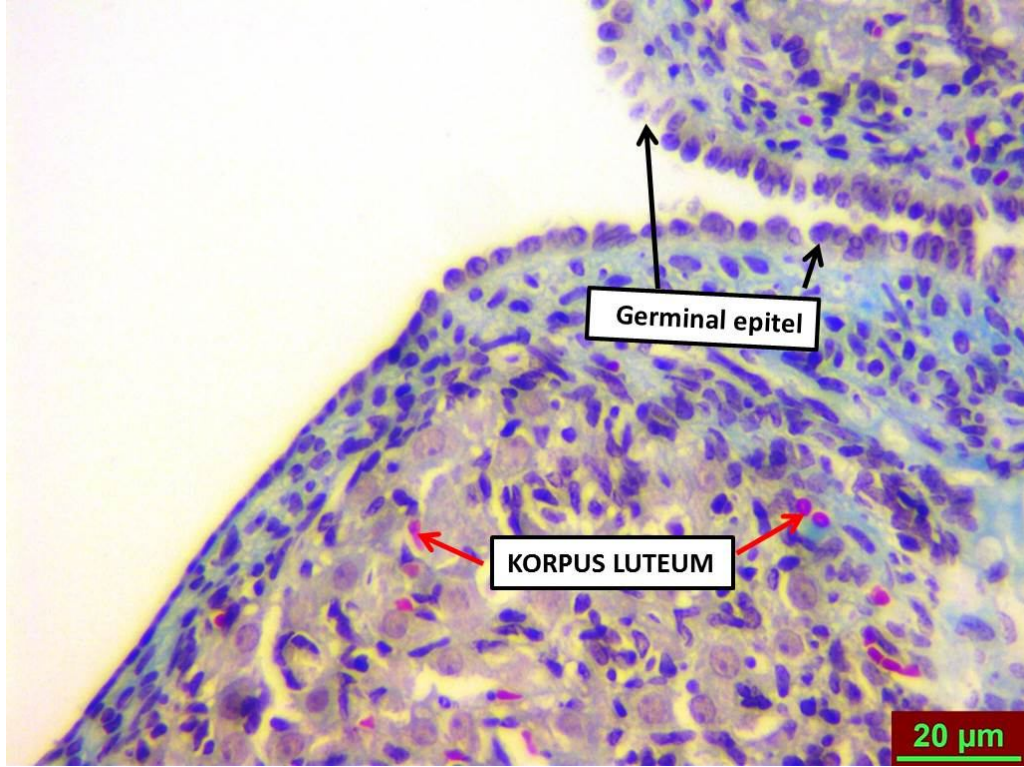
Şekil 27. Benfotiamin grubuna ait normal görünümlü over dokusu.



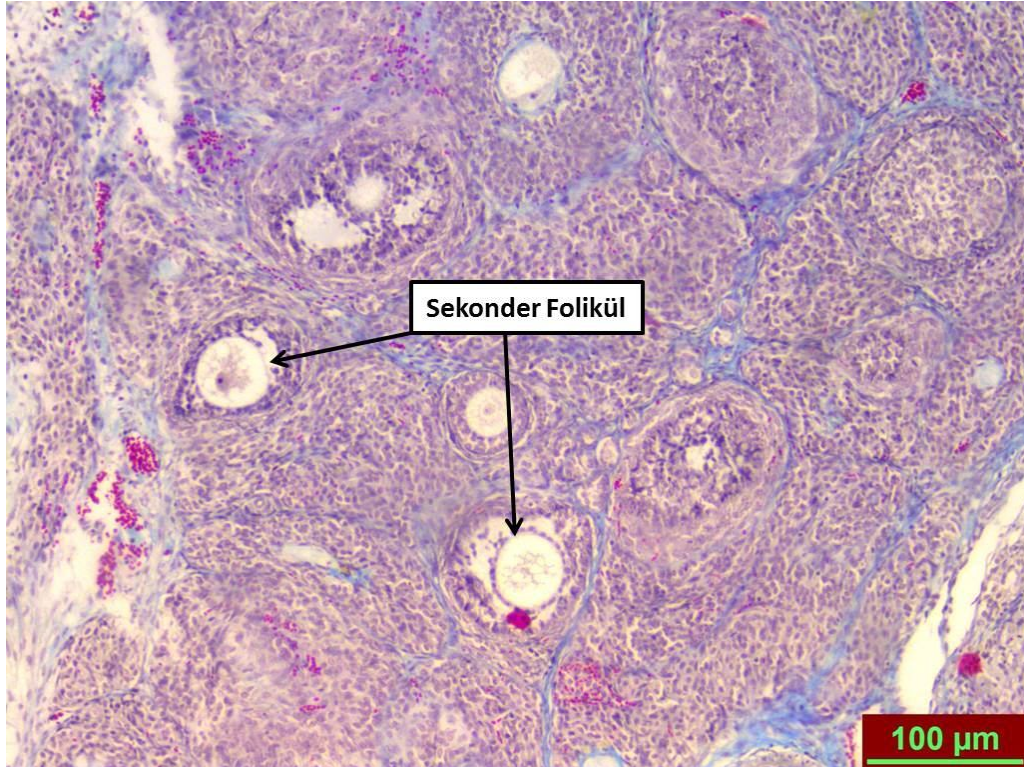
Şekil 28. TCE grubuna ait over dokusu.



Şekil 29. TCE grubuna ait over dokusu.



Şekil 30. TCE+ Benfotiamin grubuna ait over dokusu.



Şekil 31. TCE+ Benfotiamin grubuna ait over dokusu.

Uterus dokusunun Masson's trichrome ile boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Kontrol (Şekil 32) ve Benfo (Şekil 33) gruplarına ait uterus dokuları normal görünümdeydi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; TCE grubunda (Şekil 34) epitel ve fibrozis açısından bir fark gözlenmezken inflamatuvar hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi. TCE grubu ile kıyaslandığında ise TCE + Benfo grubunda (Şekil 35) inflamatuvar hücrelerde herhangi bir değişiklik gözlenmedi. (Tablo 5, 6)

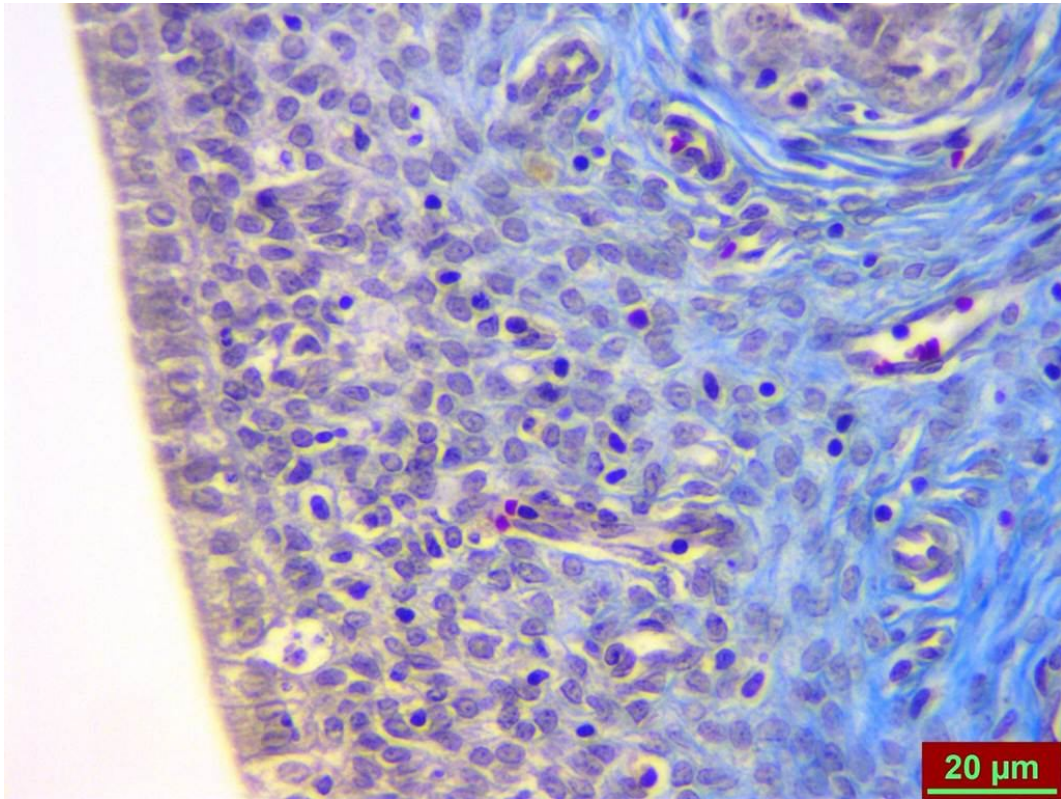
Tablo 6. Uterus Dokusu Histoskor

	İnflamatuvar hücre artışı	Epitelde dejenerasyon	Fibrozis
KONTROL	0.33±0.51	0.16±0.40	0.33±0.51
BENFOTİAMİN	0.50±0.54	0.33±0.51	0.16±0.40
TCE	2.83±0.40 ^a	0.33±0.51	0.33±0.51
TCE + BENFOTİAM	2.50±0.83 ^a	0.16±0.40	0.33±0.51

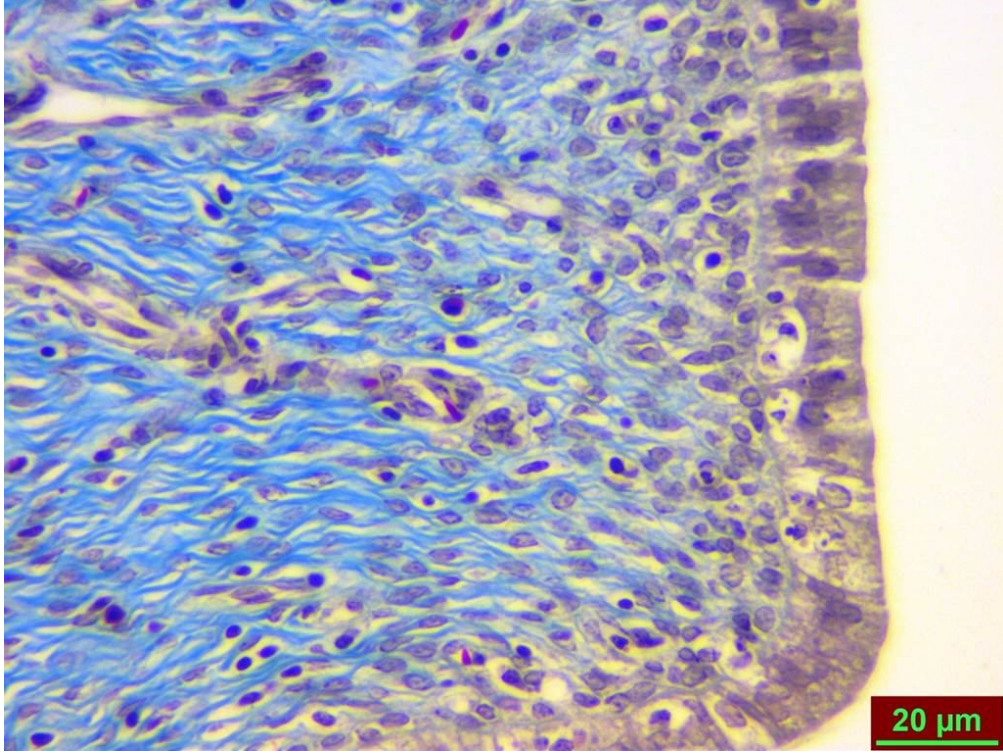
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

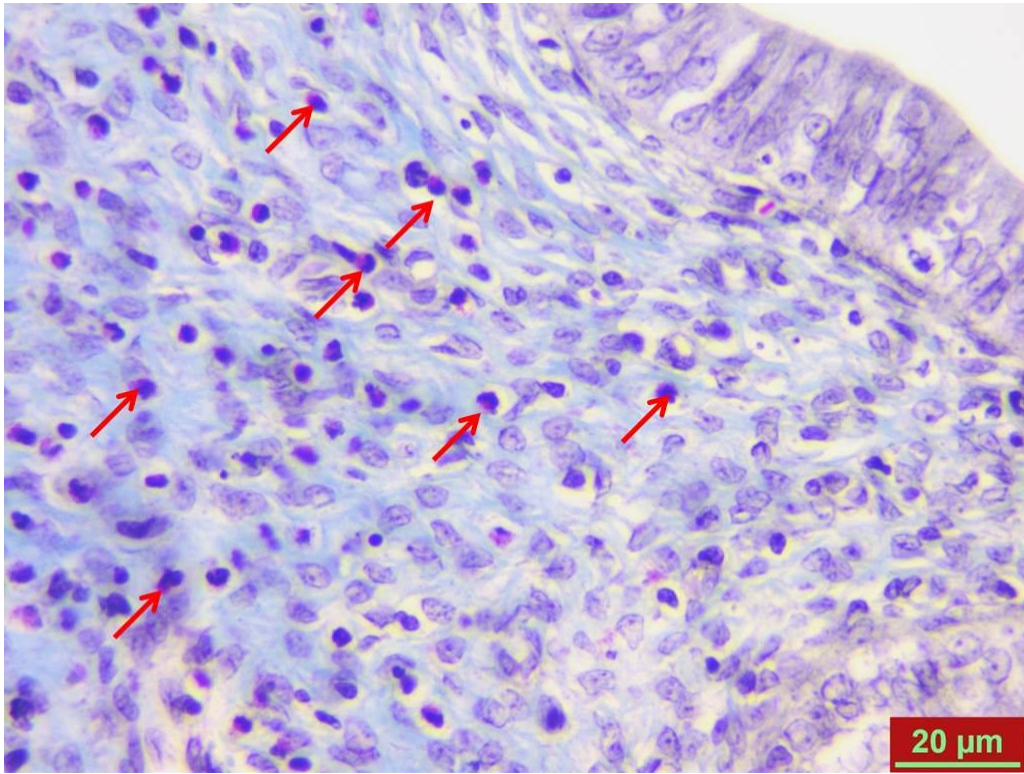
^b TCE grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



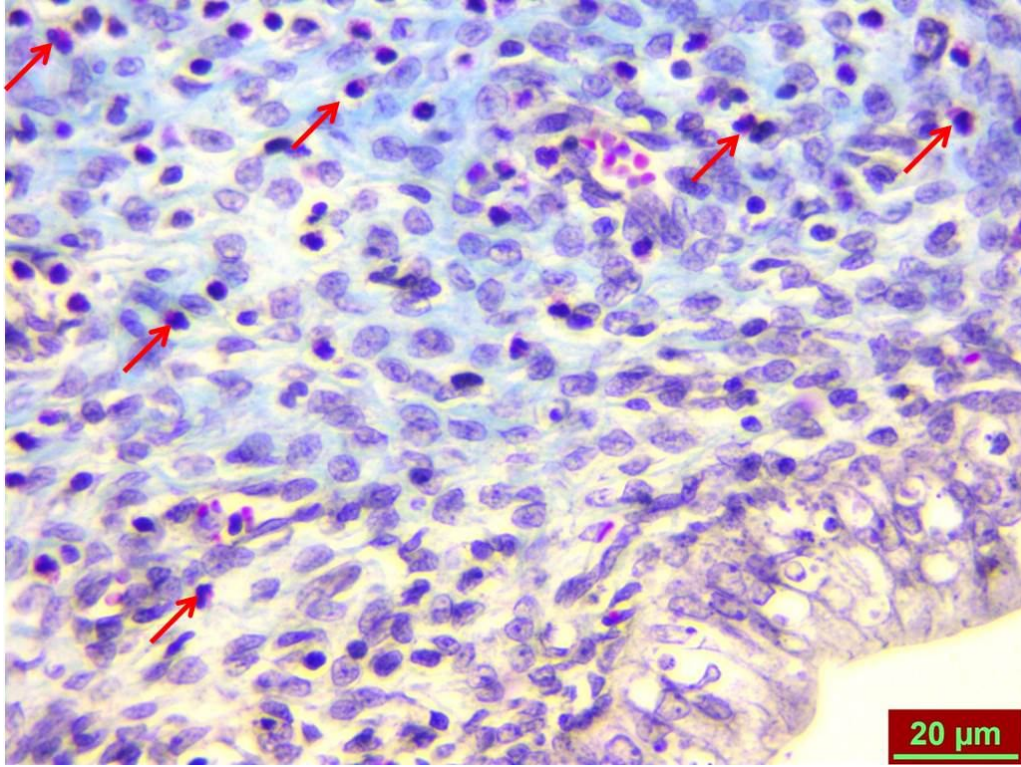
Şekil 32. Kontrol grubuna ait normal görünümlü uterus dokusu.



Şekil 33. Benfotiamin grubuna ait normal görünümlü uterus dokusu.



Şekil 34. TCE grubuna ait uterus dokusu.



Şekil 35. TCE+ Benfotiamin grubuna ait uterus dokusu.

4. TARTIŞMA

Endüstride metalleri indirgeyen bir ajan olarak da kullanılan TCE, bir çözücü olarak (örneğin; bilgisayar çiplerini ve elektronik aletleri temizlemek için)' da kullanılmaktadır. TCE, 9295 içme suyu raporunun % 25'inde saptanmıştır. (IARC, International Agency for Research on Cancer, 1995) ve ABD'de en fazla rapor edilen organik bir bileşik olan TCE ile içme suyu kaynaklarının % 34'ünden fazlası kontaminedir (84).

Mesleki ve çevresel kaynaklı olarak her yıl 3 milyonun üzerinde bireyin TCE'ye maruz kaldığı tahmin edilmektedir (86). Normal şartlarda doğada bulunmayan Trikloretilen atık ürün şeklinde zararlı, çevresel bir toksin olarak ortaya çıkmaktadır. TCE'nin yarı ömrü konsantrasyonuna bağlı olarak yer altı sularında 10.7 ay ile 4.5 yıl arasında değişmektedir ve parçalanma oranı TCE 'nin fiziksel durumuna bağlı olarak çevrede değişiklik gösterir (87).

İnhalasyon yolu ile maruziyetten sonra yüksek kan/gaz değişiminden dolayı 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. Risk yönetim analizlerinde TCE buharının dermal yoldan emilimi major yol olarak görülmez (89).

Solunum, dermal 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 (90).

Trikloretilen biyolojik membranlardan kimyasal özelliklerinden olan uçuculuk ve lipofilité nedeni ile hemen absorbe edilir. TCE akciğerlerden veya gastrointestinal sistemden maruziyet durumunda hızlı ve büyük oranda absorbe edilir. TCE absorbe olduktan sonra akciğerler, karaciğer, böbrekler ve sinir sistemi gibi hedef organlara dağılır (89).

Trikloretilenin erkek üremesi üzerine negatif etkiye sahip olduğu deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda gamet seviyesinde, gösterilmiştir (5, 93).

Trikloretilenin de içinde olduğu klorlu çözücülere maruziyet ile azalmış semen konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal spermin artan yüzdeleri arasındaki ilişkiyi son epidemiyolojik çalışmalar göstermiştir (87, 88).

Paternal TCE maruziyeti spontan düşüklerin riskinde artış, azalan implantasyon oranı, azalan fertilizasyon ve geç gebelik ile ilişkilendirilmiştir. (94, 95, 96)

Sitokrom p450 2E1, TCE'nin oksidatif metabolizmasından sorumlu temel enzim'dir (89, 97).

Sitokrom p450 2E1 aktivitesi sonuçları, ovaryum TCE metabolizması ya da tce metabolitlerinin bulunmasını takiben oluşan oksidatif hasarın oosit döllenenin azalmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (98, 98).

Bir dişinin yüksek seviyede TCE'ye maruziyetinden sonra in vivo olarak oosit döllenenini geçici olarak engelleyebileceğini yapılan çalışmalar 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).

Trikloretilen serbest radikal oluşturuyor olarak bilinsede nedeni artmış oksidatif stres ve otoimmün cevap induksiyonudur (11).

Farklı doku ve organlarda Trikloretilen'nin oksidatif strese bağlı hasar oluşumunu indüklediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (101-104).

Suda çözülebilen bir vitamin olan tiamin bakliyat, hububatta, kuru fasulyede, fındıkta, ekmekte, soyada, yağsız ette ve balıkta bulunur. Hücresel enerji metabolizmasında karbohidratların enerjiye dönüştürülme sürecine tiamin, yardımcı olarak önemli bir rol oynar. Tiamin; kalbin, kasların ve sinirlerin normal durumda çalışması için gereklidir ve farklı metabolik bozuklukların tedavisi için faydalıdır (106, 107).

Benfotiamin; başka bir tanıma göre B1 vitamininin yağda eriyen türüdür. Normal suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, özel yağda çözülebilen B1 vitaminine ise benfotiamin denilir (13). Benfotiamin

transketolaz aktivitesinde artışa neden olarak pentoz fosfat yolunu aktive eder. Bu yolağın aktive olmasıyla da vasküler hasara oluşumuna neden sayılan heksosamin yolağı, hücre içi AGE oluşum yolu ve DAG/Protein kinaz C yollarının etkilerinin azalmasına sebebiyet verir (14).

Yapısı nedeniyle hakiki tiamine göre benfotiamin; çok daha yüksek bir biyoelverişliliğe sahiptir. Bu özelliğiyle benfotiaminin, suda-çözülebilir tiamine göre vücutta daha kolay absorbe edildiği ve oral uygulamada eşdeğer bir tiamin dozuna göre en az beş kat daha yüksek tiamin-plazma konsantrasyonuna yani suda çözülebilir tiamine göre beş kat daha yüksek plazma düzeylerine ulaşabilme etkinliğine sahip olduğu bildirilmiştir (111-114).

Benfotiaminin insan endotel hücrelerinde ilerlemiş glikasyon son ürünlerin (Advanced Glycation Endproduct, AGE) artışını engellediği görülmüştür (119). Yüksek glikoz hasarlarında benfotiamin koruyucu etkiye sahiptir (120). Hücrede çevresel oksidan ajanların etkisini kendi üzerine çeken redükte glutatyon (GSH), antioksidan gibi davranarak hücrenin fonksiyonel proteinlerini okside olmaktan korur. Bu arada glutatyonun kendisi oksitlenir (GSSG). Bu okside glutatyonun fonksiyonunu yapabilmesi NADPH ile tekrar redükte hale gelmesi ile mümkündür. Pentoz fosfat yolu NADPH için önemli bir kaynaktır ve tiamin de bu yolu aktive edici olduğundan dolayı bir antioksidan olarak kabul edilmiştir (121-123).

Çalışmamızda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TCE grubunda over dokusunda MDA ve apoptotik hücre sayısının anlamlı olarak artışı ile birlikte korpus luteumda belirgin olarak azalmış angiogenez, germinal epitelde dejenerasyon, over follükül rezervinde azalma ve follüküllerde dejenerasyon gözlemlendi. Tedavi olarak benfotiamin verilen grupta ise MDA ve apoptotik hücre sayısında anlamlı olarak azalma ile birlikte over rezervinde anlamlı bir farklılık izlenmedi fakat follüküllerde dejenerasyon ve germinal epitelde belirgin bir iyileşme olduğu gözlemlendi.

Lipit peroksidasyonun en önemli göstergesi malondialdehidir. Dokularda lipid peroksidasyon oluşumuna bağlı olarak artan MDA, hücre zarı bütünlüğünün bozulmasına, geçirgenliğin artmasına, ATP kaybına, DNA hasarına ve hücre

ölümleri ile sonuçlanan fizyolojik, metabolik ve fonksiyonel bozukluklara yol açabilmektedir (141, 142).

Parrish ve ark. (143) TCE nin karaciğerde oksidatif strese neden olduklarını göstermişlerdi.

Siddiqi ve ark. (144) ları ise TCE nin böbrekte apoptozis ve oksidatif stresi arttırdığını belirtmişlerdir.

Gurbuz ve ark. (145) 2013 yılında yaptıkları çalışmalarında TCE nin MDA değerlerini arttırdığını göstermişlerdir.

Ayrıca yapılan çalışmalarda TCE nin erkek üreme sistemi üzerine fertilizasyonu azalttığı sperm proteinlerinde oksidasyona neden olduğu ve fertilizasyon kabiliyetini azalttığı bildirilmiştir (5, 93).

Lash ve ark. TCE metabolizmasının oksidatif yolları etkilediğini göstermişlerdir (89).

Berger ve Horner ise TCE nin oosit kalitesine toksik etkili olabileceğini bildirmişlerdir (8).

Çalışmamızdaki over dokusunda TCE grubunda artan MDA değerleri TCE'nin oksidatif hasarı arttırdığını ve benfotiamin antioksidan özellik gösterdiğini ve bu şekilde apoptozis ve histopatolojik değişiklikleri düzelttiği söylenebilir.

Uterus dokusunda gruplar arasında TUNEL pozitifliğinde fark gözlenmedi. Uterus dokusunda MDA düzeyleri; Kontrol grubuyla kıyaslandığında TCE grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak azalmış bulundu. TCE grubuyla kıyaslandığında ise TCE + Benfotiamin grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak artmış izlendi. Histopatolojik olarak Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; TCE grubunda epitel ve fibrozis açısından bir fark gözlenmezken inflamatuvar hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi. TCE grubu ile kıyaslandığında ise TCE + Benfotiamin grubunda inflamatuvar hücrelerde herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

Uterus dokusundaki TCE grubunda MDA değerlerindeki azalmalar dikkat çekici olup over dokusu değerleriyle zıtlık göstermekteydi. Fakat yapılan bazı çalışmalarda artış beklenen MDA değerinin azaldığını gösteren çalışmalarda gösterilmiştir (146, 147).

Uterus dokusundaki MDA değerindeki azalma ile TCE + benfotiamin grubundaki MDA seviyesinin TCE ye göre artışı benfotiaminin endojen antioksidanları baskıladığı şeklinde açıklanabilir.

Sonuç olarak, deneysel TCE uygulanmasının over dokusunda MDA ve apoptotik hücreleri arttırdığı, histopatolojik değişiklikler yaptığı, tedavi olarak verilen benfotiaminin MDA ve apoptotik hücreleri azalttığı, uterus dokusunda ise TCE grubunda MDA değerinde azalma olup apoptozisde değişik yapmadığı, gelecekte farklı deneysel TCE süreleriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine sonucuna varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Wu KL, Berger T. Trikloretilen 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 Trikloretilen 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 Trikloretilen in a mutistrain 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. Trikloretilen 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 Trikloretilen: sperm protein oxidation and decreased fertilizing ability. *Biol Reprod* 2004; 70: 1518-26.
6. US Environmental Protection Agency. Health Assessment Document for Trikloretilen. 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 Trikloretilen exposure and kidney cancer risk: a meta-analysis. *Occup Environ Med* 2012; 69: 858-67
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 trichloroethene-mediated autoimmunity by attenuating oxidative stress. *Toxicol Appl Pharm* 2013; ; 273: 189-195.

11. Channel SR, Latendresse JR, Kidney JK, Grabau JH, Lane JW, Steel-Goodwin L, Gothaus MC. A subchronic exposure to Trikloretalen 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 Trikloretalen exposure from studies in mice and humans. *Environ. Health Perspect* 2009; 117: 696–702.
13. Anonymous [http: //www.mwt.net/~drbrewer/benfotiamine.htm/](http://www.mwt.net/~drbrewer/benfotiamine.htm/) 21.05.2010
14. Hammes HP, Du X, Edelstein D. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med* 2003; 9: 294-299.
15. Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, Battah S, Thornalley PJ. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes* 2003; 52: 2110-2120.
16. Langman’s Medikal Embriyoloji. Genital kanallar, kanal sisteminin farklanması. (Çev. Ed Başaklar AC). 7. Baskı Ankara: PALME Yay, 1996: 278-281.
17. Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y. Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287: 142-146.
18. Kayalı H, Satiroglu G, Tasyurekli M. İnsan Embriyolojisi, İstanbul 1992
19. Atasii T, Sahmay S. Jinekoloji. İstanbul: 2006.
20. Sample WF, Lippe BM, Gyepes MT. Gray-scale ultrasonography of the normal female pelvis. *Radiology* 1987; 125: 477.
21. Nussbaum A.R, Sanders R.C, Jones M.D, Neonatal uterine morphology as seen on real time US. *Radiology* 1997; 125: 477.
22. Grimes CK, Rosenbaum DM, Kirkpatrick J.A, Pediatric gynecologic radiology. *Semin Roentgenol* 1982; 4: 284.
23. Yildirim M. Klinik Jinekoloji. Ankara 1992: 1-8.

24. Junqueira LC, Temel Histoloji. (Çev. Ed. Aytakin Y, Solakoğlu S). Uterus histolojisi. 10. Baskı Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2006; 458-463.
25. Abraham L. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Prof.Dr. Ramazan Demir (çeviri editörü) Uterus histolojisi. Palme Yayıncılık. Ankara 2006; 578-581.
26. Berek SJ. Novak Jinekoloji. Onüçüncü baskı. Nobel Yayınevi, 2004: 164-169.
27. 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
28. Clement PB. Histology of the Ovary. Sternberg SS (ed): Histology for pathologists, 2nd ed. Lippincott-Raven, New York, 1997: 929-959.
29. 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.
30. Kamina P. L'Ovaire Anatomie gynécologique et obstétricale, Maloine 1974: 193–221.
31. <http://academic.amc.edu/martino/grossanatomy/site/Medical/CASES/>
32. Martini FH, Welch K. Fundamentals of Anatomy and Physiology, 2001: 233-237.
33. Sadler TW, Langman's Medikal Embriyolojisi (Çev. Başaklar AC, Sönmez K) 7. Basım, İstanbul: Palme Yayıncılık, 2007: 1-20.
34. Kierszenbaum LA. Histology and Cell Biology, 200: 565-567.
35. Karabulut O, Delilbaşı L, Oogenezis, Oosit Toplama Prosedürü, Oosit Morfolojisi in vitro Maturasyon. Delilbaşı L (Ed). IVF Laboratuar Yöntemleri, 2007: 85-86.
36. Erkoçak, A. Özel histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, 1982.
37. Gartner LP, Hiatt J. Colour text book of histology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: 458.

38. S. Histoloji Bursa: Uludag Üniversitesi Yayıncılık, 1986: 565.
39. Bukovsky A, Svetlikova M, Caudle MR. Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries. *Rep Biol Endocrinol* 2005; 3: 1-13.
40. 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.
41. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. (Çev. Demir R), Ankara: Palme Yayıncılık, 2006: 618.
42. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası, (Çev. Demir R), Palme Yayıncılık, Ankara, 2001; 366.
43. Esrefoglu M. Genel ve Özel Histoloji. Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık, Ankara, 2004: 356.
44. Fawcett DW. Bloom and Fawcett: concise histology. Chapman And Hall, U.S.A, 1997: 964.
45. Solomon EP. İnsan anatomisi ve fizyolojisine giriş, (Çev. Süzen LB), İstanbul: Birol Basın Yayın Dağıtım, 2000: 274.
46. 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.
47. <http://www.tarleton.edu/Departments/anatomy/ovary.html>
48. Delilbaş L. In Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi, 2008.
49. Colgar, U, in PCOS ve İnfertilite.2006, Medikal Yayıncılık, İstanbul
50. <https://courses.stu.qmul.ac.uk/smd/kb/microanatomy/humandev/answers> Erişim Tarihi: 10.07.2015
51. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley Erişim Tarihi: 10.07.2015

52. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, Temel Histoloji. Aytekin Y (Çeviren) Barış Kitabevi, 1995; 307-319.
53. Kahraman S, Yakın K. Ovulasyon İndüksiyonu, 2000: 24: 101.
54. Tremellen KP, Kolom GA, Lekam DN. Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve. Aust Nz j Obstet Gynaecol 2005; 45: 20-24.
55. 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: 1427-32.
56. 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.
57. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. Hum Reprod 2001; 7: 581-590.
58. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid life: implications for forecasting menopause. Hum Reprod 1992; 7: 1342-1346.
59. McKinlay SM, Brambilla DJ, Posner JG. The normal menopausal transition. Maturitas 1992; 14: 103-115.
60. 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.
61. 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.
62. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal FSH level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. Fertil Steril 1991; 55: 784-791.

63. 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.
64. 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.
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. 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.
69. Gruijters MJ, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol*. 2003; 211: 85-90.
70. Lass, A, Brinsden P. The role of ovarian volume in reproductive medicine. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 256-266.
71. Andolf E, Jørgensen C, Svalenius E. Ultrasound measurement of ovarian volume. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 387- 389.
72. Reuss ML, Kline J, Santos R. Age and ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 196; 174: 624-627.
73. 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.
74. 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.

75. Lass A, Sittle R, Abrams DC. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997; 12: 1028- 1031.
76. Speroff L, Glass N. H, Kase R. G. *Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility*. 6 th edition. 1999; 84: 171-213.
77. 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.
78. 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.
79. 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.
80. 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.
81. Güneş A. Trikloretilen ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarı Üzerine Thymoquinone'un Etkileri ve Heat Shock Protein 70'in İmmun Reaktivitesi. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
82. EPA, Sources, Emission and Exposure for Trikloretilen (TCE) and Related Chemicals, National Center for Environmental Assessment–Washington Office, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency 2001: 1–125.
83. Weiss, NS, Cancer in relation to occupational exposure to Trikloretilen. *Occup Environ Med* 1996; 53: 1–5.
84. ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1995. (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp19.pdf>).
85. Wu C, Schaum J. Exposure assessment of Trikloretilen. *Environ. Health Perspect* 2000; 108: 359–363.

86. ATSDR. Toxicological profile for Trikloretilen. US. Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 1997.
87. Howard PH, Boethling RS, Jarvis WF, Michalenko EM. Handbook of Environmental Degradation Rates. Lewis Publishers; Chelsea 1991.
88. ATSDR, ToxFAQs for Trikloretilen, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2003.
89. Lash LH, Fisher JW, Lipscomb JC, Parker JC. Metabolism of Trikloretilen. Environ Health Perspect 2000; 108: 177-200.
90. Jung HG, Kim HH, Song BG, Kim EJ. Trikloretilen hypersensitivity syndrome: a disease of fatal outcome. Yonsei Med J 2012; 53: 231-235.
91. 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.
92. Davidson IW, Beliles RP. Consideration of the target organ toxicity of Trikloretilen in terms of metabolite toxicity and pharmacokinetics. Drug Metab Rev 1991; 23: 493-599.
93. Xu H, Tanphaichitr N, Forkert PG, Anupriwan A, Weerachatanukul W, Vincent R, Leader A, Wade MG. Exposure to Trikloretilen and its metabolites causes impairment of sperm fertilizing ability in mice. Toxicol Sci 2004; 82: 590-597.
94. 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.
95. 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.

96. 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.
97. Miller RE, Guengerich FP. Oxidation of Trikloretilen by liver microsomal cytochrome P-450: evidence for chlorine migration in a transition state not involving Trikloretilen oxide. *Biochemistry* 1982; 21: 1090–1097.
98. 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.
99. Manson JM, Murphy M, Richdale N, Smith MK. Effects of Oral Exposure to Trikloretilen on Female Reproductive Function. *Toxicology* 1984; 32: 229–242.
100. 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.
101. Atkinson A, Meeks RG, Roy D. Increased oxidative stress in the liver of mice treated with Trikloretilen *Biochem Mol Biol Int* 1993; 31: 297-304.
102. Gharib OA, Gharib MA. Kombucha tea ameliorates Trikloretilen induced hepatic damage in rats via inhibition of oxidative stress and free radical induction. *Egypt J Sci Applic* 2008; 21: 481-498.
103. Gharib OA. Effects of Kombucha on oxidative stress induced nephrotoxicity in rats. *Chin Med* 2009; 4: 23.
104. Mansour HH, Hafez HF, Fahmy NM. Silymarin Modulates Cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *J Biochem Mol Biol* 2006; 39: 656-61.
105. Yumuturuğ U, Ellenberger HA. Trikloretilen ile çalışanların idrarlarında trichloroacetic asit ve trichloroethanol'ün kantitatif olarak tayini üzerinde çalışmalar. *Ankara Ecz Fak Mec* 1974; 4: 179.
106. Thornalley PJ. The potential role of thiamine (vitamin B(1)) in diabetic complications. *Curr Diab Rev* 2005; 1: 287–298.

107. Malecka SA, Poprawski K, Bilski B. Prophylactic and therapeutic application of thiamine (vitamin B1)—a new point of view. *Wiad Lek* 2006; 59: 383–387.
108. Fujiwara M, Watanabe H, Matsui K. Allithiamine, a newly found derivative of vitamin B1. *J Biochem* 1954; 41: 29–39.
109. Bitsch R, Wolf M, Moller J, Heuzeroth L, Gruneklee D. Bioavailability assessment of the lipophilic benfotiamine as compared to a water-soluble thiamine derivative. *Ann Nutr Metab* 1991; 35: 292–296.
110. Yadav UCS, Subramanyam S, Ramana KV. Prevention of endotoxin-induced uveitis in rats by benfotiamine, a lipophilic analogue of vitamin B1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 2276–2282.
111. Loew D. Pharmacokinetics of thiamine derivatives especially of benfotiamine *Int J Clin Pharmacol Ther* 1996; 34: 47-50.
112. Hilbig R, Rahmann H. Comparative autoradiographic investigations on the tissue distribution of Benfotiamine versus thiamin in mice. *Arzneimittelforschung* 1998; 48: 461–468.
113. Shoeb M, Ramana KT. Anti-inflammatory effects of benfotiamine are mediated through the regulation of the arachidonic acid pathway in macrophages. *Free Radical Biology & Medicine* 2012; 52: 182-190.
114. Sánchez-Ramírez GM, Caram-Salas NL, Rocha-González HI. Benfotiamine relieves inflammatory and neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 530: 48–53.
115. Balakumar P, Rohilla A, Krishan P, Solairaj P, Thangathirupathi A. The multifaceted therapeutic potential of benfotiamine *Pharmacological Research* 2010; 61: 482–488.
116. Volvert ML, Seyen S, Piette M. Benfotiamine, a synthetic S-acyl thiamine derivative, has different mechanisms of action and a different pharmacological profile than lipid-soluble thiamine disulfide derivatives. *BMC Pharmacol* 2008; 8: 10.

117. Gadau S, Emanuelli C, Linthout SV. Benfotiamine accelerate the healing of ischaemic diabetic limbs in mice through protein kinase B/Akt-mediated potentiation of angiogenesis and inhibition of apoptosis. *Diabetologia* 2006; 49: 405–420.
118. Marchetti V, Menghini R, Rizza S. Benfotiamine counteracts glucose toxicity effects on endothelial progenitor cell differentiation via Akt/FOXO signaling. *Diabetes* 2006; 55: 2231–2237.
119. Pomero F, Molinar Min A, La Selva M. Benfotiamine is similar to thiamine in correcting endothelial cell defects induced by high glucose. *Acta Diabetol* 2001; 38: 135-138.
120. Bakker SJ, Heine RJ, Gans RO. Thiamine may indirectly act as an antioxidant. *Diabetologia* 1997; 40: 741-742.
121. Pomero F, Molinar Min A, La Selva M. Benfotiamine is similar to thiamine in correcting endothelial cell defects induced by high glucose. *Acta Diabetol* 2001; 38: 135-138.
122. Bakker SJ, Heine RJ, Gans RO. Thiamine may indirectly act as an antioxidant. *Diabetologia* 1997; 40: 741-742.
123. Hsu GM, Chow BF. Effect of thiamine deficiency on glutathione contents of erythrocytes and tissues in rat. *Proc Soc Exp Bio Med* 1960; 104: 178-180.
124. Beltramo E, Berrone E, Buttiglieri S, Porta M. Thiamine and benfotiamine prevent increased apoptosis in endothelial cells and pericytes cultured in high glucose. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20: 330-336.
125. Winkler G, Pal B, Nagybeganyi E. Effectiveness of different benfotiamine dosage regimens in the treatment of painful diabetic neuropathy. *Arzneimittelforschung* 1999; 49: 220–224.
126. Sánchez-Ramírez GM, Caram-Salas NL, Rocha-González HI. Benfotiamine relieves inflammatory and neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 530: 48–53.
127. Shim JB, Yang DY, Han YK. Effect of Benfotiamine in Expression of Phosphodiesterase 5 and Isoforms in Type 2 Diabetic Rat Kidney. *Korean J Androl* 2010; 28: 93-99.

128. Hammes HP, Du X, Edelstein D. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med* 2003; 9: 294-299.
129. Wu S, Ren J. Benfotiamine alleviates diabetes-induced cerebral oxidative damage independent of advanced glycation end-product, tissue factor and TNF-alpha. *Neurosci Lett* 2006; 394: 158-162.
130. Yadav UCS, Subramanyam S, Ramana KV. Prevention of endotoxin-induced uveitis in rats by benfotiamine, a lipophilic analogue of vitamin B1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 2276–2282.
131. Balakumar P, Rohilla A, Krishan P, Solairaj P, Thangathirupathi A. The multifaceted therapeutic potential of benfotiamine *Pharmacological Research* 2010; 61: 482–488.
132. Gadau S, Emanuelli C, Linthout SV. Benfotiamine accelerates the healing of ischaemic diabetic limbs in mice through protein kinase B/Akt-mediated potentiation of angiogenesis and inhibition of apoptosis. *Diabetologia* 2006; 49: 405–20.
133. Ceylan-Isik AF, Wu S, Li Q, Li SY, Ren J. High-dose benfotiamine rescues cardiomyocyte contractile dysfunction in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Appl Physiol* 2006; 100: 150–156.
134. Woelk H, Lehl S, Bitsch R, Kopcke W. Benfotiamine in treatment of alcoholic polyneuropathy: an 8-week randomized controlled study (BAP I study). *Alc Alc* 1998; 33: 631–638.
135. Balakumar P, Kaur T, Singh M. Potential target sites to modulate vascular endothelial dysfunction: current perspectives and future directions. *Toxicology* 2008; 245: 49–64
136. Beltramo E, Berrone E, Tarallo S, Porta M. Different apoptotic responses of human and bovine pericytes to fluctuating glucose levels and protective role of thiamine. *Diab Metab Res Rev* 2009; 25: 566–576.
137. Oishi K, Barchi M, Au AC, Gelb BD, Diaz GA. Male infertility due to germ cell apoptosis in mice lacking the thiamin carrier, *Tht1*. A new insight into the critical role of thiamin in spermatogenesis. *Dev Biol* 2004; 266: 299–309.

138. Onodera K, Kisara K, Okabe H, Ogura Y. Studies on the effects of thiamine deficiency on rat testes. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1980; 76: 143–152.
139. Gangolf M, Czerniecki J, Radermecker M. Thiamine Status in Humans and Content of Phosphorylated Thiamine Derivatives in Biopsies and Cultured Cells. *Plos One* 2010; 5: 13616.
140. Lonsdale D. A Review of the Biochemistry, Metabolism and Clinical Benefits of Thiamin(e) and Its Derivatives Advance Access Publication 2006; 3: 49–59.
141. Tarin JJ, Brings J, Cano A, Serbest radikalleri antioksidanlar ve infertilite ile klinik ilişkiler. *Human Reproduction* 1998; 13: 2371-2376.
142. Günel E, Çağlayan F, Çağlayan O, Dilsiz A, Duman S, Aktan M. Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 1536-1539.
143. Parrish JM, Austin DK, Stevens DH, Kinder RJ. Haloacetate-induced oxidative damage to DNA in the liver of male B6C3F1 mice. *Toxicology*, 1996; 110: 103–111.
144. Siddiqi A, Nafees S, Rashid S, Sultana S, Saidullah B. Hesperidin ameliorates trichloroethylene-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Mol Cell Biochem*. 2015; 406: 9-20.
145. Gurbuz N, Coskun ZK, Omeroglu S, Bayraktar AC, Ciraci Z Antioxidative and therapeutic effects of spirulina on trichloroethylene induced cutaneous irritation balb/c mice. *Bratisl Lek Listy* 2013; 114: 192-198.
146. Li JY, Gu X, Zhang WH, Jia S, Zhou Y. GdCl3 abates hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting apoptosis in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 518-523.
147. Güneş TÜ, Badak Mİ, Kurtoğlu T, Karul A, Özkısacık EA, Dişçigil B. Rat Alt Ekstremitte İskemi/Reperfüzyon Modelinde İskemik Önkoşullama ve Ard koşullamanın Erken Dönem Etkileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2011; 12: 21-27.

6. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokulu Yakup Şevki Paşa ilkokulunda okudum. Ortaokulu Vali Muharrem Göktayoğlu ortaokulunda ve liseyi Mehmet Akif Ersoylisesi yabancı dil ağırlıklı bölümünde okudum. Tıp fakültesini Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesinde okudum. Mezun olduktan sonra mecburi hizmetimi Bingöl 'da yaptım. Daha sonra 2011'de yapılan Tıpta Uzmanlık Sınavı sonucu Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD'da araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu birimde çalışmaya devam etmekteyim.