



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

SİKLOFOSFAMİDE BAĞLI OVARYAN TOKSİSİTEYİ AZALTMADA  
SİLYMARİNİN ROLÜ

Dr. Pınar TÜRK

UZMANLIK TEZİ

Bursa - 2016



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

SİKLOFOSFAMİDE BAĞLI OVARYAN TOKSİSİTEYİ AZALTMADA  
SİLYMARİNİN ROLÜ

Dr. Pınar TÜRK

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: Doç. Dr. Kemal ÖZERKAN

Bursa - 2016

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Özet.....	iii
İngilizce Özet .....	iv
Giriş.....	1
Tarihçe.....	2
Over Anatomisi, Fizyolojisi, Histolojisi.....	3
Anatomi.....	3
Fizyoloji.....	4
Histoloji.....	4
Over Korteksi.....	5
Over Medullası.....	7
Korpus Luteum(Sarı Cisim).....	7
Over Rezervi.....	9
Yaş.....	9
Laboratuar Testleri.....	10
FSH.....	10
Östradiol.....	10
İnhibin B.....	11
Antimülleryan Hormon (AMH).....	11
CCCT(Clomiphene Citrat Challenge Test).....	12
GAST(GnRH Agonist Stimülasyon Test).....	12
Over Volümü ve Antral Folikül Sayısı.....	12
Prematür Ovaryan Yetmezlik.....	12
Kanser ve Kemoterapi.....	13
Giriş.....	14
Kemoteröpotiklerin Etki Mekanizması.....	14
Kemoteopotiklerin Hücre Siklusuna Göre Sınıflaması.....	14
Hücre Döngüsüne Spesifik Ajanlar.....	14
Hücre Döngüsüne Non-Spesifik Ajanlar.....	15

Kemoteropetiklerin Orijinlerine Göre Sınıflaması.....	15
Alkilleyici Ajanlar.....	15
Antimetabolitler.....	16
Antitümör Antibiyotikler.....	17
Mitotik Ağ İnhibitörleri.....	18
Hormonlar ve Hormon antagonistleri.....	18
Diğerleri.....	18
Kemoteropetiklerin Gonadal Toksisitesi.....	18
Siklofosfamid.....	19
Fertilite Korunması.....	22
Fertilite Koruyucu Tedavi Seçenekleri.....	22
Ovaryan Transpozisyon (Ooforoeksi).....	22
Ovaryan Supresyon.....	22
Kriyoprezervasyon.....	22
Silymarin.....	23
Silymarinin Antioksidan Etkinliği.....	25
Silymarinin Antienflamatuar Etkinliği.....	27
Silymarinin İmmün Sistem Üzerine Modülatör Etkinliği.....	29
Silymarinin Koruyucu Etkinliği.....	30
Silymarinin Farmakolojik Özellikleri.....	32
Gereç ve Yöntem .....	33
Eliza İle AMH Ölçümü.....	34
Over Dokusunun Histolojik İncelemesi.....	35
İstatistik ve Analiz.....	35
Bulgular.....	36
Tartışma ve Sonuç .....	42
Kaynaklar.....	47
Ekler.....	57
Ek-1: Kısaltmalar.....	57
Teşekkür.....	58
Özgeçmiş .....	59

## ÖZET

Kanser 2014 yılında Birleşmiş Milletler Uluslararası Kanser Ajansı tarafından hazırlanan kanser araştırmaları raporuna göre dünyada bir numaralı ölüm nedeni haline geldi (1).

Maalesef her yıl reproduktif dönemde binlerce kadın kanser tedavisi için sitotoksik kimyasal tedavi formlarına maruz kalmaktadır. Bu tedavi formlarının en önemli yan etkilerinden biri de prematür ovaryan yetmezlik gelişmesidir. Bu nedenle temel yandaş tedavi yaklaşımı fertilitiyi koruyucu işlemlerdir.

Silymarin, Silybum Marianum bitkisinden elde edilen flavinoiddir. Antiproliferatif, antiapoptotik, antioksidan antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkileri mevcuttur. Bu çalışmada siklofosfamidin over dokusu üzerine olan gonadotoksik etkilerinin önlenmesinde Silymarinin rolü olup olmadığının belirlenmesi amaçlandı.

Bu deneysel modelde siklofosfamidin ovaryan rezerve etkisi ve Silymarin tedavisinin koruyucu olup olmadığı, ovaryan folikül sayımı ve rat serumunda Anti Mülleryan Hormon (AMH) ölçülerek değerlendirilmesi planlandı.

Bu çalışmada, toplam 42 adet, 200 ±30 gr ağırlığında, ergin Wistar Albino dişi sıçan üzerinde çalışıldı.

Grup 1: Siklofosfamid+ Silymarin grubu (12 sıçan)

Grup 2: Siklofosfamid grubu (12 sıçan)

Grup 3: Kontrol Grubu 1 ( 6 sıçan)

Grup 4: Kontrol Grubu 2 ( 6 sıçan)

Grup 5: Kontrol Grubu 3 ( 6 sıçan)

Tüm gruplar değerlendirildiğinde AMH değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Histolojik değerlendirmede

siklofosfamid verilen grupta sekonder ve antral folikül sayıları anlamlı düzeyde düşük saptandı ( $p<0,05$ ). Silymarin verilen tüm gruplarda sekonder folikül sayısında fark yokken antral folikül sayıları anlamlı yüksek değerlendirildi ( $p>0.05$ ).

Çalışmamızda, Siklofosfamidin ovulatuvar süreçler içerisinde geç safhadaki folikülleri baskıladığı, antioksidan ve antiapoptotik özelliği olan silymarinin ise mevcut tedaviye eklenmesinin siklofosfamidin ovaryan toksisitesini özellikle antral foliküller düzeyinde anlamlı olarak azalttığı ortaya koyulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Silymarin, antimülleryan hormon, Over rezervi, siklofosfamid.

## SUMMARY

### **Protective Effect Of Silymarin On Cyclophosphamide Toxicity In Ovary**

International Agency for Research on Cancer (IARC) reveals that cancer is the most mortal disease in the 2014 (1).

Unfortunately, every year thousands of women in the reproductive period is exposed to the cytotoxic chemotherapy for cancer treatment. One of the most important side effects of chemotherapy is premature ovarian failure status in these patients. Therefore, additional therapeutic approaches in the treatment of women at reproductive age is bringing up the fertility preservation as a popular issue.

Silymarin, a flavinoid obtained from silybum marianum plants Antiproliferative, apoptotic, anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatory effects are known. The aim of this study is investigate the preventative role of silymarin's in ovarian cyclophosphamide toxicity. In this experimental study, type and severity of the damage and protectiveness of silymarin was defined by measuring the anti mullerian hormone (AMH) in the blood of the rat and histological tissue examination.

42 Wistar Albino rats between 100-200 gr and 8 weeks old were used in the present study.

Group 1: Cyclophosphamide + Silymarin (12 rats)

Group 2: Cyclophosphamide (12 rats )

Group 3: Control group ( 6 rats )

Group 4: Control group ( 6 rats )

Group 5: Control group ( 6 rats )

AMH levels did not show any significant difference in any group ( $p=0,005$ ). Microscopic studies revealed that the number of secondary and antral follicles were significantly ( $p<0.05$ ) reduced in the cyclophosphamid group compared to the control group. However, antral follicle counts were significantly higher in all groups were given silymarin.

In our study, we showed that cyclophosphamide has toxic effects on ovulatory follicles in the late phase of the ovulation, but adding silymarin is reduced its toxicity by antioxidant and antiapoptotic abilities.

Key Words: Silymarin, anti mullerian hormone, ovarian reserve, cyclophosphamide



## GİRİŞ

Kanser ölüm nedenleri arasında bugüne kadar kardiyovasküler sistem hastalıklarından sonra en sık ikinci neden olarak bilinmekteyken 2014 yılında Birleşmiş Milletler Uluslararası Kanser Ajansı tarafından hazırlanan kanser araştırmaları raporuna göre, kanser her yıl 8.2 milyon bireyin ölümüne sebep olarak dünyada bir numaralı ölüm nedeni haline geldi (1) Bununla birlikte son yıllarda kanser genetiği ve biyolojisindeki gelişmeler ve modern çok ajanlı sitotoksik kemoterapi ve radyoterapi formlarının tedaviye girmesi ile 5 yıllık sağ kalım oranları tüm kanser türlerinde artmıştır. Bunun sonucu olarak hayatta kalan kanser hastalarının yaşam kalitesi ile ilgili konular güncellik kazanmıştır.

Maalesef her yıl reproduktif dönemde binlerce kadın kanser tedavisi için sitotoksik kemoterapi formlarına maruz kalmaktadır. Bu tedavi formlarının en önemli yan etkilerinden biri de over dokusu üzerine olan gonadotoksik etkilerinden dolayı bu hastalarda prematür ovaryan yetmezlik gelişmesidir. Bu nedenle kanser tedavisi verilen reproduktif çağıdaki kadınlarda temel yandaş tedavi yaklaşımı fertilitiyi koruyucu işlemlerdir.

Medikal tedavi alan kanser hastalarında amenore ve erken menopozun temel mekanizması kemoterapi ve radyoterapinin over dokusunda over rezervini temsil eden primordial foliküllerin erken ve kitlesel kaybına neden olmasıdır. Kanser ilaçları ve radyasyon, hem oosit hem de onu çevreleyen granüloza hücrelerinde apoptozise yol açarak folikülün ölümüne yol açmaktadırlar. Verilen kemoterapi formunun şekli, tedavinin süresi ve dozu erken menopoz riskinin asıl belirleyicileridir. Yapılan klinik ve hayvan çalışmaları alkilleyici kategorideki (örnek siklofosfamid) kemoterapi ajanlarının over üzerinde en fazla toksisiteye sahip olduğunu göstermektedir. Siklofosfamid hem oosit hem de çevreleyen granüloza hücrelerinde hasara neden olarak folikül kaybı ve buna bağlı olarak erken over yetmezliğine sebep olmaktadır (2).

Silymarin, Silybum Marianum bitkisinden elde edilen bir flavinoiddir. Anti-hepatotoksik özelliği nedeniyle yıllardır klinik kullanımı mevcuttur ve içindeki majör biyoaktif komponent silibinindir. Antiproliferatif, pro-apoptotik antianjiyojenik, antioksidan antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkileri mevcuttur. Silymarin'in hepatit, siroz, prostat kanseri, kolorektal kanserler ve küçük hücreli akciğer kanserindeki etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir. Silymarin farklı ajanlara karşı kemopretentif etkinliği de gösterilmiş bir ajandır. Silymarinin kemopretentif etkisi antioksidan özelliğinin getirisi olarak serbest radikalleri düzenlemesi ile oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu ve TNF aracılığı ile oluşan serbest oksijen radikallerini suprese ederek etki gösterir (3). Hücre içi glutatyon peroksidaz aktivitesine etki ederek hücre içi glutatyon miktarını arttırarak siklofosfamidin sitotoksik etkisini azalttığı teorisinden yola çıkarak bu çalışmada siklofosfamidin over dokusu üzerine olan gonadotoksik etkilerinin önlenmesinde Silymarinin rolü olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu deneysel modelde siklofosfamid ile hasarın şekli ve şiddeti yanında Silymarin tedavisinin koruyucu olup olmadığı, ovaryan folikül sayımı ve rat serumunda over rezervi belirteci Anti Mülleryan Hormon (AMH) ölçülerek değerlendirilmesi planlanmıştır.

## **1.Tarihçe**

Overler tarihte ilk kez milattan sonra 1. yüzyılda antik çağın ilk jinekoloğu Soranus tarafından tanımlanmıştır (4). 1500'lü yıllarda Andreas Vesalius Ovaryan folikülleri ve korpus luteumu ilk ifade eden jinekolog iken korpus luteum ismini literatüre kazandıran 1697 Malpighi olmuştur. Aynı yıllarda Vesalius'un öğrencisi Fallopius ise tuba uterinaları ilk tanımlayan kişi olmuştur. Fallopian tüp ifadesi ilk kez 1600'lü yıllarda William Harvey'in üreme anatomisi ve fizyolojisi ile ilgili ilk orijinal kitabında kullanılmıştır. Van Leenwenhoek 1677'de memeli spermatozoasını keşfettikten sonra fertilizasyonun spermatozoa ve graaf folikülün birleşmesinden olduğunu öne sürmüştür (4).

## 2.Over Anatomisi, Fizyolojisi, Histolojisi

### 2.1. Anatomi

Overler kadın üreme sisteminin temel endokrin organı olup erişkin kadında uterusun her iki lateralinde iliak damarlar komşuluğunda medialde küçük pelvisin dış yan duvarları hizasında fossa ovarika adı verilen anatomik lokalizasyonda yer alırlar. Her biri ortalama 5 x 3 x 1,5 cm boyutunda ve 3 - 8 gr ağırlığında olmak üzere bir çift nöroendokrin organdır (5). Overler, ligamentum suspensoryum ovarii (infundibulopelvik ligaman) ile pelvik yan duvara, mesovaryum aracılığı (ligamentum latum) ile uterusun arka yüzüne, ligamentum ovarii proprium aracılığı ile de uterusun yan duvarına bağlanır. Mesovaryumun iki yaprağı arasında, over hilusuna ulaşan arter, ven, lenf damarları ve sinirler bulunur. Temelde korteks ve medulla olarak iki bölümden oluşur. Korteks bölümünde stroma içerisine yerleşmiş foliküller bulunur. Medullada ise fibromüsküler dokunun içerisinde mesovaryum içerisinde overe ulaşan vasküler yapılar vardır. Overler embriyolojik köken açısından bakıldığında erkekteki testisin homoloğudur (5).

Overlerin ana vaskülarizasyonu ovaryan arter ile sağlanırken overden ayrılan temel toplayıcı sistem elemanı ovaryan vendir. Ovaryan arter aortun lateralinden ayrılan bir arteriyel daldır. Ovaryan arter İfundibulopelvik ligaman içerisinden overin mezoovaryumuna kadar ulaşarak uterin arterin ovaryan dalı ile burada anastomoz yapar ve buradan çıkan arterioller ile over hilusundan medullaya girer (6). Overin venöz vasküler elemanları yine over hilusunda bir araya gelip bir plexus oluşturarak ovaryan vene drene olur ve yine infundibulopelvik ligaman aracılığı ile pelvisten ayrılan venlerden Sağ ovaryan ven direk inferior vena kavaya, sol ovaryan ven ise sol renal vene drene olur (5,6). Lenfatik dolaşım foliküllerin teka tabakasından başlar. Vasküler yapılardan bağımsız olarak stroma içerisinde kendi lenfatik plexusunu oluşturur. Takiben mesovaryumda efferent lenfatik damarlara ulaşır ve burada uterus ve tubalardan gelen afferent dallar ile subovaryan lenfatik plexusu oluşturur. Subaortik plexustan uzanan lenfatik dolaşım ise renal alt pol seviyesinde paraaortik lenf nodlarına drene olur. Özellik olarak

bu bölgedeki aksesuar lenfatikler subovaryan pleksusu bypass ederek broad ligamanı üzerinden internal iliak, eksternal iliak ve interaortik lenf nodlarına ya da round ligamanı üzerinden iliak ve inguinal lenf nodlarına drene olabilirler.

## **2.2.Fizyoloji**

Kadın üreme sistemin temel endokrin elemanı olan overlerin iki temel fizyolojik görevi vardır. Bunlar gametogenez ve steroid hormon üretimidir. Gelişim sürecine fetal gelişim evrelerinden başlayarak bakacak olursak ilk olarak 5. gebelik haftasında ilk gonad çifti mezonefroz üzerinde çöломik çıkıntı şeklinde belirir ve bu genital çıkıntı mezonefroz ile birlikte ürogenital çıkıntı olarak adlandırılır. Primordial germ hücreleri ortalama 6. Gebelik haftasında ektodermden köken alarak gelişen ilk ovum öncül hücreleridir ve 6.gebelik haftasında mitoz ile sayıları 10000'e ulaşır. 6-8 gebelik haftası arasında olan bu hızlı mitotik çoğalma ovaryan farklılaşmanın ilk bulgularıdır. 16-20 gebelik haftalarında bu sayı ortalama 6-7 milyona ulaşır. 11 -12 gebelik haftasında oogoniyalar 1.mayotik bölünme ile oositlere dönüşürler ve profaz aşamasında beklerler (7).

## **2.3.Histoloji**

Ovaryan hilus dışındaki over yüzeyi tek katlı kübik epitel tabakası ile örtülüdür. Bu epitel mezodermal çöломik epitelden gelişir ve germinatif epitel adını alır. Bazal membran üzerine yerleşmiş olan bu epitel histolojik preparasyon sırasında kolaylıkla döküldüğünden çoğu histolojik preparatlarda görülemez. Germinatif epitel altında bulunan, bağ doku tabakasına tunika albuginea adı verilir. Ovaryumun pembemsi-gri rengi bu tabakadan kaynaklanır (7). Ovaryum içte medulla dışta korteks olmak üzere iki bölgeden oluşur. Medulla hilus dışında tüm over dokusunda korteks ile çevrelenmiş durumdadır.

### 2.3.1. Over Korteksi

Korteks, over dokusunun zona parenkimotoza adı da verilen fonksiyonel bölümüdür. Epitel tabakası ve tunika albugineadan oluşur. Tunika albuginea kollajen ve retiküler liflerden zengindir ve korteks stromasını oluşturur. Buradaki bağ doku elemanları içsi hücreler epiteloide karakterde interstisyel hücrelere dönüşerek östrojen gibi hormon da salgılayabilirler (8). Yine Korteks stroması içinde çeşitli gelişme ve gerileme aşamalarında bulunan foliküller yerleşmiştir. Bu foliküller yaşamın farklı dönemlerinde fetal yapısal değişiklikler gösterirler. Örneğin fetal dönemde ovaryumlarda oogoniumlar izlenir ve intrauterin hayatta 20.gebelik haftalarında sayıları çoğalarak yaklaşık 7 milyona ulaşır. Oogoniumların çoğalıp, büyümesi ile oluşan; primer oosit ve etrafında yine tek sıra yassı epitelle çevrelenmiş bu yapılar primordial foliküller denir. Oositler 1.mayotik bölünmenin profaz evresinin diploten aşamasında kalarak dinlenme evresine girerler. Primordial foliküllerin bir kısmı büyüyüp gelişirken bazıları da dejenere olur, Böylece sayıları doğumda 2 milyon, pubertede ise 400 bin seviyesine iner. Primordial foliküller tunika albugineanın hemen altında gruplar halinde bulunurlar. Çapları 25-30 mikrondur. Puberte ile beraber her siklus primordial foliküllerden 5-10 tanesi, başta FSH etkisiyle, ileri gelişme aşamasına geçer primordial foliküller etrafındaki tek katlı yassı epitelyum kübik-prizmatikleşerek önce primer folikülü takiben folikül epiteli mitozla çoğalıp çok katlı hale gelince, multilaminar primer folikül halini alır. Preantral folikül adı verilir. Çok katlı folikül epiteli granüloza hücreleridir. Bu gelişme evresinde, oosit gelişip 60-80 mikronluk bir çapa ulaştığında ilk sıra granüloza hücrelerince yapılan PAS ( + ), zona pellucida adı verilen aselüler bir glikoprotein tabaka oosit'i çepeçevre sarar. Zona pellucidanın oositi koruyucu ve besleyici görevleri vardır ve döllenme sonrası zigottada varlığını geç blastokist evresine kadar sürdürür. Yine folikülün gelişim evreleri içerisinde folikülü çevreleyen hücrelerdeki farklılaşmalarla teka tabakası oluşur. Bu tabaka teka interna ve teka externa olarak ikiye ayrılır. Teka interna foliküle komşu iç tabakadır. İçsi hücrelerden ve kapiller damarlardan zengindir. Teka interna hücrelerinin hücre membranlarında LH reseptörleri bulunur

LH Salınımıyla faaliyete geçen bu hücreler androstenodion hormonu sentezlerler. Bu da granüloza hücrelerine geçer ve orada östrodirole dönüştürülür. Teka externa ise fibröz bağ dokusu yapısındadır. Kollajen demetler, düz kas hücreleri, stromal hücreler ve kan damarları içerir. Belirgin bir sınır göstermeden ovaryum stromasına karışır. Primer foliküllerde bu gelişme sürecinde folikülün çapı 200 mikron civarına ve granüloza hücreleri kalınlığı 6-12 sıraya ulaştığında, granüloza hücreleri arasında yer yer antrum adı verilen boşluklar belirir. Boşluklarda granüloza hücrelerinden salgılanan bir folikül sıvısı (likör foliküli) birikir. İlk antrum şekillendikten sonra folikülün adı artık sekonder foliküldür. Buna antral folikül adı verilir. Takiben antrumlar birleşir ve tek bir boşluğa dönüşür. Oosit 120-150 mikronluk çapa ulaştınca büyümesi artık durur. Kendisini saran zona pellusida ve birkaç sıra granüloza hücresi ile folikül boşluğuna doğru çıkıntı oluşturur. Bu yapıya kumulus ooforus adı verilir. Tüm bu gelişim süreci sekonder foliküllerden birkaç tanesi ileri gelişme göstererek olgun foliküle (graaf folikülü/preovulatuvar folikül) dönüşür ve genellikle her siklus bir graaf folikülü ovüle olur. Gelişen diğer foliküller ise bu aşamada atreziye uğrayarak atretik foliküllere dönüşürler (8).

Ovulasyon öncesi graaf foliküllü yaklaşık 2,5 cm'lik bir çapa ulaştıktan sonra ovaryum yüzeyine doğru çıkıntı yaparlar. Ovulasyondan yaklaşık 24-36 saat önce teka interna hücreleri gibi granüloza hücrelerinde de LH reseptörleri belirir, LH artışına bağlı olarak lokal bir takım faktörler aracılığı ile oosit birinci mayotik bölünmesini tamamlar, böylece Oosit II ve I. kutup hücresi meydana gelir. Oluşan Oosit II hemen ikinci mayoz bölünmesine başlar ve metafaz evresinde bekler. Oosit II etrafındaki korona radiata ve birkaç sıra folikül epiteli ile sarılı olarak folikül duvarından kopmuş, folikül boşluğu içinde serbest vaziyette durmaktadır. Olgun folikülün baskısı sonucu stigma bölgesi iskemiye uğrar, buradaki dokunun zayıflaması sonucu yırtılma olur (8). Ovulasyon gerçekleşir. Folikül yırtılır, oosit II kendisini saran korona radiata hücreleriyle birlikte batın içine atılırken tuba uterinanın fimbrial ucunda fimbrialar tarafından yakalanır ve tuba uterinanın ampuller bölgesine ulaşır. Tuba uterinada spermatozoon ile karşılaşır oosit ikinci mayotik bölünmesini de tamamlar ve zigot oluşur. Spermatozoon ortamda yoksa Oosit II, II. mayotik bölünmeyi tamamlayamaz, dejenere olarak menstrasyon ile dışarı atılır.

### **2.3.2. Over Medullası**

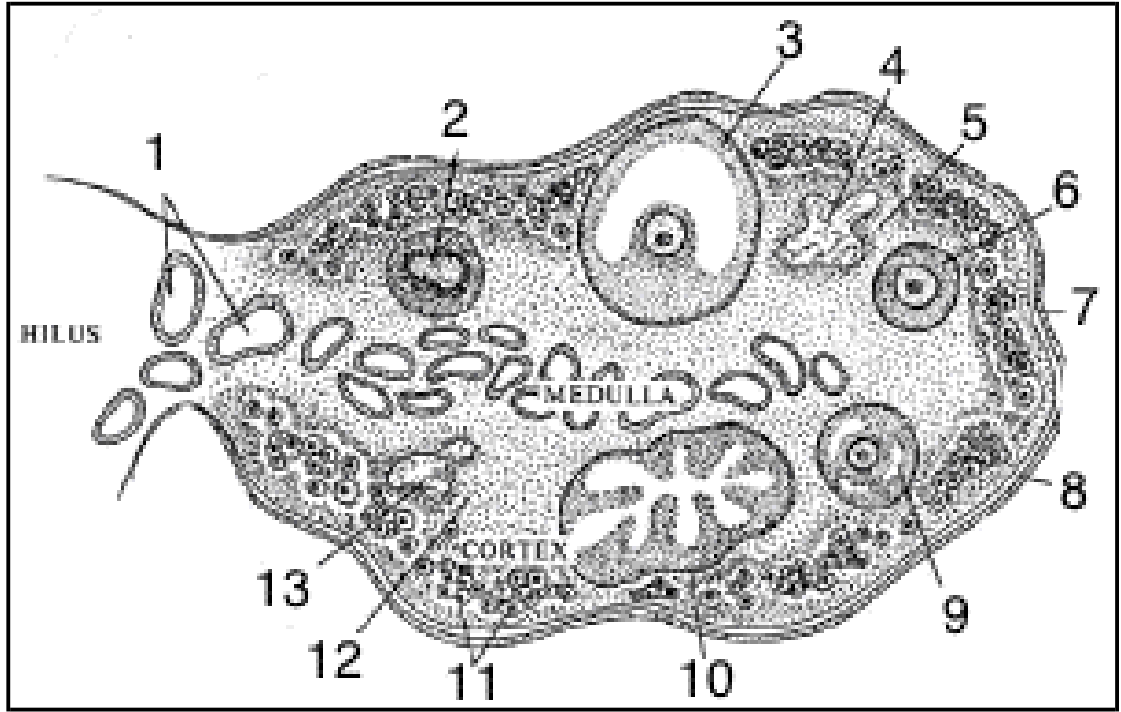
Elastik liflerden oluşan gevşek bağ dokusudur. Kapiller damarlardan zengindir. Bu nedenle zona vasküloza da denir. Overin lenfatik ve nöronal dokuları da burada bulunur. Medullada ayrıca bazı embriyolojik artıklara da (mezonefroz kalıntıları) rastlanabilir. Bunlar epooforon ve paraooforondur. Hilusta hilus hücreleri denen hormon salgılayan epitelooid hücreler bulunur. Bu hücrelerde hiperplazi olduğunda aynı leydig hücreleri gibi androjen salgıladıkları düşünülmektedir (8).

### **2.3.3. Korpus Luteum (Sarı Cisim)**

Ovulasyondan sonra geriye kalan Graaf folikülü artığı hemen dejenere olmaz ve geçici bir endokrin beze dönüşür. Bu sürecin gelişimi şöyledir. Folikülün bazal membranı yırtılır. Folikül sıvısı boşalır. Kandaki östrojen düzeyi düşer. Hipofizden salgılanan LH etkisiyle yapısal değişiklikler başlar. Teka externadaki düz kas liflerinin kontraksiyonu ile, büzüşen folikül boşluğu içine yırtılan kan damarlarından kan dolar, yeni vasküler yapılar oluşur (anjiyogenez). Membrana granüloza hücreleri büzüşmeden dolayı gerginliğini kaybeder. Kıvrımlı bir yapı kazanır. Steroid hormon salgılayan hücrelere özgü organellerle donatılırlar ve granüloza lutein hücreleri adını alırlar.

Relaksin ve progesteron hormonlarını salgırlar. Ayrıca teka lutein hücrelerinden gelen androjenleri östrojene çevirirler. Buna paralel olarak teka interna hücreleri de teka lutein hücrelerine dönüşürler. Bunlar granüloza lutein hücreleri arasına kama gibi sokulurlar. Bunlarda steroid hormon salgılayan hücre organellerince zenginleşirler. Östrojen, androjen, progesteron salgırlar. Böylece bir endokrin bez yapısına kavuşan bu folikül artığı, korpus luteum adını alır. Başlıca progesteron hormonu olmak üzere birçok hormon salgırlar. Korpus luteum tarafından salgılanan progesteron hormonu, hipofizin FSH salgılamasını durdurur. Böylece ovaryum korteksinde yeni primer foliküllerin gelişmesi önlenmiş olur. Ayrıca muhtemel bir gebelik için hazırlanmış olan endometrium korunmuş olur. Endometrial reseptivite düzenlenir ve implantasyon penceresi oluşur.

Eğer döllenme olmamışsa korpus luteum geriler ve atreziye gider. Buna menstrasyon korpus luteumu, korpus luteum menstrasyonis adı verilir. Takiben zamanla beyazımsı bir nedbe dokusuna dönüşür (korpus albicans), ve kaybolur. Ovulasyon döllenme ile sonlanırsa da gelişmesi devam eder. Buna gebelik korpus luteumu, korpus luteum graviditatis ve ya korpus luteum verum gibi adlar verilir. (8,9)



**Şekil 1:** Over Dokusu

Damarlar 2. Atretik folikül; 3. Matür Folikül; 4. Korpus Albicans; 5. Stroma; 6. Primer Folikül; 7. Küboid Epitel; 8. Tunika albuginea; 9. Sekonder Folikül; 10. Korpus luteum; 11. Primordial foliküller; 12. Stroma; 13. Korpus albicans



### 3.Over Rezervi

Overlerde fertilité potansiyelini gösteren en temel unsur primordial folikül havuzudur (10). Over rezervi, overde bulunan mevcut foliküler havuzdaki kantitatif ve kalitatif duruma bağlı olarak fertilité potansiyelini ifade eden bir tanımdır (11). Over rezervini değerlendirmede kullandığımız bir takım testler mevcuttur. Ancak bu yöntemlerin birbirlerine üstünlüğü hala tartışılmaktadır ve net bir fikir birliği oluşmamıştır (12).

Over rezerv testleri Şu şekilde özetlenebilir:

1.Yaş

2. Laboratuvar testleri

- FSH
- FSH/LH oranı
- Estradiol (E2)
- İnhibin-B
- Anti Mülleryan Hormon(AMH)

3 Dinamik testler:

- Klomifen Sitrat Tarama Testi (CCCT )
- GnRHa Stimülasyon testi (GAST)

4.Ultrasonograafik Göstergeler:

- Over volümü
- Antral folikül sayımı

#### 3.1.Yaş

Over rezervi yaşla paralel olarak azalma gösterirken ön planda olan biyolojik yaştır (13). Yaş, normal popülasyonda over rezervini göstermesi açısından güvenilirliği oldukça düşük bir yöntem iken infertil hasta popülasyonu içinde, özellikle yardımcı üreme yöntemlerinin başarısını ifade etmede, prognostik bir faktör olarak önemlidir (14).

## **3.2.Laboratuar Testler**

### **3.2.1. FSH**

Normal menstruel siklusta FSH düzeyleri değişken bir seyir izler. Örneğin, dominant folikülün seçilmesinde FSH'nın geç foliküler fazda minimal yükselişinin de katkısı mevcuttur. Folikül büyümesi ile birlikte artan östrojen seviyeleri ile FSH düzeyi düşer. Sonuçta bu seyirde FSH'ya olan foliküler duyarlılığı değerlendirmek için en ideal zaman luteofoliküler geçiş dönemidir. Bu edenle bazal serum FSH değeri siklusun 2-3. günlerinde çalışılır ve ölçüm üst sınırı 12 mIU/mL alınır. (9). Over rezervinin azaldığı durumlarda ovaryan östradiol düzeyi azaldığı için cevaben santral gonadotropin salınımı üzerindeki negatif feedback etkisi kalkar ve FSH yükseliş görülür.

### **3.2.2. FSH/LH Oranı**

Perimenopozal dönemde FSH ve LH değerlerinde artış göstermektedir. FSH değerindeki artış anovulatuvar siklulara sekonder LH'da ki artıştan daha fazladır. FSH/LH oranındaki artış kötü over rezervine işaret eden ilk belirteç olabilir (9).

### **3.2.3 Östradiol (E2)**

Menstural siklusun 3. Gününde bazal E2 ölçümü tek başına yaş ya da bazal FSH düzeyi ile kıyaslandığından daha kıymetli bir over rezerv belirteçidir (15). Siklusun 3. Gününde ölçülen E2 Düzeyi arttıkça elde edilen oosir sayısı ve gebelik oranları azalmaktadır. E2 >80 pg/m kötü prognoz işaretidir (16,17).

### 3.2.4. İnhibin B

İnhibin transforming growth faktör-b (TGF-b) ailesinden, hipofizden FSH salınımını inhibe eden, dimerik bir glikoproteindir (9,18). İnhibin A ve İnhibin B olmak üzere iki formu mevcuttur. Over rezerv belirteci olarak gelişmekte olan foliküllerden salgılanan B formu önemlidir. Serum inhibin B düzeylerinin mevcut folikül havuzu ile kalitatif ve kantitatif olarak orantılı olduğu düşünülmektedir (9,19). Hipofizden FSH salgılanmasını inhibe eder. Eşik değeri 45 pg/mL'dir. Yaşla birlikte azalma göstermez. Ovulasyon indüksiyonu yapılan hastalarda inhibin B düzeyi <45 pg/mL olduğunda ovulasyon indüksiyonuna yanıtın kötü olacağı düşünülür. Over rezervinden çok overyan yanıtı öngörmede prognozitik değeri mevcuttur. Özellikle infertil hasta popülasyonunda siklus iptallerini belirlemede bir belirteç olarak kullanılabilir.

### 3.2.5. Anti Mülleryan Hormon (AMH)

Anti Mülleryan Hormon (Mülleryan inhibing Faktör), disülfid bağlarıyla bağlanmış iki monomerden oluşan dimerik bir glikoproteindir (20). Transforming Growth Faktör-b ailesine üye glikoproteinlerden biridir (21).

Bütün yaşam boyunca kadınlarda Serum AMH seviyeleri, erkeklerden daha düşüktür. Ergenlikle birlikte, AMH primordiyal foliküllerde, folikül büyüklüğü 2-6 mm olana kadar üretilmeye başlanır. Büyük foliküllerde AMH üretiminin azalması östradiol beta reseptör yoluyla AMH geninin promotor aktivitesinin azalmasıyla olur. 8 mm üstündeki foliküllerde AMH neredeyse artık tespit edilemez (26). Büyük foliküllerde AMH seviyesinin azalması, bu foliküllerden gebelik elde edilme şansını arttırdığı için olumlu bir özelliktir (27). Dolayısıyla klinik pratikte, 25 yaş üstündeki kadınlarda AMH seviyelerinin yıllık olarak aynı ortalamalarla azaldığı ve 50 yaş dolaylarında, artık klinik olarak ölçülemediği konusunda görüş birliği vardır (22,23,24,25).

Büyük foliküllerde AMH seviyesinin azalması, bu foliküllerden gebelik elde edilme şansını arttırdığı için olumlu bir özelliktir (28). Seçilen foliküllerden birisi dominans kazanır ve bu evreden sonra FSH aktivitesiyle kontrol edilerek büyümeyi sürdürür (29,30). Bu dönemde AMH, olasılıkla FSH'ya bağlı folikül ve granuloza hücresi büyümesi ile aromataz aktivitesine

karşı inhibitör olarak işlev görmektedir (31,32) . AMH primordiyal foliküllerin seçimini azaltma yönünde işlev görüyor gibi gözükmektedir. AMH'nın düşük seviyede olduğunda primordiyal folikülden sekonder foliküle dönüşüm hızlanmaktadır (31).

AMH diğer testlere göre yakın tarihte over rezerv belirteci olarak kıymet kazanmış bir laboratuvar belirtecidir. Yaşa bağlı olarak over rezervindeki azalmayla paralel hızla azalan bir parametredir. Bununla birlikte, uygun eşik değeri üzerinde fikir birliği yoktur. 0.5 ng/ml üzerinde serum AMH seviyesi, iyi bir over rezervini gösterirken, daha düşük seviyeler tükenmiş over rezervine işaret eder (134). In vitro fertilizasyonda başarı, 0.15 ng/ml'den daha az serum AMH düzeylerinde çok azalmaktadır (133). AMH ölçümü siklus gününden bağımsız yapılır. Siklusun farklı günlerinde seri ölçüm yapılırsa dahi AMH seviyelerinde siklusun fazına göre anlamlı farklılık gözlenmemiştir (33,34).

### **3.2.6. Klomifen Sitrat Tarama Testi (CCCT )**

Siklusun 3. gününde serum FSH düzeyi bakılır. Takiben siklusun 5-9. günleri arası 100 mg/gün klomifen sitrat verilir ve 10. günde yeniden serum FSH düzeyi ölçülür (34). 10. Günde FSH yüksek çıkarsa test anormal kabul edilir. 3. gün bakılan FSh ile 10. Gün bakılan FSH değerlerinin toplamının 26IU/L geçmemesi beklenmektedir. Over rezervi normal olarak kabul edilen kadınlarda, klomifen sitratın indükleyeceği FSH yükselmesi, foliküllerden salgılanan E2 ve inhibin-B tarafından sınırlandırılır. FSH ya da AMH ölçümü gibi laboratuvar tekniklerinin yetersiz kabul edildiği aşamada yapılabilecek bir tetkiktir (34).

### **3.2.7. GnRH Agonist Stimülasyon Testi (GAST)**

GnRH'nın hipofizdeki flare-upetkisine bağlı olarak FSH ve LH artışı ve buna bağlı olarak serum E2 düzeyindeki artışına bakılır. Siklusun 2. gününde 1 mg GnRH agonist uygulamasını takiben siklusun 2. Ve 3. Günü serum östradiol değerleri ölçülür. Östradiol seviyesinde bazal değere göre iki kat artış saptandığında over rezervi normal kabul edilir.

### 3.3 Over Hacmi ve Antral Folikül Sayımı

Over volümü yaşla beraber azalır. Hayatın ilk dekatında 0,7 cm<sup>3</sup> iken puberteyi takiben 5,8 cm<sup>3</sup>'e kadar büyür (35). Over hacminin transvajinal yoldan ultrasonografik ölçümü, hızlı ve maliyet etkin bir yöntemdir. Ancak over volüm ölçümü over rezerv belirteci olarak ölçümü rutin önerilen bir değerlendirme antitesi değildir. Özellikle polikistik over sendromlu hastalarda görüldüğü gibi over volümü rezerv ile ilişkilidir. Yine antral folikül sayısı arttıkça over rezervinin de arttığı öne sürülmektedir. Aksi bakış açısıyla antral folikül sayısı <6 olan hastalarda ovaryan cevap kötüdür (36). Antral folikül sayısı kronolojik yaş ile en iyi korelasyon gösteren parametredir.

### 3.4 Prematür Ovaryan Yetmezlik

Üreme çağındaki kadınlarda 40 yaşından önce amenore ve hipoöstrojenizm semptomları ile bulgu veren ( FSH, LH ) gonadotropin yüksekliği ve östrojen düşüklüğü ile karakterize bir tablodur. Prematür ovaryan yetmezliğin görülme sıklığı popülasyonlar arası değişmekle birlikte 40 yaşından genç kadınların yaklaşık %1, 30 yaşından genç kadınların yaklaşık % 0,1, 20 yaşından genç kadınların %0.01 kadarını etkilemektedir (37). Kırk yaşın altında, dört aydan uzun süre amenoresi olan kadınlarda, en az bir ay ara ile bakılan iki FSH değerinin >40 IU/Le saptanması, prematür ovaryan yetmezliği düşündürür. (38,39)

POY iki temel mekanizma ile gerçekleşir: Hızlı folikül kaybı ve folikül disfonksiyonu (6). Foliküllerin erken kaybı temelde, primordial folikül havuzunun yetersiz olması nedeniyle erken tükenme ya da folikül havuzu yeterli olsa dahi mevcut foliküllerin hızlı atrezisi nedeni ile gerçekleşebilir. Folikül tüketiminin artması ise foliküllerin otoimmün ya da toksik olarak (örn.kemoteropötik ajanlarla) yıkılması sonucu olabilir. Folikül disfonksiyonunda ise, reseptör mutasyonları gibi sebeplerle mevcut foliküllerin normal fonksiyonu bozulduğundan izlenen ovaryan yetmezlik durumudur (40). POY olgularının yaklaşık % 85-90'ında etyoloji bilinmemektedir. Bulunabilen önemli nedenler genetik patolojiler (Turner

sendromu gibi sayısal ya da yapısal kromozomal anomalileri), otoimmün hastalıklar (Adison Hastalığı, Myastenia Graves, Otoimmün hipotiroidi) radyoterapi ve günümüzde giderek önemi artan kemoterapidir. Radyoterapi, kemoterapi gibi iyatrojenik ajanlar, folikül sayısını azaltmak suretiyle etki ederler. Folikül kaybının yaygınlığı etken ajana maruziyetin süre ve dozu ile orantılıdır (41).

## **4.Kanser ve Kemoterapi**

### **4.1.Giriş**

Her yıl 8,2 milyon bireyin ölümüne sebep olarak kanser dünyada bir numaralı ölüm nedeni haline geldi (1). Çok ajanlı sitotoksik kemoterapi formlarının tedaviye girmesi ile 5 yıllık sağ kalım oranları artarken, kemoterapötik ajanlar üzerine olan çalışmalar her geçen gün yoğunluğunu artırmaktadır. Kanser kemoterapisinde kullandığımız sitotoksik ajanların etki mekanizması genel hücre çoğalma mekanizmalarını hedef alması ve bu sayede yüksek çoğalma potansiyelinde sahip tümör hücrelerinde yıkıma sebep olmasıdır. Ancak etkilediği yolağa bağlı olarak en temel yan etkisi normal dokulara oluşturduğu sitotoksik etkisidir

### **4.2.Kemoteröpotiklerin Etki Mekanizmaları**

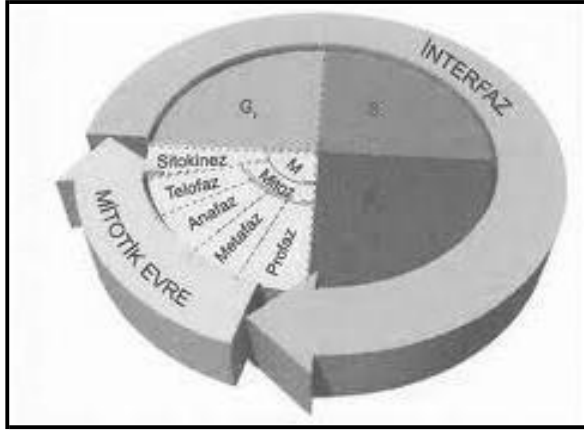
Kemoteröpotik ajanlar hücre siklusuna etkilerine, kimyasal yapılarına, orijinlerine ve etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Kemoterapide kullanılan ajanlar hücre siklus fazına spesifik ya da değildirler. Sadece çoğalmakta olan hücrelere etkili olan kemoteröpotik ilaçlara; hücre siklusuna spesifik ilaçlar denir. Spesifik ajanlar DNA sentezini ya da hücre bölünmesini önlenmektedirler. Nonspesifik ajanlar ise aktif hücre siklusunun tüm fazlarında hücrelere toksiktir. Etkilenmeyen hücreler proliferasyon olmayan hücrelerdir. Hücre siklusuna spesifik olmayan ilaçlar çoğalmakta olan hücrelere daha etkili olmalarına karşın büyüme hızı düşük olan tümörlerin tedavisinde daha etkilidirler (42,43).

### 4.3.Kemoteröpotiklerin Hücre Siklusuna Etkilerine Göre Sınıflandırılması

#### 4.3.1.Hücre Döngüsüne Spesifik Ajanlar

Siklus fazına non-spesifik ajanlar: Siklusun her fazdaki hücreye etkili.

Siklus fazına spesifik ajanlar: Siklusun belli fazlarına etkilidirler.



**Şekil 2: Hücre Döngüsü**

G1: Siklusun başlangıç fazıdır. DNA sentezi için gereken RNA ve proteinler gibi prekürsörlerin sentezlendiği aşamadır. Örneğin kortikosteroidler bu faza etkir.

S fazı: DNA sentezinin gerçekleştiği fazdır. DNA replikasyonu, kromozom çiftlenmesi, RNA sentezi ve takiben protein sentezi gerçekleşir. DNA sentez inhibitörlerinin etkidiği fazdır. Antimetabolitler, Bleomisin (G 2 fazına da etkir), hidroksiüre, prokarbazin bu faza etkir.

G2: Mitoza hazırlık fazıdır. Bu nedenle DNA sentezi dururken mitoz için gerekli RNA ve protein sentezi devam eder. Örneğin bleomisin ve topoizomeraz 1 inhibitörleri bu faza etkir.

M fazı: Mitoz ve hücre bölünmesinin gerçekleştiği fazdır. Bu nedenle prekürsör sentezi için gerekli Protein ve RNA sentezi durur. Mitoz gerçekleşir. 4 safhada 2 yeni hücre oluşur. Örneğin Vinka alkaloidleri ve taksanlar bu faza etkir.

G0 fazı: Sessiz dönem adı verilen İstirahat fazıdır. Bu fazdaki hücreler genellikle kemoterapiye dirençlidir (44). Siklus spesifik faz spesifik ajanlarda doz artırılması etkiyi arttırmaz ancak ilaç verilme süresinin uzatılması etkiyi artırır. Hızlı gelişen kanserler, örneğin hematolojik kanserlerin tedavisinde etkilidirler (44).

#### **4.3.2.Hücre Döngüsüne Non-spesifik Ajanlar**

Bu grup ilaçlar bölünmeyen hücrelere etkilidirler. Alkilleyici ajanlar (Siklofosfamid) ve anti tümör antibiyotikler ( bleomisin hariç) bu gruba girerler. İlaç dozunun artırılması etkinliğini artırabilir. Solid tümörler gibi yavaş büyüyen ama hızlı çoğalan tümörlerde etkilidir. İlaç dozunun artırılması anti tümör etkiyi artırır (44).

#### **4.4.Kemoterapötiklerin Orijinlerine ve Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması**

- 1) Alkilleyici ajanlar
- 2) Antimetabolitler
- 3) Anti tümör antibiyotikler
- 4) Mitotik ağ inhibitörleri (Bitki alkaloidleri)
- 5) Hormon Antagonistleri
- 6) Diğerleri

##### **4.4.1. Alkilleyici Ajanlar**

Sitotoksik etkilerini çeşitli hücre gruplarındaki nükleofilik gruplara kovalent bağlanarak gösterirler. Sıklıkla proteinlerde amino gruplarını (CH<sub>2</sub>) ile alkilleyerek etki ederler (45). Alkillenmenin en sık olduğu bölge 7 pozisyonundaki guanindir. Dolayısı ile buradan oluşan mRNA hatalı kodlanır. Dolayısı ile oluşan DNA sarmalı patolojik olur (46).



Alkileyici ajanlarının ortak yan etkisi kemik iliğini süprese etmeleridir. Uzun dönem kullanımlarında gonadotoksik etkileri oluşabilir ve sekonder lösemiye sebep olabilirler (46).

**Tablo 1:**Kemoterötik Ajanların Sınıflandırılması

Azotlu Hardallar	Etileniminler	Nitrozürelere	Alkilsülfonatlar	Hidrazin triazen türevleri
<b>Siklofosfamid</b> Klorambusil Mekloteramin Melfalan	Tiotepa Altretamin	Karmustin Lomustin Semustin Fotemustin	Busulfan	Dakarbazin Prokarbazin

#### 4.4.2. Antimetabolitler

Pürin ve pirimidin prekürsörlerinin sentezini inhibe ederek veya onlarla yarışarak DNA sentezini bozarlar. Maksimum sitotoksik etkinliğini S fazında gösterirler. Bunun sonucu olarak en önemli toksik etkileri kemik iliği ve GİS mukozası üzerinedir. Folik asit analogu methotreksat pürin analogu 6-tioguanin, fludarabin, merkaptopürin; pirimidin analogu olarakta 5-flurourasil, sitozil arabinozid, gemitabin örnek verilebilir. (46,47)

#### 4.4.3. Anti tümör Antibiyotikler

DNA fonksiyonunu bozarak etki gösterirler. Topoizomeraz 1 ve 2'yi inhibe ederler. Böylece DNA replikasyonu ve mRNA yapımı engelleyerek etki ederler. Bleomisin (S ve G2) hariç hücre siklusuna spesifik değildirler. Antrasiklin türevleri aktinomisin, daunorubisin, doksorubisin idarubisin ve mitomisin bu gruba girmektedirler (46,47).

#### 4.4.4. Mitotik Ağ İnhibitörleri

Bitkisel kaynaklı ilaçlardır. Vinka alkaloidleri (Vinca Rosea bitkisinin dimerik alkaloidleri) tübülün proteinine bağlanırlar. Polimerazasyonu

inhibe ederek, mitozda kromozom migrasyonunu bozarlar. Epipodofilotoksinlerin DNA'ya toksik etki gösterirler. Örneğin Paklitaksel DNA kırıkları oluşturur ve topoizomeraz 2 enzimini bloke eder. Taksanlar (Taxus bitkisinden elde edilir) mikrotübüllerin yapımını engellemez mikrotübüllerin tübüline depolimerizasyonunu engelleyerek etki ederler. Mitoza spesifik ilaçlardır (48).

#### **4.4.5. Hormonlar ve Hormon Antagonistleri**

Glukokortikoid hormonlar, Östrojen ve progesteron türevleri, GnRH analogları ve antiandrojenler bu grupta sayılabilirler.

#### **4.4.6. Diğerleri**

Anagrelid, L-asparaginaz, estramustin, hidroksiüre, streptozosin heksametilmelamin gibi ilaçlardır.

#### **4.5. Kemoteropatik Ajanların Gonadal Toksisitesi**

Kemoteropatik ajanların gonadal toksisiteye neden olmasının en temel sebebi, gonadal hücrelerin yüksek mitotik aktiviteye sahip olmalarıdır. Özellikle hematolojik malignitelerin tedavisinde sık kullanılan bazı kemoteropatik ajanlardan gonadların hem endokrin hem üreme fonksiyonu açısından ciddi oranda etkilenir. Kemoteropatiklerin gonadal hormon kaybına, germ hücrelerinde mutajenik değişikliklere ve fetus üzerine teratojen etkilere yol açabilmektedirler (49). Gonadal toksisitesi ön planda olan en önemli kemoteropatik ajanlar alkilleyicilerdir. Farklı kemoteropatik ajanların kombine kullanımları da değişen oranlarda gonadal disfonksiyon yapabilirken, siklofosamid tek başına verildiğinde dahi hem kadın hem erkekte ciddi gonadal disfonksiyon yapabilir.

Kemoteröpatik ajanların gonadotoksisite riskleri (131):

1) Yüksek gonadotoksik etki

- **Siklofosfamid**
- Busulfan
- Prokarbazin
- Nitrogen mustard
- Klorambusil

2) Orta derecede gonadotoksik etki

- Sisplatin
- Adriamisin
- Paklitaksel

3) Düşük gonadotoksik etki

- Methotreksate
- 5-Fluorouracil
- Aktinomycin D
- Bleomisin
- Vinkristin

#### **4.6.Siklofosfamid**

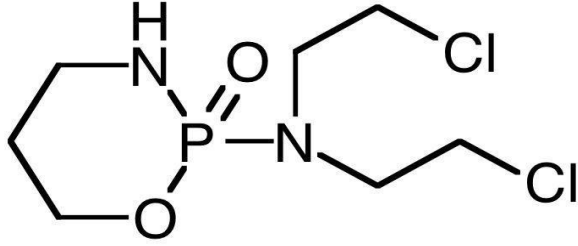
Siklofosfamid temelde alkilleyici grubunda yer alan azotlu hardal türevi antineoplastik kemoteröpotik bir ajandır. Farklı uygulama dozlarında immünsupresif bir ajan olarak da klinik kullanımda yeri vardır (50). Siklofosfamid, lenfoma, multipl myeloma, kronik lenfositik lösemi ve waldenstrom makroglobulinemisi gibi özellikle hematolojik malignensilerde ve osteojenik sarkom, nöroblastom, retinoblastom gibi bazı solid tümörlerin ve meme kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır (51). Ayrıca trombositopenik purpura, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis, nefritik sendrom ve wegener granulomatozisi gibi nonneoplastik hastalıkların tedavisinde de kullanımı mevcuttur (52). Karaciğerde metabolize olana kadar aslında inaktif bir ajandır. Tercih edileceği klinik tabloya ve doza göre oral, intravenöz enjeksiyon yada intravenöz infüzyon şeklinde uygulanabilmektedir. Örneğin hematolojik olmayan bir tabloda indüksiyon tedavisinde mono ajan olarak tercih edilecekse 40-50 mg/gün dozunda 2-5 günlük tedavi rejimleri

uygulanabilmektedir. Bir başka protokolde 10-15 mg/kg 10gün takiben 3- 5 mg/gün gün aşırı idame şeklinde uygulanabilmektedir. Yine bir başka örnek kullanımı, nefrotik sendromlu çocuklarda 2-3 mg/kg oral dozla 90 günlük doz şeklindedir. Sonuçta; farklı malignitelerde, farklı dozlarda, farklı yollarla, farklı protokollerle de uygulansa, malignensilerin tedavisinde önemli yere sahip kemoterötik ajandır.

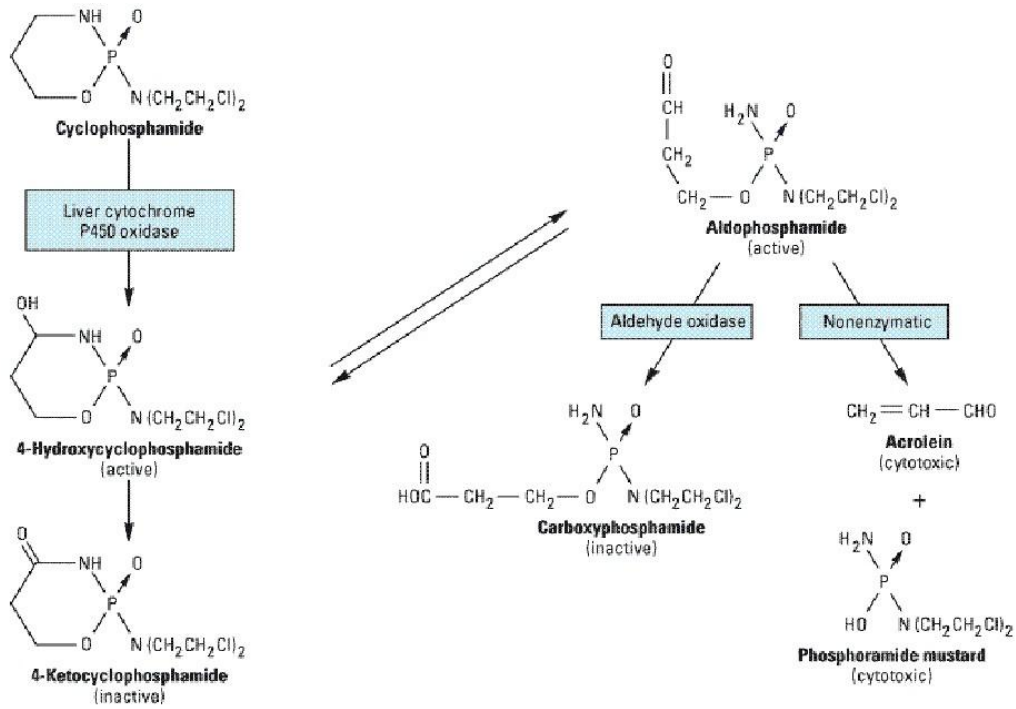
Siklofosfamid karaciğerde metabolize olarak fosforamid mustard ve akrolein olarak iki temel metabolite ayrılır (Şekil 2-3). Bu metabolitler DNA ve proteinlere etki ederek fonksiyon gösterir. 4-ketosiklofosfamid ve propionik asit deriveleri ise siklofosfamidin non-toksik major üriner metabolitleridir.

Siklofosfamidin yan etkileri ilk 1960 yılında rapor edilmiştir (1). Başta hemorojik sistit gibi sık görülen yan etkileri saptanmıştır. Reprodüktif çağıdaki bireylerde en önemli yan etkisi germ hücreleri üzerine olan toksik etkisidir. Farklı klinik ve laboratuvar çalışmalarda Bahsi geçen bir takım metabolitlerin germ hücreleri üzerine ciddi toksisitesi gösterilmiştir. Germ hücrelerinde kalıtsal translokasyonlara, spesifik lokal mutasyonlara ve malformasyonlara sebep olabilmektedir. Örneğin gebe sıçanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda gebeliğin ilk 16 gününde siklofosfamide maruziyetin artmış hücre içi nükleolar fragmentasyonlara yol açtığı bunun sonucunda da erkek fetüslerde daha intrauterin hayatta spermatogenezin bozulduğu gösterilmiştir (130). 4 aydan uzun süre 1-2 mg/gün siklofosfamide maruz kalan erkeklerde oligospermi ya da azospermi geliştiği gösterilmiştir (53). Yine kadınlarda siklofosfamide maruziyet sonucu meydana gelen ovaryan toksisite nedeni ile amenore ve infertilite görülmektedir (54). Farklı yaş gruplarında 10 gr, 9 gr hatta 5 gr siklofosfamid maruziyeti ile amenore geliştiği gösterilmiştir. Siklofosfamid temelde granüloza hücre çoğalmasını ve östradiol sekresyonunu bozarak overlerde toksik etki göstermektedir ki siklofosfamid enfeksiyonu sonrası 16-24 saat içinde over başına granüloza hücre sayısında ve fonksiyonundaki azalma farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Granüloza hücrelerinde DNA bozulmaları enjeksiyondan 2 saat sonrasında dahi gösterilmiştir. Enjeksiyonun 4. saatinde granüloza hücre nükleuslarında G2 fazında oluşan blokaj nedeni ile hücre nükleuslarında küçülme aşık hale gelmektedir. Sonuçta enjeksiyondan sonraki 24. saatte tüm bu mekanizmalar üzerinden serum östradiol düzeyleri de anlamlı düzeyde azalır

ve cevaben artan endojen FSH sekresyonu nedeni ile daha çok folikül seçilir, nükleolusları aktiveleşir ve yine siklofosfamid maruziyeti nedeni ile daha çok folikül hasar görür. Oluşan bu kısır döngü nedeni ile granüloza hücre hasarı ve over rezervi azalması daha hızlı gelişir.



**Şekil 3:**Siklofosfamidin Moleküler Yapısı



**Şekil 4:**Siklofosfamidin Moleküler Metabolizması

## **5.Fertilite Korunması**

### **5.1.Fertilite Koruyucu Tedavi Seçenekleri**

#### **5.1.1.Ovaryan Transpozisyon (Ooforopeksi)**

Özellikle pelvik radyoterapi alacak hastalarda overler radyasyondan korunması amacı ile pelvisin dışına edilir. Servikal yada endometrial kanserler ve pelvik sarkomlar gibi patolojilerde pelvik radyoterapi gerekliliği olabilir.Bu durumda overler mevcut pelvik sahadaki anatomik lokalizasyonlarından uzaklaştırıldığında pelvik radyoterapi ile overlerin aldığı radyasyon dozu %5-10 oranına düşmektedir. Bu gibi vakaların sonrasında spontan gebelik oranları % 75 'dir (55).

#### **5.1.2.Ovaryan Süpresyon**

Farklı nedenlerle yapılan retrospektif çalışmalarda menarş öncesi gonadların kemoteröpotik tedaviye daha dirençli ve dayanıklı olduğu görülmüştür. Buradan yola çıkarak gonad fonksiyonlarının baskılanması ile sitotoksik hasarı en aza indirilmesi amaçlanmıştır. GnRH agonistleri tedavi sürecinde bu amaçla kullanılmaktadır (56).

#### **5.1.3.Kriyopreservasyon**

Kriyopreservasyon yani dondurularak muhafaza etme işlemi over dokusunun kendisine uygulanabileceği gibi, oosit ya da embriyoya uygulanmasında söz konusudur.Bunlar içerisinde özellikle fertilite devamı açısından en yaygın tercih edilen embriyo kriyoprezervasyonudur (57). Over dokusu kriyopreservasyonu, kemoterapinin daha erken uygulanması gereken durumlarda ve özellikle hastaların koital fonksiyonlarında göz önüne alınarak tercih edilebilecek bir yöntemdir. En önemli avantajı overin endokrin fonksiyonlarının da geri dönüşlü olmasıyken fertilite açısından gebeliğe ulaşma oranı en düşük olan yöntemdir (57).

## 6.Silymarin

Silymarin Devedikeni (Milk Thistle) tohumlarından ekstre edilen major bileşenleri silybin, silydianin ve silykristin olan bir flavinoiddir. (58) Silymarinin hepatoprotektif, sitoprotektif, hipoglisemik, hipokolesterolemik, antikanserojenik, gastroprotektif (anti-ülser) bir ajan olduğu farklı çalışmalarla ortaya konmuştur (59). Güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir. Hücre düzeyinde serbest radikallerin üretimini azaltırken, atılımını artırır. Hücre membranında lipid peroksidasyonunu azaltır. Hücrede RNA polimerazı ve hücre proteinlerinin üretimini stimüle ederken 5-lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi katalizör enzimlerin inhibisyonunda rol oynar (60). Diğer yandan yüksek düzeyde fitoöstrojen maruziyeti çeşitli hayvan türlerinde fertilitiyi olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Özellikle reproduktif çağıdaki erkeklerde diyetle yüksek doz fitoöstrojen eklenmesiyle fertilitate problemlerinin arttığı bilinmektedir. Silymarinin mevcut östrojen etkisi yapılan çalışmalarda ooforektomili sıçanlarda gösterilmiştir (61). Bu çalışmalardan yola çıkarak sıçanlarda ön görülen maksimum teröpotik doz 420 mg/gün olarak belirlenmiştir.



***Silybum marianum* (Milk Thistle)**

**Şekil 5:** Silymarin elde edilen *Silybum Marianum* (Milk Thistle) Bitkisi (132)

**Tablo-2:**Silymarin ve Analogları (132)

**Doğal**

Silybin A,B (62)

Isosilybin A,B (62)

Silychristin (62)

Isosilychristin (62)

Silydianin (62)

Isosilydianin (62)

Taxifoline (62)

**Sentetik**

3,4'-ethylene-3-dioxyflavonoids (63)

Silybin-C-2,3-dihydrogensuccinate disodium salt 5,7,4''-trimethylsilybin (64)

Peracetylsilybin (64)

Peracetyl-5-,7,4''-trimethylsilybin (64)

Silybin dihemisuccinate (64)

\*Silypid (64)

IBI/S (silybin-, -cyclodextrin) (65)

Silybin-, -galactoside (63)

Silybin-, -glucoside (63)

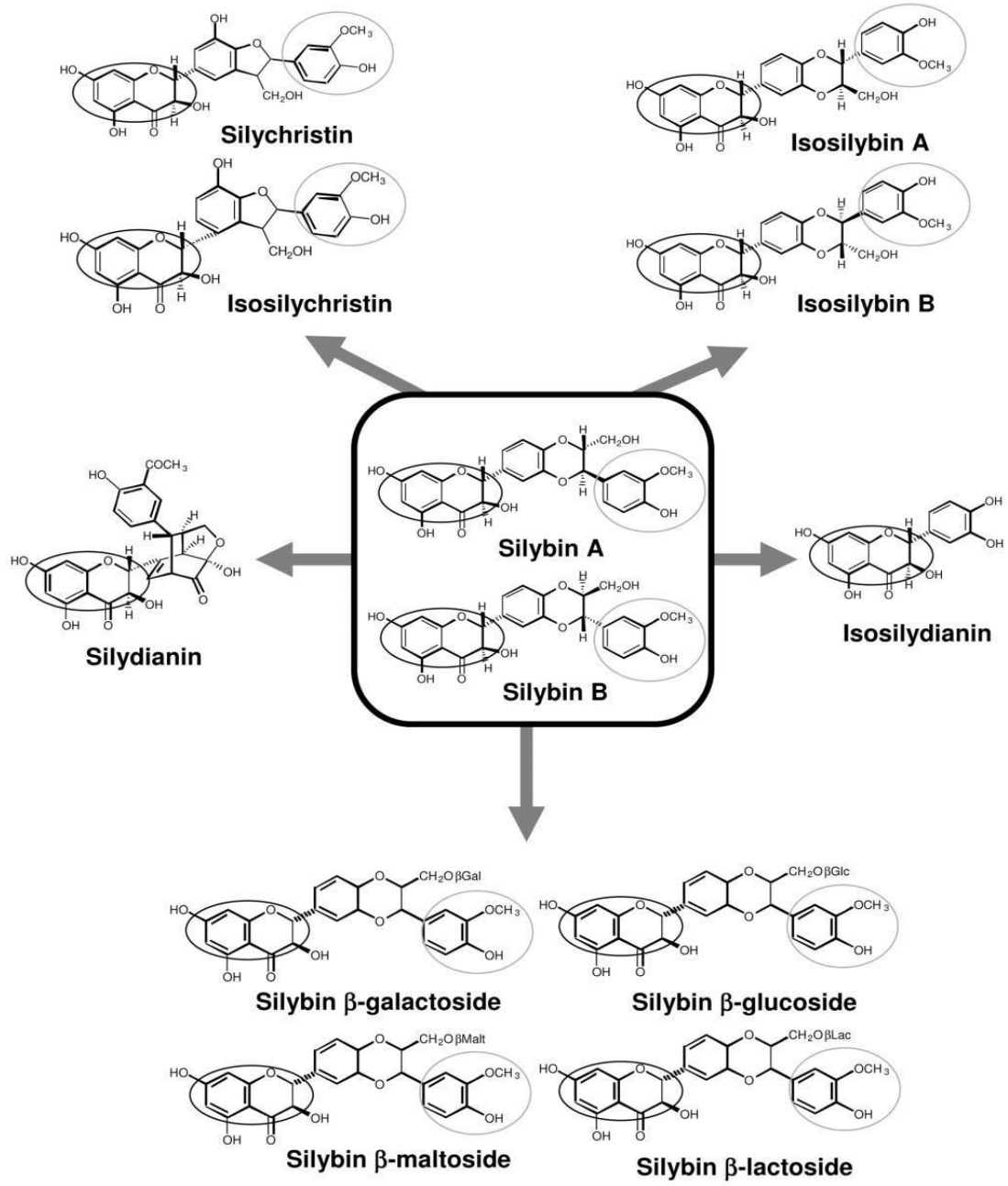
Silybin-, -maltoside (63)

Silybin-, -lactoside (63)

IdB1016 (silybin-phosphatidylcholine complex) (66)

\*Silypid is a silybin-phosphatidylcholine complex.





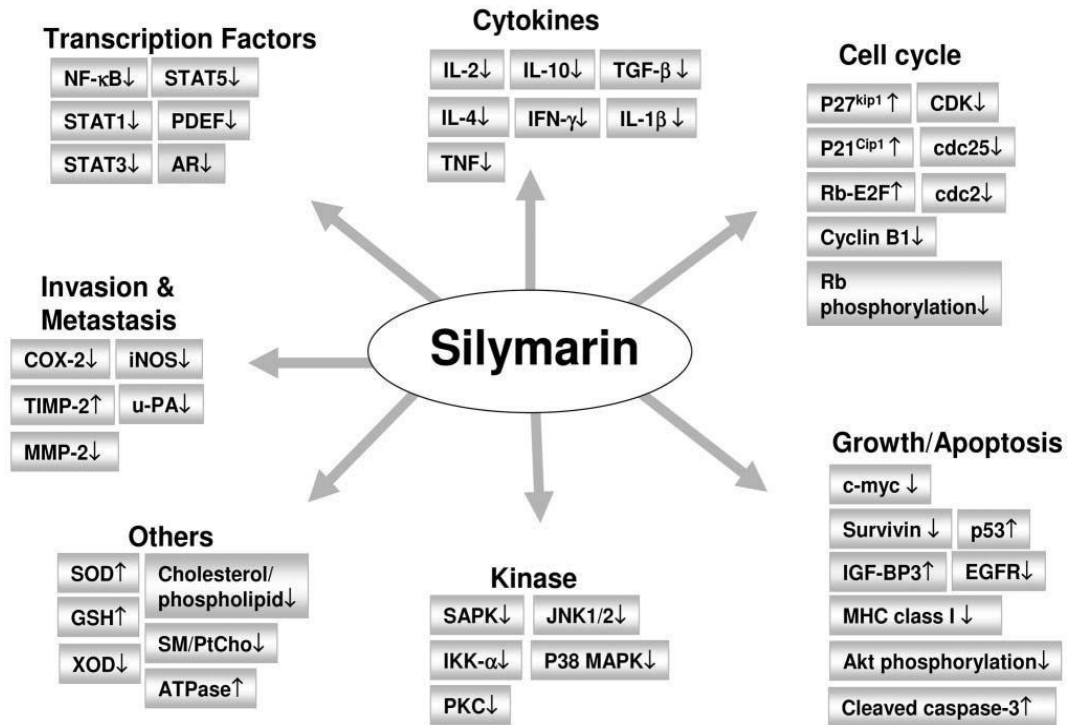
**Şekil 6:** Silybin ve Analoglarının Yapısal Özellikleri (132)

### 6.1. Silymarinin Antioksidan Etkinliği

Silymarinin antioksidan potansiyelini gösteren pek çok in vivo ve in vitro çalışma literatürde mevcuttur (Tablo 3). Örneğin sıçanlarda yapılan bir çalışmada kronik CCl<sub>4</sub> nedeni ile oluşan karaciğer fibrozisi veya sirozu 30 mg/gün dozunda silymarin ile azaldığı gösterilmiştir.

Yine bir başka çalışmada sıçan pankreasında alloxan ile yapılan pancreas hasarına bağlı oluşturulan diyabet tablosunun silymarinin antioksidan etkisi ile azaldığı gösterilmiştir (65). Silymarin glutasyon sistemi üzerine etkiyerek serbest radikal hasarını azaltmaktadır. Yine biyolojik membranlardaki lipid peroksidasyonu ve serbest radikal hasarına bağlı gelişen demir toksikasyonuna sekonder gelişen hepatik yetmezlikte uzun dönem kullanımda silymarinin koruyucu etkisi gösterilmiştir (66). Bu çalışmada sıçanlara %2,5 karbonyl-fe içeren diyet ile birlikte 100 mg/kg/gün silybin eklendiğinde melanodialdehit-proteinin periportal hepatositlerde birikiminin anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Bir başka çalışmada eritrositlerdeki SOD enzim aktivitesi nedeni ile oluşan alkolik sirozlu hastalarda silymarinin olumlu sonuçları gösterilmiştir (67). Silymarin lenfositlerde ve eritrositlerde SOD aktivitesini artırdığı in vivo çalışmalarla da gösterilmiştir.

Silybin ve fosfotidilkolin kompleksinden oluşan silypid ise özellikle etanol etkisiyle oluşan serbest radikallerin temizlenmesinde etkili bir silymarin türevidir. Özellikle mikrozomlardaki hidroksietil radikalleri üzerine etkilidir (68).



**Şekil 7:** Silymarinin Moleküler Hedefleri (132)

## 6.2.Silymarinin Antienflamatuar Etkinliği

Silymarin farklı yollar üzerinden antienflamatuar etki gösterir (Şekil 7). En temel etkisi inflamatuvar sitokinleri süprese etmesidir. COX-2 ve 5-Lipooksijenaz ve NF-KB aktivasyonunu süprese eder. Ratlarda akut İnflamatuvar süreçlerde lökosit migrasyonunu azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (69). Xylene bağlı oluşan lokal enflamasyonda silymarinin topikal kullanımının sistemik indometazin kullanımına göre daha net antienflamatuar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Merkezi sinir sisteminde nörodejeneratif hastalıkların erken safhalarındaki mikroglyal aktivasyonu tetikleyen İnflamatuvar cevabı baskılayarak bu hastalıkların progresyonunda ciddi yavaşlamaya sebep olmaktadır. Silymarinin bu nöroprotektif etkisi ilk kez in vitro ortamda nöroglyal hücre kültürlerinde gösterilmiştir. Trinitrobenzensülfonik asit ile oluşturulan akut kolit tablosunda silymarinin çoklu dozlarda kullanımı ile silymarinin yine intestinal sistem üzerindeki antienflamatuar etkisi de gösterilmiştir (70). Örneğin bu çalışmada oral alınan 50 mg/kg/gün doz ile makroskopik kolon hasarında gözle görülür düzelme gözlenirken kolonik myeloperoksidaz aktivitesinde ciddi azalma olduğu da gösterilmiştir.

COX-2 tümöral hücre proliferasyonunda önemli bir aracı olup çeşitli doku tümörlerinde over-expresyonu görülmektedir (71). Yine pek çok çalışma silymarinin COX-2 ekspresyonunu azalttığını göstermektedir (72). Silymarin epidermal SOD, Katalaz ve GSH\_PX aktivitesi üzerinden etki ederek lipid peroksidasyonu azaltır ve antienflamatuar etki gösterir. Yapılan bir başka çalışma gösteriyor ki silymarin potent bir prostoglandin sentaz inhibitörüdür (73). Silybin, silydianin and silykristin prostoglandin inhibisyon özelliği bazı in vitro çalışmalarda da gösterilmiştir. COX-2 silymarin için potansiyel bir hedefdir.

COX-2 gibi 5-LOX da eikasanoidlerin bir ürünü olan proenflamatuar bir enzimdir ve özellikle tümöral hücre proliferasyonunda önemli role sahip bir proenflamatuar ajandır (74, 75). Silymarin 5-LOX üzerinden yaptığı inhibisyon ile de antienflamatuar etkinlik göstermektedir. (76)

TNF ve IL-1 tümöral hücrelerde büyüme faktörü etkisi gösteren sitokinlerdir (77). Silymarin TNF ekspresyonunu ve IL-1 ekspresyonunu azaltan

etkinliğe sahiptir (78-79).Yine ratlarda yapılan çalışmalarda silymarin mRNA ekspresyonunu bloklarayarak IL 2 üretimini azaltır. TNF tümör promotör olarak görev yapar ve tümör hücrelerini öldüren temel savunma sistemidir ki pek çok kemorezistan tümörlerde TNF mutasyonu olduğu görülmüştür. Pek çok çalışma silymarin ya da silybinin tümör dokusundan TNF ekspresyonunu artırarak anti tümöral etkinlik gösterdiğini göstermiştir. (78,79, 80,81)

**Tablo 3:** Silymarinin Antioksidan Etkinliği (132)

Alkolik Siroz
• ↑ GSH ↓ Lipid peroksidasyon (82,96,97)
Bilier obstrüksiyonda oluşan hepatik oksidatif stres
• ↑ GSH transferaz ↓ Lipid peroksidasyon (82,83)
Asetaminofene bağlı karaciğer hasarı
• ↑ GSH-PX ↓ Lipid peroksidasyonu (84)
Parasetamole bağlı karaciğer hasarı
• ↑ GSH-PX ↓ Lipid peroksidasyonu ↑ SOD (85)
Doksorubisin'e bağlı oksidatif stres
□ ↑ GSH-PX (85)
SENCAR fare derisinde Benzoil peroksid etkisiyle oluşan oksidatif stres
• ↑SOD ↑GSH-PX (86)
Radyasyona bağlı hepatotoksisitede
□ ↑ GSH-PX (87)
Alloxana sekonder oluşan Diyabette
• ↑ GSH-PX ↓ HOCl ↑ Katalaz (90,94)
CCI4 etkisiyle oluşan lipid peroksidasyonu
• ↓ Lipid peroksidasyon (90.91.92)
Sıçan karaciğerinde izole hepatositlerde mikrozomda ADP/Fe <sup>2+</sup> ve NADPH ilişkili hasar
• ↓ Lipid peroksidasyon (83)
Sıçanlarda Siklosporine bağlı karaciğer hasarı
• ↓ Lipid peroksidasyon (93)
Yüksek sukrozlu diyete sekonder oluşan oksidatif hasar
• ↓ Lipid peroksidasyon (97)
Sıçanlarda Fe <sup>3+</sup> /askorbat etkisiyle oluşan mikrozomal lipid peroksidasyonu
• ↓ Lipid peroksidasyon (95)

Fe<sup>2+</sup> etkisiyle oluşan hepatik mikrozomal lipid peroksidasyonu

- ↓ Lipid peroksidasyon (98)

Sıçanlarda kardiyak miyositlerde mikrozomal Doksorubicin-Fe etkisiyle lipid peroksidasyonu

- ↓ Lipid peroksidasyon (100)

Sıçanlarda Böbrekte İskemik perfüzyon stresi

- ↓ Lipid peroksidasyon (101)

Kronik Alkolik Karaciğer hastalığı olan hastaların eritrositlerinde ve lenfositlerinde

- ↑ SOD ↓ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (105,106,107)

İnsan granülositlerinde HOCl e bağlı hasar

- ↓ DNA hasarı (109)

İnsan lenfositlerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilişkili DNA hasarı

- ↓Ksantin dehidrogenaz / ksantin oksidaz oranı (109)

İnsan PMNL de PMA stimüle oksidatif yanma

- ↓O<sub>2</sub> (104)

Hepatik mikrozomlarda PMS-NADH sisteminde

- ↓O<sub>2</sub> (85)

### 6.3. Silymarinin İmmün Sistem Üzerindeki Modülatuar Etkisi

Silymarin T lenfosit fonksiyonlarını düşük dozlarda inhibe ederken yüksek dozlarda aktive etmektedir (110). İnflamatuar immün cevapta silymarinin modülatör etkinliği farelerde yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. İntraperitoneal 10-250 mg/kg/gün dozunda silymarin 5 gün verildiğinde herhangi bir toksik etki görülmezken CD3<sup>+</sup> T-lenfositler 10-50 mg/kg dozunda azalırken CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre popülasyonları azalmıştır. Benzer şekilde doz bağımlı olarak TNF, iNOS, IL-1, ve IL-6 mRNA değişmektedir.

Silymarin timus üzerinde gen ekspresyonunda değişiklik yaparak hücre seçimi ve diferansiyasyonu üzerine etki göstermektedir (111). C-myc gen ekspresyonu üzerine yaptığı etki ile timusta hücre farklılaşmasını etkiler. Erkek BALB/c farelerde silymarinin intraperitoneal uygulamasını takiben timusta CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-lenfosit sayılarında mutlak bir artış gözlenmiştir. Silymarin timusta. C-myc proto-onkogen ekspresyonunu artırarak bu etkiye sebep olmaktadır. Buna rağmen IL-2 ve IL-4 düzeylerinde azalma görülürken MHC II ekspresyonu değişmez

#### 6.4.Silymarinin Koruyucu Etkileri

Silymarin/silybin pek çok ajana bağılı oluşan toksisiteye karşı koruyucu etkiye sahiptir. Etanol verilen dişi ratlarda fetüs üzerine koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Bu çalışmada gebeliğin ilk gününden 21.gününe kadar silymarin ve etanol verilen grupta GGTP düzeylerinde anlamlı değişiklik gözlenmezken sadece etanol verilen grupta fetal beyin ve karaciğer dokusunda etanol bağımlı GGTP aktivitesinde ciddi artış olduğu gözlenmiştir (112).

Sisplatin özellikle testiküler kanserlerde en sık kullanılan sitotoksik ajandır ancak ototoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkileri nedeni ile klinik kullanımı kısıtlanmaktadır. Uzun dönem görülen böbrek hasarı proksimal tübüler nekroza bağılı L alanin aminopeptidaz gibi enzimlerin ve magnezyum gibi iyonlarının atılımın artmasıdır. Başka bir çalışma grubu silybinin CDDP-bağılı nefropatide nefroprotektif etkilerini çalışmışlardır. CDDP öncesi sıçanlara silybin infüzyonu verdiklerinde uzun dönemde gelişen toksik etkilerin azaldığını göstermişlerdir ki tek başına silybinin böbrek fonksiyonları üzerine hiçbir etkisi yokken CDDP nedeni ile oluşan yıkım mekanizmalarını durdurarak renal hasarı azaltıcı etki ortaya koymuştur (113). Silybinin sitoprotektif etkisine bir örnektir.

Kanser kemoterapisindeki başarıyı etkileyen en önemli yan etkilerden biri de kemoteröpotik ajanlara karşı gelişen kardiyotoksisitedir. Bir çalışmada doksisikline bağılı gelişen kardiyotoksisiteyi önlemede silymarin ve türevlerinin ( silybin, dehidrosilybin, silykristin and silydianin ) etkisini araştırılmıştır. Doksisiklin verilen grupta öncesinde 9 saat boyunca silymarin verildiğinde kardiyomiyositlerde sellüler ATP düzeylerinde artış olduğu ve kardiyotoksisitenin daha az gözlendiği gösterilmiştir (100). Silymarinin tek başına miyositler üzerine etkinliği gözlenmediğinden bu etkiyi doksisiklinin oluşturduğu oksidatif stresi azaltarak oluşturduğu düşünölmektedir. Silymarin hücre membranını stabilize eder, serbest radikallerin atılmasını artırırken oluşmasını azaltır.

Atrial flutterli sıçanlarda yapılan bir çalışmada silymarinin tek başına anti aritmik etkinliği yokken amiodaronla beraber kullanıldığında anti aritmik etkinliğini artırdığını göstermişlerdir (114).

Yine post oklüzyon kardiyak aritmiye bağlı hipertansif farelerde silybin (300 mg/kg/gün) dozunda 8-12 gün verdiklerinde tetrandirine ile kıyasladıklarında benzer kan basıncını düşürücü etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Tetrandirine ile silybin birlikte kullanılan grupta ventriküler hipertrofi gelişimin ciddi oranda azaldığını göstermişlerdir. Bunu sonucunda akut miyokardiyal enfarktüs gelişen hipertansif hastalarda silybin kullanımının yararını vurgulamışlardır.

Güncel kanser tedavilerinin tedavi sürecini olumsuz etkileyen en temel yan etkilerinden biride radyoterapinin sistemik toksisitesidir. 6 Gy dozunda sistemik radyoterapi alan hastalara tedavi öncesi 7-14 gün boyunca 70mg/kg/gün dozunda oral silymarin verildiğinde nükleik asit değişkenliğinin minimal olduğu gösterilmiştir (115). Tedavi sonunda özellikle karaciğer, dalak ve kemik iliğinde nükleik asit düzeyleri çalışılmıştır ki nükleik asitler hücreyel metabolizma için oldukça önemli yere sahiptir ve silymarin verilen grupta değişiklik minimaldir. Benzer çalışmalar sonucunda radyasyona sekonder hepatotoksisteden sakınmak adına 3-6 Gy radyoterapi öncesi silymarin uygulandığında silymarinin antioksidan etkinliği nedeni ile hepatotoksisteden korunmanın mümkün olduğu vurgulanmaktadır (115).

Tüm vücut radyasyonlarda serum alkalen fosfataz aktivitesi, karaciğer glutatyon redüktaz aktivitesi ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ilk günden itibaren artış göstermektedir. Tedavi sonrası 3. günde eşik değerin altı değerlere düşmektedir. 3 Gy radyasyona maruziyet sonrası ortalama 7. Günde ast alt düzeylerinde artış gözlenirken silymarin takviye edilen grupta anlamlı düzeyde değişkenlik olmadığı gösterilmiştir (87).

### **6.5.Silymarinin Farmakolojik Özellikleri**

Silymarin suda çözünmeyen bir molekül olduğundan klinik kullanımda kapsüle edilmiş modifiye formlarının kullanımı önerilmektedir (119). Oral alındığı formlarda emilim oranı %23-47'dir. Ancak oral alımını takiben 6-8 saat içerisinde pik plazma volümüne ulaştığı önceden yapılan insan ve hayvan çalışmalarında bilinmektedir. Bu nedenle silymarinin biyoyararlanımını artırmak için silypide gibi farklı moleküler formlar modifiye edilmiştir.

Silypid silymarin ve fosfotidilkolin kompleksidir ve silymarine göre biyoyararlanımı 10 kat daha fazladır (116). Silymarin b-siklodekstrin kompleksinin biyoyararlanımı 18 kat daha fazladır (117). Sonuçta hangi formula alınırsa alınsın Silymarin hedef dokularında temelde antioksidan sistem üzerinden etki gösteren bir moleküldür. Özellikle karaciğer, mide, barsaklar gibi gastrointestinal sistem organları üzerinde redoks mekanizmalarını artırırken böbrek dalak ve akciğer dokusundan tripeptid düzeylerini etkilemediği bilinmektedir.

Sıçanlarda tek doz 200 mg/kg verilen silymarin ve silypide dozlarının biliyer ekspresyonlarını ve plazma düzeylerin kıyaslayan bir çalışmada oral silypide alımını takiben %93lük oral biyoyararlanım ile 2. Saatte plazma pik düzeye ulaştığı gösterilmiştir. 24.saatte silypide grubunda biliyer miktarı %13 iken silymarin grubunda %2 düzeyinde idi. Buda silypide biyoyararlanımının silymarine göre 10 kat daha fazla olduğunu gösteren çalışmalardan biridir.

Konjuge silybin formunun mide, karaciğer, pankreas, cilt ve prostat dokusuna sistemik dağılımı bir hayvan çalışması ile ortaya koyulmuştur (74). Çalışmada 24 saat aç bırakılan fareler takiben 50mg/kg tek doz silybin verildikten sonra 0,5, 1, 2, 3, 4 ve 8.saatlere dekapite edilerek elde edilen doku örnekleri değerlendirilmiştir. Silybin düzeyleri 0,5 saat sonra karaciğer, akciğer, mide ve pankreasta sırayla 8.8,4.3,123 ve 5,8 mg silybin/g dozunda saptanmışken prostat dokusundan pik düzeye ulaşması 2.5 saati bulmuştur. Tüm gruplarda özellikle karaciğer akciğer mide ve ciltte glutatyon- S-transferaz dozlarında anlamlı artış sağlayan minimal oral silybin dozu 100-200mg/kg/gün olarak vurgulanmıştır (74).



## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma projesine, Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındı (etik kurul onay tarihi: 21.10.2014 ve no:2014-14/03). Çalışmada kullanılan hayvanlar Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden alındı. ,Toplam 42 adet, 200 ±20 gr ağırlığında, ergin Wistar Albino dişi sıçan üzerinde çalışıldı.Denekler beş eşit gruba ayrıldı.

### **Grup 1: Siklofosfamid+ Silymarin grubu (toplam 12 sıçan)\***

200 mg/kg'dan her bir sıçana Silymarin peroral (gavaj ile) 7 gün verildi. *Takiben* 100mg/m<sup>2</sup> her bir sıçana intraperitoneal Siklofosfamid enjekte edildi.

### **Grup 2: Siklofosfamid grubu (toplam 12 sıçan)\***

100 mg/m<sup>2</sup>'dan her bir sıçana intraperitoneal Siklofosfamid enjekte edildi.

### **Grup 3: Kontrol Grubu 1 (toplam 6 sıçan)**

Her bir sıçana 0,5 cc serum fizyolojik enjekte edildi.

### **Grup 4: Kontrol Grubu 2 (toplam 6 sıçan) \***

200 mg/kg'dan her bir sıçana Silymarin peroral (gavaj ile) 7 gün verildi.

### **Grup 5: Kontrol Grubu 3 (toplam 6 sıçan)**

Her bir sıçana Silymarinin sulandırma formu (2 cc Serum fizyolojik) peroral 7 gün verildi.

Siklofosfamid için ticari ismi Endoxan <sup>TM</sup> (Eczacıbaşı), (500 mg) olan preparat kullanılırken, Silymarin hammaddesi Abdi İbrahim Firması klinik araştırmalar grubu tarafından firma bünyesinde yurtdışından temin edildi.

Sıçanlar için uygun görülen çevresel koşullar yine aynı merkez tarafından sağlandı. Çalışma boyunca, tabanı ve yanları plastik, üstü demir tel örgü ile kapalı olan, fare veya sıçanlar için özel üretilmiş standart kafeslerde yaşatıldı. Işıklandırılması 12 saat karanlık-12 saat aydınlık, havalandırılması (%60-70 nem), oda ısısı (20-240C) kontrol edilen bir odaya yerleştirildi Her kafese en fazla 3 sıçan konuldu. Kafesin tabanı daima kuru ağaç talaş ile kaplıydı. Bu talaş günde iki kez değiştirildi. Sıçanlar, küçük deney hayvanları için özel üretilmiş pellet türü fabrikasyon yem ve şehir suyu ile beslendiler.

Hayvanlar kontrol ve test gruplarına rastgele dağıtıldı (randomizasyon). Bu sayede, bireyler arası varyasyonun deney ve kontrol gruplarına eşit olarak dağılması sağlanmış oldu. Kafeslerin üzerine, grupları ve enjeksiyonun tarihini belirtecek plakalar yerleştirildi.

Anti Mülleryan Hormon bakılması amacıyla gruplardaki sıçanlara, %4 lük İzofloran ile indüksiyonunu takiben 6 L/dk %1,5 izofluran ile idame inhalasyon anestezisi uygulamayı takiben önce torakotomi yapılarak kalpten 2cc kadar kan alındı. Aynı zamanda over dokusunun histolojik incelemesi ile folikül sayısı/morfolojisi ile over rezervi değerlendirilmesi amacıyla aynı cerrahi işlemin devamında sıçanlara laparotomi uygulanarak bilateral over dokuları alındı. Histolojik preparasyon sonrası sekonder ve antral folikül sayıları değerlendirildi.

## **1. Serum AMH Ölçümü**

Ratlardan elde edilen serum örneklerinde AMH Rat anti-mullerian hormone (AMH) ELISA kit (Cusabio) kiti ile ELISA yöntemi kullanılarak çalışıldı. Prospektüste kitin analitik duyarlılık sınırları 0.375 ng/ml-150 ng/ml olarak bildirilmekteydi. Standart konsantrasyon değerleri 6 standart değeri şeklinde (0 ng/ml, 0.375 ng/mL 1.313 ng/mL, 4,69 ng/ml, 28.13 ng/ml, 150ng/ml) verildi.

## 2. Over Dokusunun Histolojik İncelenmesi

Torakotomi sonrası kalpten kan alınımını takiben laparotomi yapıldı ve usulüne uygun ooferektomi uygulandı. Alınan ovaryumlar %10'luk formol solüsyonuna alınarak 6 gün formolde tespit edildi. Tespit solüsyonunda bulunan ovaryumlar histolojik rutin takip prosedürüne sadık kalınarak değişik derecelerde (%50, 70,90,absolü) alkol, ksilol ve parafin serisinden geçirilerek, granüllü, 58-60oC'de eriyen parafinde bloklandı. Parafine gömülen dokulardan, mikrotom (Reichert/Kızaklı ) ile 20 µm Aralıklı 5 µm kalınlığında sıralı kesitler 1 lam üzerinde 3 kesit olacak şekilde alındı. Kesitler hematoksilin&eosin boyama yöntemiyle boyandı. Değerlendirme aşamasında over başına 5.preparat (13,14,15 no'lu kesitler), 10.preparat (28,29,30 no'lu kesitler) ,15. Preparat (43,44,45 no'lu kesitler) içerecek şekilde sekonder ve antral foliküllerin sayımı yapıldı. Çalışma öncesinde yapılan değerlendirme kesitlerinde over başına 90 kesit ile tüm over dokusunun takibinin yapılabildiği görüldü. Bu nedenle sayım aşamasında 45 no'lu preparata folikül sayımı gerçekleştirilerek over dokusunun tam yarısını tarayacak şekilde folikül sayımı gerçekleştirilmiş oldu. Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirildi.

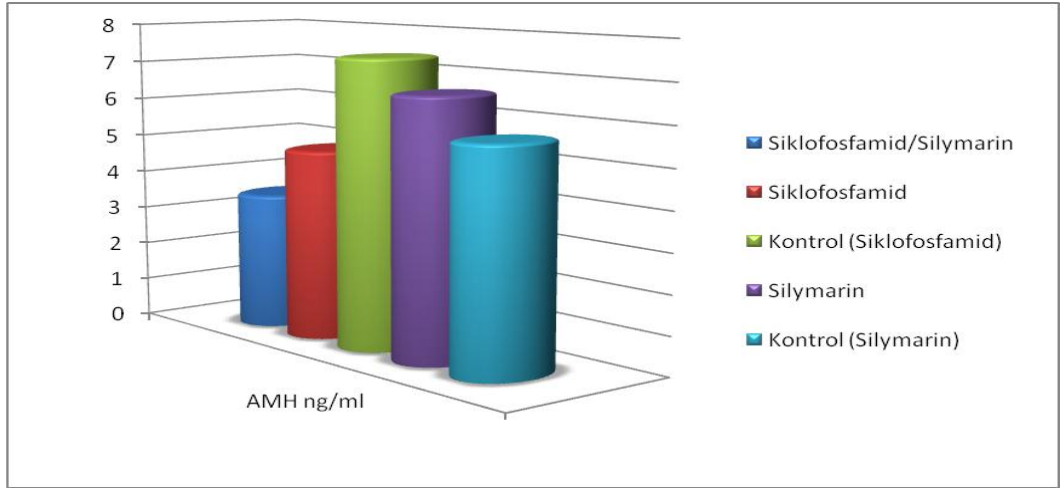
## 3. İstatistiksel Yöntem

Verinin istatistiksel analizi SPSS22.0 istatistik paket programında yapılmıştır. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Tanımlayıcı istatistikler medyan, minimum ve maksimum olarak belirtilmiştir. Normal dağılmayan veri için iki grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi  $\alpha=0.05$  olarak belirlenmiştir.

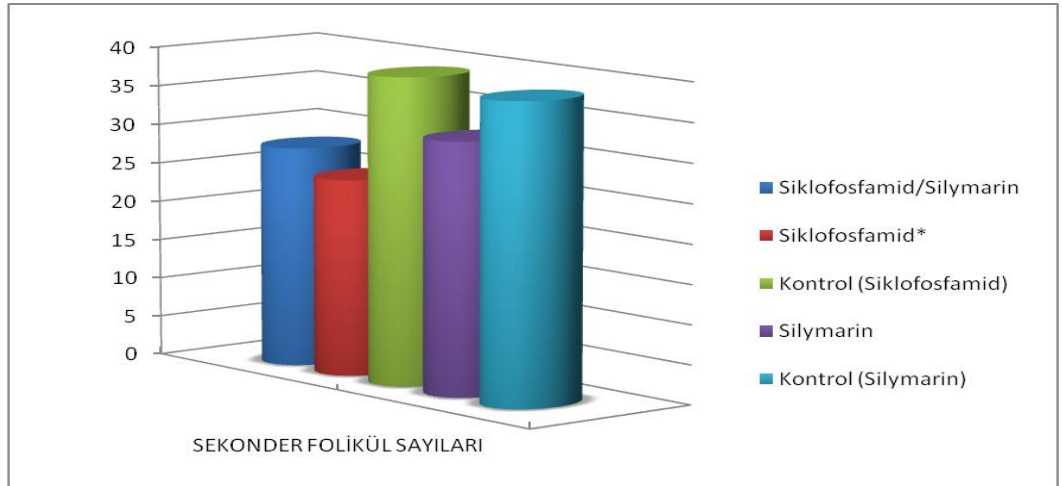
## BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen deney hayvanlarında gavaj ile silymarin verilen her iki gruptan (Grup 1, Grup 4) gavaj ile beslenmenin 6. Gününde 2 sıçan öldü. Ölen sıçanlara laparotomi uygulandı olası barsak perforasyonu açısından değerlendirildi. Ancak ölüm sebebini açıklayabilecek herhangi bir patolojik bulgu saptanamadı.

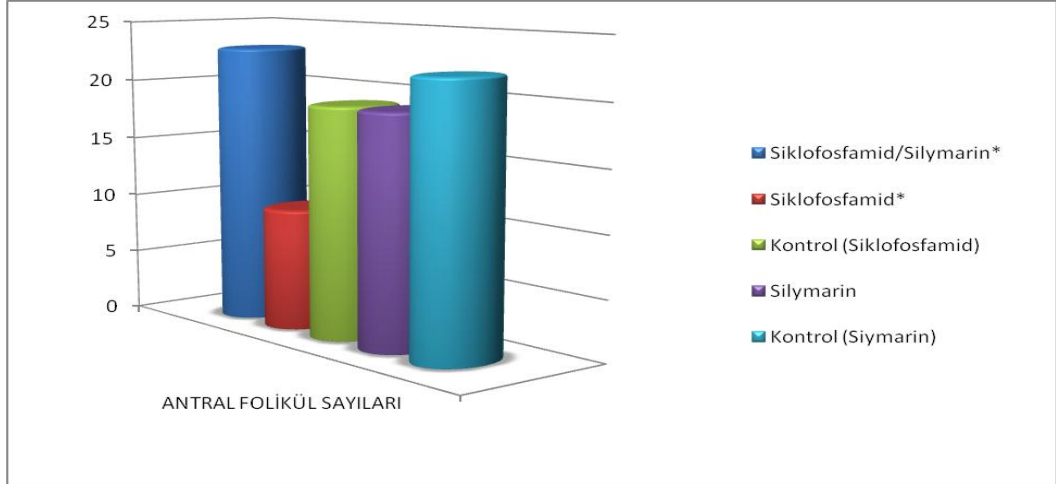
Tüm gruplar değerlendirildiğinde AMH değerleri açısından anlamlı fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).



Şekil 8: Tüm grupların AMH değerleri karşılaştırılması ( $p>0.05$ )



Şekil 9: Tüm grupların sekonder folikül sayıları  
\*Siklofosfamid grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptandı. ( $p<0.05$ )



Şekil 10: Tüm grupların antral folikül sayıları

\*Siklofosfamid/silymarin grubu ile siklofosfamid grubu arasında anlamlı fark saptandı. ( $p < 0.05$ )

**Tablo-4:** Siklofosfamid/silymarin ve siklofosfamid grubu arasında, folikül sayıları (sekonder/antral) ve AMH(ng/ml) seviyelerinin karşılaştırılması.

	Grup 1(n=12)	Grup 2(n=12)	P
SEC	28(23-58)	23(9-41)	0.118
ANT	23(12-41)	10(5-17)	<b>&lt;0.001*</b>
AMH	3.84(2.18-11.92)	4.91(1.24-8.58)	0.928

Mann Whitney U testi kullanıldı.

\*:  $p < 0.05$  anlamlı

Siklofosfamid verilen grupta siklofosfamid ve silymarin verilen grup arasında AMH değerleri ve sekonder folikül sayıları arasında anlamlı farklılık bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Ancak antral folikül sayıları açısından siklofosfamid uygulaması öncesi oral silymarin verilen grupta antral folikül sayısı istatistiksel olarak yüksek saptandı ( $p < 0.05$ )(Tablo 4).

**Tablo-5:**Siklofosfamid ve kontrol grubu arasında, folikül sayıları(sekonder/antral) ve AMH(ng/ml) seviyelerinin karşılaştırılması.

	Grup 2(n=12)	Grup 3(n=6)	P
SEC	25(9-41)	39(27-44)	<b>0.018</b>
ANT	10(5-17)	19(15-30)	<b>&lt;0.001*</b>
AMH	4.91(1.24-8.58)	7.39(3.03-25.78)	0.291

Mann Whitney U testi kullanıldı.

\*: p< 0.05 anlamlı

Siklofosfamid verilen grupla kontrol grubu arasında AMH değerleri açısından anlamlı farklılık bulunamadı ( $p>0.05$ ). Ancak sekonder folikül sayıları ve antral folikül sayıları açısından siklofosfamid uygulanan grupta her iki folikül sayımı açısından daha düşük değerler görüldü ve istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.05$ )(Tablo 5).

**Tablo-6:** Silymarin ve kontrol grubu arasında, folikül sayıları (sekonder/antral) ve AMH(ng/ml) seviyelerinin karşılaştırılması.

	Grup 4(n=5)	Grup 5(n=6)	P
SEC	32(22-34)	38(28-50)	0.104
ANT	19(15-21)	22(15-29)	0.177
AMH	6.60(3.66-10.53)	5.64(0-25.78)	0.329

Mann Whitney U testi kullanıldı.

\*: p< 0.05 anlamlı

Silymarin verilen grupla kontrol grubu arasında AMH değerleri ve folikül sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 6).

**Tablo-7:** Siklofosfamid ve silymarin grubu arasında, folikül sayıları (sekonder/antral) ve AMH(ng/ml) seviyelerinin karşılaştırılması.

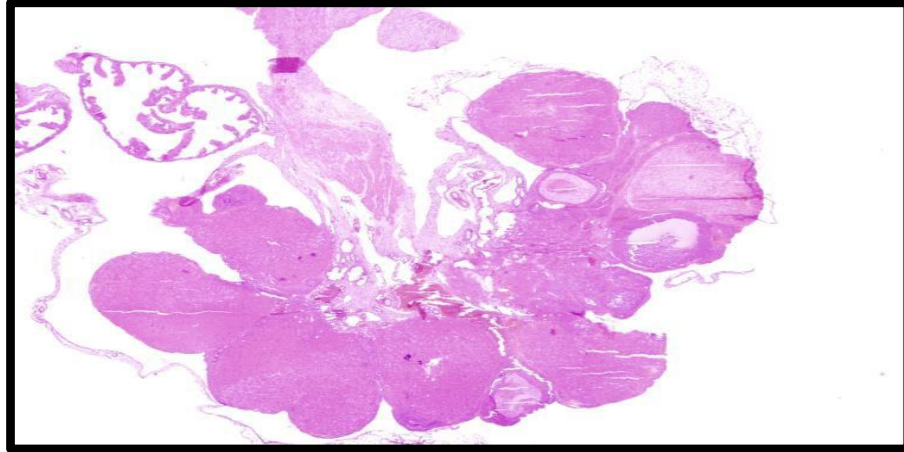
	Grup 2(n=12)	Grup 4(n=5)	P
SEC	25(9-41)	32(22-34)	0.383
ANT	10(5-17)	19(15-21)	<b>0.001</b>
AMH	4.91(1.24-8.58)	6.60(3.66-10.53)	0.234

Mann Whitney U testi kullanıldı.

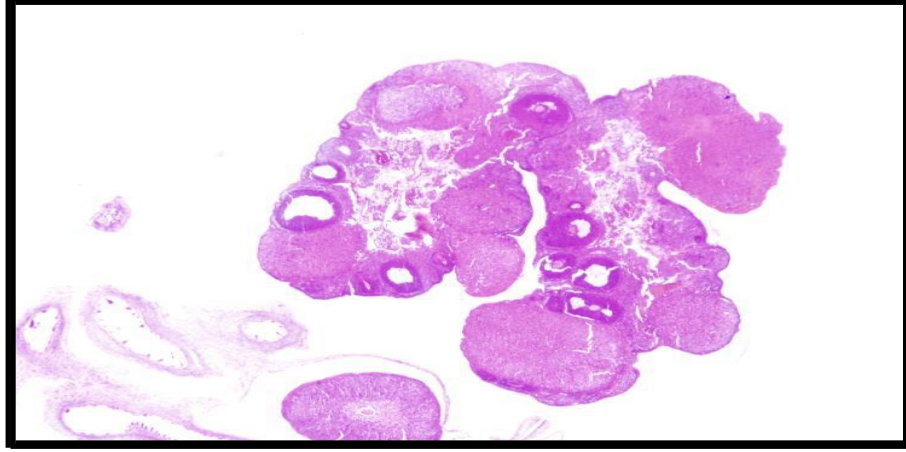
\*:  $p < 0.05$  anlamlı

Siklofosfamid uygulanan grupla silymarin verilen grup arasında AMH değerleri ve sekonder folikül sayıları açısından anlamlı farklılık bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Ancak antral folikül sayıları açısından silymarin uygulanan grupta daha yüksek değerler görüldü ve istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.05$ )(Tablo 7 ).

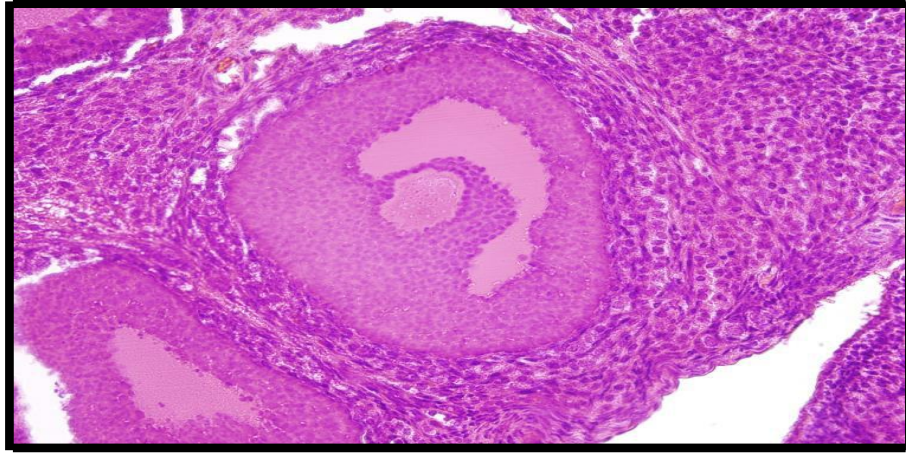
Kontrol ve çalışma gruplarına ait ovaryum kesitlerinde uygun preparasyon yöntemlerini takiben sekonder, antral (Preantral/antral) folikül sayımı yapıldı (Şekil- 8, 9, 10, 11).



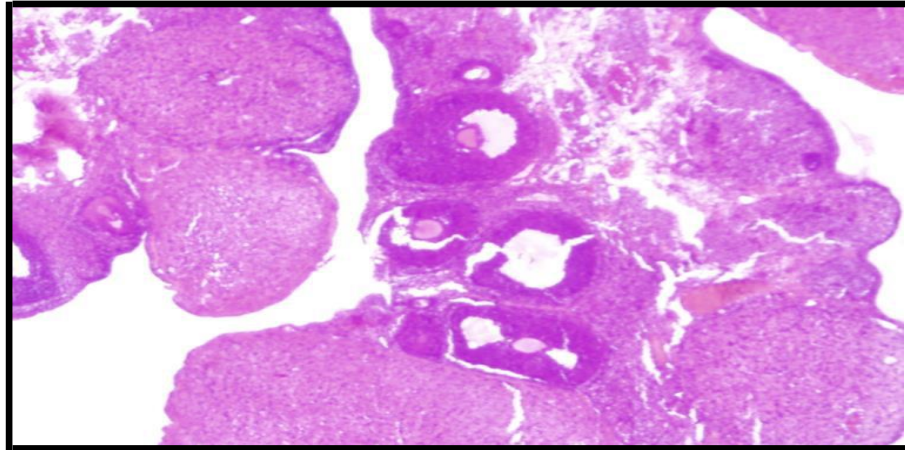
**Şekil-11:** Siklofosfamid grubunda ovaryum dokusunun görüntüsü (X4'lük büyütme, H&E.).



**Şekil-12:** Silymarin grubunda ovaryum dokusunun görüntüsü (X4'lük büyütme, H&E.).

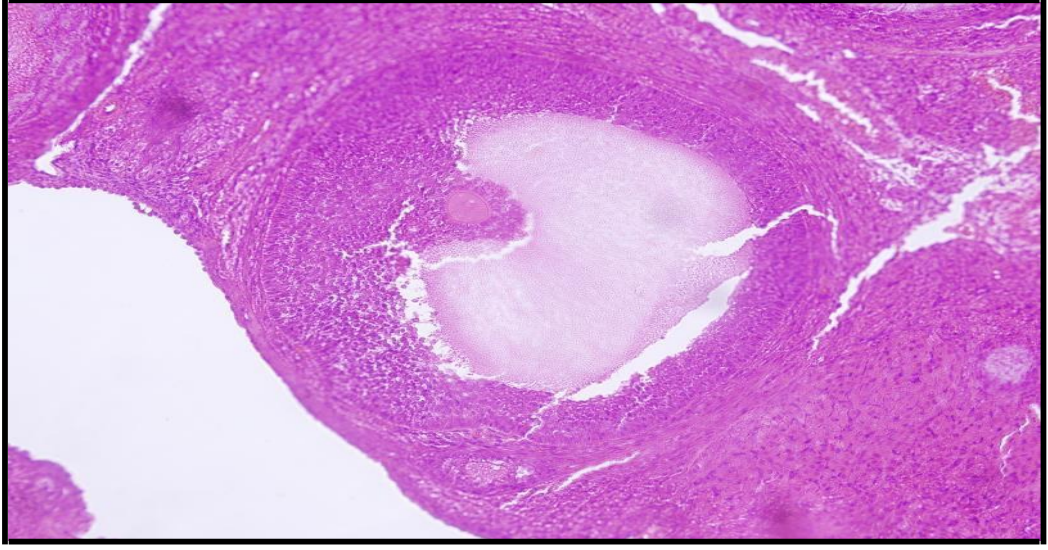


**Sekil-12:** Siklofosfamid/Silymarin grubunda preantral folikülün görüntüsü (X10'lük büyütme, H&E).



**Sekil-13:** Siklofosfamid/Silymarin grubunda sekonder ve preantral foliküllerin görüntüsü (X4'lük büyütme, H&E).





Sekil-14: Siklofosfamid grubunda antral folikülün görüntüsü  
(X10'luk büyütme, H&E)

## TARTIŞMA

Bu çalışmada gonadotoksik etkisi yüksek bir kemoterötik ajan olan siklofosamid ile rat overlerinde oluşturulan sitotoksik etkilerin azaltılmasında antiapoptotik ve antienflamatuar etkinliği bilinen bir silymarinin koruyuculuğu değerlendirilmiştir.

Siklofosamidle oluşturulan ovaryan toksisiteye yönelik silymarin ile oluşturduğumuz bu hayvan modeli bu alandaki ilk deneysel çalışmadır. Aslında silymarinin toksik ajanlara karşı antioksidan etkinliğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Chlopcikova ve ark. (101) yaptığı bir çalışmada kemoterötik bir ajan olan doksorubisine bağlı gelişen kardiyotoksisiteyi önlemede silymarin ve türevlerinin ( silybin, dehydrosilybin, silychristin and silydianin ) etkisini araştırmışlardır. Doksorubisin verilen grupta öncesinde 9 saat boyunca silymarin verildiğinde kardiyomiyositlerde sellüler ATP düzeylerinde artış olduğu ve kardiyotoksitenin daha az gözlendiği gösterilmiştir. Silymarinin tek başına miyositler üzerine etkinliği gözlenmediğinden bu etkiyi doksorubisinin oluşturduğu oksidatif stresi azaltarak oluşturduğu düşünölmektedir. Bu çalışmadan da yola çıkarak Silymarinin serbest radikallerin atılmasını artırırken oluşmasını azaltır ve hücre membranını stabilize ettiği gösterilmiştir.

Diyete silymarin eklemenin kemoprotektif etkinliği gösteren bir diğer çalışmada Vinh ve ark. (122) erkek farelerde N-butyl-N-(4-hidroksibutil) nitrosamine (OH-BBN) e sekonder oluşan mesane karsinogenezinde bu etkileri önlemek açısından 32 hafta diyete silymarin eklemişlerdir ve mesane lezyonlarını, hücre proliferasyonunu, hücre siklusunun progresyonunu ve siklin D1 düzeylerini incelemişlerdir. Silymarin verilen grupta neoplastik lezyonların görölme sıklığında anlamlı azalma olduğunu ortaya koymuşlardır. Yine mesane görölen lezyonlarda silymarin eklenen grupta hücre düzeyinde siklin D1 ekspresyonunda önemli azalma mevcuttur. Yine toplumda azımsanmayacak oranda görölen non-melanoma cilt kanserinin etyolojinde sorumlu tutulan temel faktör solar UV radyasyon maruziyetidir.

Katiyar ve ark. (123) buradan yola çıkarak SKH-1 saçsız farelerde yaptığı çalışmada fotokarsinogenezin etkinliğini azaltmada silymarinin rolünü araştırmışlardır ve sonuçta silymarinin fototoksisitede de benzer mekanizmalarla koruyucu etkinliği gösterilmiştir.

Silymarinin kemoterapiye sekonder oluşan nefrotoksisiteyi azalttığı gösteren çalışmalarda yine mevcuttur. Örneğin sisplatin bilinen en sitotoksik kemoteropatik ajanlardan biridir ve özellikle testis kanseri ya da over kanseri gibi bazı malignitelerde yaygın kullanımı sözkonusudur. Ancak klinik kullanımı kısıtlayan en önemli yan etkileri ototoksisite, nörotoksisite ve nefrotoksisiteye neden olmasıdır. Bokemayer ve ark.(124) buradan yola çıkarak oluşturdukları bir sıçan modelinde nefroprotektif bir ajan olarak silybinin etkilerini çalışmışlardır. Sonuçta silybin verilen grupta sisplatine sekonder oluşan glomerüler hasarın ve dolayısıyla kreatin klirensi gibi renal fonksiyonların korunduğunu göstermişlerdir. Gaedeke ve ark. (125) benzer bir çalışmada sisplatin ile oluşturulan renal glomerüler ve tübüler fonksiyon bozukluklarında silybinin koruyucu etkinliğini çalışmışlardır. Sıçanlarda oluşturdukları modelde 5mg/kg tek doz CDDP ile birlikte 200 mg/kg silybin eklendiğinde sonuçta böbrek fonksiyonlarını gösteren renal markerlarda bozulmanın minimal düzeyde olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yine sitotoksik etkisi ön planda olan siklofosfamidin yan etkilerinden korunmaya yönelik yapılan çalışmalardan silymarin türevlerinin etkinliğini araştırmaya yönelik ile KM El Deib ve ark. (126) yaptığı çalışmada sıçanlarda siklofosfamide sekonder oluşan hepatoksisite ve önleme silymarinin etkinliği değerlendirilmiştir. Siklofosfamid verilen grupta diyetle silymarin eklendiğinde karaciğer volümünün korunduğu artan ast alt düzeylerinin normalize olduğu gösterilmiştir. Siklofosfamid glutatyon (GSH), glutatyon transferaz (GST) and glutatyon redüktaz (GR) düzeylerini azaltırken silymarin bu etkinliği ortadan kaldırarak hepatoprotektif etki göstermektedir.

M. Khaksary Mahabady ve ark. (127) yaptığı bir başka çalışmada siklofosfamidin teratojenitesinden yola çıkılarak gebe sıçanlarda siklofosfamide sekonder oluşan fetal iskelet malformasyonunu azaltmada silymarin ve vitamin E etkinliği araştırılmıştır. 24 sıçanın ele alındığı çalışmada çalışma grubuna 15 mg/kg siklofosfamid enjeksiyonunu takiben

100 mg /kg silymarin ve 100 mg/kg vitamin E 13. gestasyonel güne kadar verilmiştir ve 20 gestasyonel günden sonra veriler analiz edildiğinde silymarin ve e vitamini verilen grupta fetüslerde palatal arkus anomalilerinin (yarık damak) ve vertebra, sternum, skapula gibi kemiklerde gözlen deformitelerin daha az olduğu gösterilmiştir. Yine bu grupta fetal ağırlık anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur.

Silymarin perspektifinde literatürde taranan çalışmalar incelendiğinde; silymarinin hepatoprotektif, sitoprotektif, hipoglisemik, hipokolesteolemik, antikanserojenik, gastroprotektif (anti-ülser) bir ajan olduğu farklı çalışmalarla ortaya konmuştur. Ciltten karaciğere prostattan pankreasa özellikle kanser ve kemoterapi başlığı altında farklı hücresel yollarla oluşan koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Ancak gonadlar ve üreme sistemi açısından bakıldığında gonadal fonksiyonlara olası etkilerini ya da gonadal toksisitelere yönelik koruyucu etkinliğinin varolup olmadığını gösteren oldukça sınırlı sayıda olduğu gözlenmiştir.

Moosavifar ve ark. (128) erkek faktör nedeni ile İn vitro fertilizasyon planlanan hastalarda siklusun 2. Gününde foliküler stimülasyonun yanı sıra 70mg/kg/gün dozuna silymarin eklemişler ve oosit pick up sonrasında elde edilen oositleri değerlendirdiklerinde silymarin verilen grupta granüloza hücre apoptozisinin daha az olduğunu ortaya koymuşlardır. Elde edilen oosit kalitesine silymarinin etkinliği olmadığı gösterilmiş olsada bu çalışma antral folikül apoptozisinde silymarinin olumlu etkisini göstermiştir.

Nabiuni ve ark. (129) ratlarda oluşturdukları polikistik over sendromu modelinde silymarini 10 gün boyunca intraperitoneal uyguladıktan sonra yaptıkları hormonal (adrenaller) ve morfolojik değerlendirme sonrasında silymarin verilen grupta anlamlı olarak ovaryan dokunun ve hormonal durumun daha fizyolojik kaldığını ortaya koymuşlardır.

Ovaryan toksisitede kullanılabilecek farklı antioksidan maddelerin etkinliği ile ilgili çalışmalar yine mevcuttur. Örneğin Patrick ve ark.(134) yaptığı derlemede siklofosamid gibi ajanların ortamda serbest oksijen radikallerini artırarak proapoptotik mekanizmaları tetikleyerek oksidatif strese yol açtığını gösterdi. Oluşan oksidatif stres oositte glutatyon düzeylerinde değişkenliğe yol açarak antral foliküllerin apoptozisini hızlandırmaktadır.

Meirow ve ark (135) oluşturdukları in vivo modelde siklofosfamidin bu oksidatif yolak üzerinden antral folikül atrezisine yok açtığını göstermişlerdir. Ancak Siklofosfamidin daha küçük foliküllerde hangi mekanizmayla toksisiteye sebep olduğu tam olarak bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda da siklofosfamidin hem antral hem sekonder folikül sayısını anlamlı olarak azalttığını gösterdik. Histolojik değerlendirmede primer ve primordial folikülleri değerlendirmemiş olsakta AMH salınımının 8 mm altındaki foliküllerde olduğundan yola çıkarak bizim çalışmamızda AMH düzeylerinde tüm gruplar arasında fark saptanmadığından primordial folikül havuzunda anlamlı düzeyde fark olmadığı kanısına vardık. Ancak çalışmamızın bu aşamadaki kısıtlılığı uygulanan ajanların kısa süreli oluşu ya da rezerv testlerinin erken dönemde yapılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünölmüştür. Ancak diğer yandan Davis ve ark. (136) ratlarda yaptıkları çalışmanın sonuçlarında da 200 mg/kg tek doz siklofosfamid uygulanmasını takiben yapılan histolojik değerlendirmede bizim çalışmamız ile benzer şekilde sekonder ve antral folikül sayılarında anlamlı düzeyde azalma saptanırken primer ve primordial folikül havuzunda farklılık saptanmamıştış. Siklofosfamidin sekonder ve antral foliküller üzerindeki etkisinin doz bağımlı olduğu düşünölmektedir.

Bizim çalışmamızda da siklofosfamidin oositler üzerindeki etkileri uygulanan doza bağımlı olarak diğer çalışmalarla benzer olarak sonuçlandı. Biz çalışmamızda siklofosfamisin bu etkisini azaltmak için silymarinin antiapoptotik ve antioksidan etkinliğini kullanmayı amaçlamıştış. Sonuçta da siklofosfamid maruziyeti öncesi oral silymarin verdiğimiz gruplarda anlamlı olarak antral folikül sayısını daha yüksek saptadık. Silymarinin farmakokinetik özelliğine bakıldığında lipofilik yapda olduğundan biyoyararlanımı daha düşük dozlarda olmaktadır. Buradan yola çıkarak uyguladığımız silymarin dozlarında toksik dozlara ulaşmazken minimum etkin doza ulaşıldığını düşünmekteyiz. Yine silymarin ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamış olması silymarinin kendisinde bu dozlarda over üzerine toksik etki oluşturmadığını düşöndürmektedir. Yinede Silymarinin silypid gibi biyoyararlanımı daha yüksek formlarında mevcut etkiye daha düşük dozlarda ulaşmak mümkün olacaktır.

Klinik pratikte sistemik lupus eritamatozus gibi kronik immün patolojilerde daha düşük dozlarda da olsa siklofosamid gibi ajanların uzun süreli kullanımı söz konusu olmaktadır. Bu hastalarda over rezerv kaybı uzun sürede aşikâr hale gelmektedir. Yine malignitelerde kullanılan daha kısa süreli daha yüksek dozlarda kullanılan siklofosamid gibi gonadotoksik ajanlarla tedavi gerektiğinde over kriyopreservasyonu gibi fertilité prezervasyonuna yönelik yöntemler daha ön planda olmaya devam edecek gibi görünse de mevcut tedaviye silymarin gibi antiapoptotik/antioksidan ajanların eklenmesi ile sonraki süreçte gonadal fonksiyonların geri kazanılmasını kolaylaştıracak gibi görünmektedir.

Sonuçta bizim çalışmamızda sitotoksik ajan maruziyetinde özellikle antioksidan etkinliği ve apoptotik inhibisyon özelliği ile silymarinin akut dönemde mevcut antral folikül havuzu üzerinde koruyucu etki oluşturduğu ortaya kondu. Ancak klinik kullanımı ve etkin insan dozlarının değerlendirmesi için antiapoptotik ajanlara yönelik daha çok çalışma gerektiği aşikârdır. Fertilité korucuyucu tedaviler alt başlığında antiapoptotik ajanların her geçen gün daha çok gündeme geleceği düşünölmektedir.

## KAYNAKLAR

1. IARC acknowledges generous assistance from the American Association for Cancer Research with the promotion of World Cancer Report 2014.
2. Oktem O and Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer* 2007;110(10):2222-9.
3. Manna SK, Mukhopadyay A, Van NT et al; Sylmarin Suppreses TNF-Induced activation of apoptozis; *J* 1999;163:6800-9.
4. McKay, William John Stewart. (2013). pp. 244-5. The History of Ancient Gynaecology. London: Forgotten Books. (Original work published 1901)
5. Berek S. J. Novak Jinekoloji. Onüçüncü baskı. Nobel yayınevi. 2004;101,164-169,
6. Çiçek N M, Akyürek C, Çelik Ç, et al Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 2006;1413-1435, 101-107, 1301-1332.
7. Quigley MM, Gwatkin RBL. Embriyoloji ve kadın üreme sisteminin gelişim bozuklukları. In: Scott JR, Disaia PJ, Hammond CB. Danforth Obstetrik ve Jinekoloji. JB Lippincot Co. Philedelphia 1994,11-27. İstanbul, 1997
8. Gökmen O, Zeyneloğlu HB. Over embriyolojisi ve gelişimi. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG(eds): Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite. Williams and Wilkins. Baltimore, 1994,93-107 (İstanbul, 1996)
9. Speroff L, Fritz AM. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite. Yedinci baskı. Güneş Tıp Kitabevleri. 2007;188-225.
10. Lass A. Assessment of ovarian reserve is there a role for ovarian biopsy? *Hum Reprod.* 2001;16,1055-1057.
11. Seifer DB, Lambert-Masserlian G, Hogan JW, et al. Day 3 serum inhibin – B is predictive of assisted reproductive Technologies outcome. *Fertil Steril.* 1997;67.110-114.
12. Barnhart K and Osheroff J. We are over interpreting the predictive value of serum follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril.* 1999;72,8-9.
13. Marcus SF and Brinsden PR. In - vitro fertilization and embryo transfer in women aged 40 years and over. *Hum Reprod Update.* 1996;2.459-468.
14. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod.* 2001;7.581-590.
15. Licciardi FL, Hung- Ching L, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in-vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1992;64.991-994

16. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril.* 1997;68:272-277
17. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, et al. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 1995;64:1136-40.
18. Soules MR, Battaglia DE, Klein NA. Inhibin and reproductive aging in women. *Maturitas.* 1998;30:193-204.
19. Danforth DR, Arbogast LK, Mroueh J. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging. *Fertil Steril.* 1998;70:119-23
20. Picard J.Y, Josso N. Purification of testicular anti-Mülleryan hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Mol Cell Endocrinol.* 1984;34(1):23-29.
21. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Mülleryan inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr. Rev.* 2001;22(5):657-674.
22. Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Mülleryan hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil. Steril.* 2011;95(2):747-750.
23. Nelson SM, Messow MC, McConnachie A, et al. External validation of nomogram for the decline in serum anti-Mülleryan hormone in women: a population study of 15,834 infertility patients. *Reproductive biomedicine online.* 2011;23(2):204-206.
24. Nelson SM, Iliodromiti S, Fleming R, et al. Reference range for the antimülleryan hormone Generation II assay: a population study of 10,984 women, with comparison to the established Diagnostics Systems Laboratory nomogram. *Fertil. Steril.* 2014;101(2):523-529. e521.
25. La Marca A, Spada E, Grisendi V, et al. Normal serum anti-Mülleryan hormone levels in the general female population and the relationship with reproductive history. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2012;163(2):180-184.
26. Grynberg M, Pierre A, Rey R, et al. Differential regulation of ovarian anti-mülleryan hormone (AMH) by estradiol through  $\alpha$ - and  $\beta$ -estrogen receptors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2012;97(9):E1649-E1657.
27. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Mülleryan hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006;131(1):1-9.
28. Mehta BN, Chimote MN, Chimote NN, et al: Follicular-fluid anti-Mullerian hormone (FF AMH) is a plausible biochemical indicator of functional viability of oocyte in conventional in vitro fertilization (IVF) cycles. *J. Hum. Reprod. Sci.* 2013;6(2):99.



29. RL VW, Bogumil J, Dyrenfurth I, et al. Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. *Recent Progress in Hormonal Research*. 1971;26:63-103.
30. Baird D, Bäckström T, McNeilly A, et al. Effect of enucleation of the corpus luteum at different stages of the luteal phase of the human menstrual cycle on subsequent follicular development. *J. Reprod. Fertil*. 1984;70(2):615-624.
31. Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. Actions of anti-Mülleryan hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction*. 2007;134(2):209-221.
32. Durlinger A, Visser JA, Themmen A. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction*. 2002;124(5):601-609.
33. Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME. Serum mullerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil Steril*. 2000;73:859-61.
34. Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, et al. Serum anti-Mullerian hormon levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002;17,3065-71
35. Ivarson SA, Nillson KO, Persson PH. Ultrasonography of the pelvic organs in prepuberal and postpuberal girls. *Arch Dis Child*. 1983;58:352-354.
36. Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, et al. 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.
37. Kodaman PH, Early Menopause: Primary Ovarian Insufficiency and Surgical Menopause *Semin Reprod Med* 2010; 28: 360-69
38. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril* 1990; 53: 804-10.
39. Nelson, LM. Anasti, JN. Flack, MR. Premature ovarian failure. In: Adashi, EY; Rock, JA. Rosenwaks, Z, editors. *Reproductive endocrinology, surgery, and technology*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 1393-410.
40. Aittomäki K, Lucena JLD, Pakarinen P, et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 1995; 82: 959-68.
41. Woad KJ, Watkins WJ, Prendergast D, Shelling AN The genetic basis of premature ovarian failure. *ANZJOG* 2006; 46:242-244
42. Hitchings, G.H, "Rational design of anticancer drugs: here, imminent or illusive. In, *Development of Target-Oriented Anticancer Drugs*", *Progress in Cancer Research and Theraphy*, Vol. 28, Raven Press, New York, 227-238 (1983).
43. Randolph, V.L. Vallejo, A., Spiro, et al ."*Combination Theraphy of Advanced Head and Neck Cancer*", *Cancer*, 41, 460-467(1978).
44. Atagündüz P. Antikanser ilaçlar. In: Oktay İ (ed). *Farmakoloji (çeviri)*. 2. baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 1998: 373-400.

45. Kayaalp, S.O. "Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar", Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, cilt 1, 8.basım, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1007-1072(1998)
46. Gilman, A. Goodman, L.S. "Chemotherapy of Neoplastic Diseases", The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th edition, Pergamon Press, U.S.A. 1240-1306(1991).
47. Calabresi, P. Welch, A.D, "Chemotherapy of neoplastic diseases", Annu. Rev. Med. 13,147-202 (1962).
48. Hitchings, G.H. "Rational design of anticancer drugs: here, imminent or illusive. In, Development of Target-Oriented Anticancer Drugs", Progress in Cancer Research and Therapy, Vol. 28, Raven Press, New York, 227-238 (1983).
49. Browne H, Norian JM, et all. Gonadal Dysfunction. In: Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds). Cancer, Philadelphia 2008, 8th edition, Chapter 63, p 2692-2710
50. Coggins PR, Ravdin RG, Eisman SH. Clinical evaluation of a new alkylating agent: cytoxan (cyclophosphamide). Cancer. 1960;13,1254-60
51. Koyama H,Wada T.and Nishizawa, Y.Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance patients with breast cancer.
52. Sirus E.S.Leventhal. B.G.and Vaitukaitis, J.L.Effects of childhood leukemia and chemoherapy on puberty and reproductive function in girls, N.Engl. J. med.294;1143-1146,1976
53. Fairley, K.F,Barri J.V.and Johnson, W.Sterility and testicular atrophy related to cyclophosphamid therapy, Lancet 1.568-569,1972
54. Rose, D.P.and Davis, T.E. Ovarian function in patients receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer. Lancet 1,1174-1176,1977
55. Bisharah M, Tulandi T. Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure. Am J Obstet Gynecol. 2003;188:367-370.
56. Maltaris T, Seufert R, Fischl F, Schaffrath M. The effect of cancer treatment on female fertility and strategies for preserving fertility. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2007;130: 148-155.
57. Sonmezer M, Oktay K. Assisted reproduction and fertility preservation techniques in cancer patients. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2008;15.514-522
58. Bombardelli E, Morazzoni P. Vitis vinifera, L Fitoterapia 1995; 66(4):291-317.
59. Zi X, Agarwal R. Silibinin decreases prostate-specific antigen with cell growth inhibition via G1 arrest, leading to differentiation of prostate carcinoma cells: implications for prostate cancer intervention. Proc Natl Acad Sci USA 96: 7490-7495
60. Valenzuela A, Garrido A.Biochemical bases of the pharmacological action of the flavinoid silymarin and of its structural isomer silibinin. Biol Res. 1994;27(2):105-12
61. Joshua Smith, Michael Lindsay, Roshanak Rahimian, Leigh Anderson; The Influence of Estrogen and Progesterone on Parasympathetic Vasodilatation in the Rat Submandibular Gland 10,1016/j.autneu.2008.12.006(pubmed)

62. Ahmed B, Khan SA and Alam T: Synthesis and antihepatotoxic activity of some heterocyclic compounds containing the 1,4-dioxane ring system. *Pharmazie* 58: 173-176, 2003.
63. Litkei GY, Patonay T, Bogнар R, Khilja V, Aitmambetov A, Turov A and Babichev F: Synthesis of hypolipidemic silybin analog 3',4'-ethylenedioxyflavonoids. *Pharmazie* 39: 741-744, 1984.
64. Pifferi G, Pace R and Conti M: Synthesis and antihepatotoxic activity of silybin 11-O-phosphate. *Farmaco* 49: 75-76, 1994.
65. Soto C, Recoba R, Barron H et al: Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 136: 205-212, 2003.
66. Pietrangelo A, Borella F, Casalgrandi G et al: Antioxidant activity of silybin in vivo during longterm iron overload in rats. *Gastroenterology* 109: 1941-1949,
67. Feher J, Lang I, Nekam K, et al: In vivo effect of free radical scavenger hepatoprotective agents on superoxide dismutase (SOD) activity in patients. *Tokai J Exp Clin Med* 15: 129- 134, 1990.
68. Comoglio A, Leonarduzzi G, Carini R, et al: Studies on the antioxidant and free radical scavenging properties of IdB 1016 a new flavanolignan complex. *Free Radic Res Commun* 11: 109-115, 1990.
69. De La Puerta R, Martinez E, et al: Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration. *J Pharm Pharmacol* 48: 968-970, 1996.
70. Cruz T, Galvez J, Crespo E, et al: Effects of silymarin on the acute stage of the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Planta Med* 67: 94-96, 2001.
71. Chun KS and Surh YJ: Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention. *Biochem Pharmacol* 68: 1089-1100, 2004.
72. Zhao J, Sharma Y and Agarwal R: Significant inhibition by the flavinoid antioxidant silymarin against 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate-caused modulation of antioxidant and inflammatory enzymes, and cyclooxygenase 2 and interleukin-1alpha expression in SENCAR mouse epidermis: implications in the prevention
73. Fiebrich F and Koch H: Silymarin, an inhibitor of prostaglandin synthetase. *Experientia* 35: 1550-1552, 1979.
74. Ghosh J and Myers CE: Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13182-13187, 1998.
75. Avis I, Hong SH, Martinez A, et al : Five-lipoxygenase inhibitors can mediate apoptosis in human breast cancer cell lines through complex eicosanoid interactions. *FASEB J* 15: 2007-2009, 2001.
76. Fiebrich F and Koch H: Silymarin, an inhibitor of lipoxygenase. *Experientia* 35: 1548-1560, 1979.
77. Sugarman BJ, Aggarwal BB, Hass PE et al: Recombinant human tumor necrosis factor-alpha: effects on proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science* 230: 943-945, 1985.

78. Zhang JP, Hu ZL, Feng ZH, et al: Effect of silymarin on mouse liver damage, production and activity of tumor necrosis factor. *Yao Xue Xue Bao* 31: 577-580, 1996.
79. Horvath ME, Gonzalez-Cabello R, Blazovics A, et al: Effect of silibinin and vitamin E on restoration of cellular immune response after partial hepatectomy. *J Ethnopharmacol* 77: 227-232, 2001.
80. Dhanalakshmi S, Singh RP, Agarwal C et al: Silibinin inhibits constitutive and TNF $\alpha$ -induced activation of NF- $\kappa$ B and sensitizes human prostate carcinoma DU145 cells to TNF $\alpha$ -induced apoptosis. *Oncogene* 21,1759-1767, 2002.
81. Zi X, Mukhtar H and Agarwal R: Novel cancer chemopreventive effects of a flavinoid antioxidant silymarin: inhibition of mRNA expression of an endogenous tumor promoter TNF  $\alpha$ . *Biochem Biophys Res Commun* 239:334-339, 1997.
82. Dhanalakshmi S, Mallikarjuna GU, Singh RP and Agarwal R: Dual efficacy of silibinin in protecting or enhancing ultraviolet B radiation-caused apoptosis in HaCaT human immortalized keratinocytes. *Carcinogenesis* 25: 99-106, 2004.
83. Gonzalez-Correa JA, de la Cruz JP, Gordillo J, et al: Effects of silymarin MZ-80 on hepatic oxidative stress in rats with biliary obstruction. *Pharmacology* 64: 18- 27, 2002.
84. Campos R, Garrido A, Guerra R and Valenzuela A: Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Med* 55: 417-419, 1989.
85. Singh RP, Sharma G, Dhanalakshmi S, Agarwal C and Agarwal R: Suppression of advanced human prostate tumor growth in athymic mice by silibinin feeding is associated with reduced cell proliferation, increased apoptosis, and inhibition of angiogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12: 933-939, 2003.
86. Altorjay I, Dalmi L, Sari B, et al: The effect of silibinin (Legalon) on the free radical scavenger mechanisms of human erythrocytes in vitro. *Acta Physiol Hung* 80: 375-380, 1992.
87. Zhao J, Lahiri-Chatterjee M, Sharma Y et al: Inhibitory effect of a flavinoid antioxidant silymarin on benzoyl peroxide- induced tumor promotion, oxidative stress and inflammatory responses in SENCAR mouse skin. *Carcinogenesis* 21: 811-816, 2000.
88. Ramadan LA, Roushdy HM, Abu Senna GM et al: Radioprotective effect of silymarin against radiation induced hepatotoxicity. *Pharmacol Res* 45: 447-454, 2002.
89. Soto C, Recoba R, Barron H, et al: Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 136: 205-212, 2003.
90. Letteron P, Labbe G, Degott C, et al: Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. Evidence that silymarin acts both as an inhibitor of metabolic activation and as a chain-breaking antioxidant. *Biochem Pharmacol* 39: 2027-2034, 1990.

91. Muriel P and Mourelle M: Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl<sub>4</sub> liver damage. *J Appl Toxicol* 10: 275-279, 1990.
92. Halim AB, el-Ahmady O, Hassab-Allah S, et al: Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally-induced liver damage. *Ann Clin Biochem* 34(Pt 6): 656-663, 1997.
93. Zima T, Kamenikova L, Janebova M, Buchar E, et al: The effect of silibinin on experimental cyclosporine nephrotoxicity. *Ren Fail* 20: 471-479, 1998.
94. Soto CP, Perez BL, Favari LP and Reyes JL: Prevention of alloxan-induced diabetes mellitus in the rat by silymarin. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 119: 125-129, 1998.
95. Lucena MI, Andrade RJ, de la Cruz JP, et al: Effects of silymarin MZ-80 on oxidative stress in patients with alcoholic cirrhosis. Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Int J Clin Pharmacol Ther* 40: 2-8, 2002.
96. Lieber CS, Leo MA, Cao Q, Ren C and DeCarli LM: Silymarin retards the progression of alcohol-induced hepatic fibrosis in baboons. *J Clin Gastroenterol* 37: 336-339, 2003.
97. Skottova N, Kazdova L, Oliyarnyk O, et al: Phenolics-rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats. *Pharmacol Res* 50: 123-130, 2004.
98. Pietrangelo A, Borella F, Casalgrandi G et al: Antioxidant activity of silybin in vivo during longterm iron overload in rats. *Gastroenterology* 109: 1941-1949, 1995.
99. Basaga H, Poli G, Tekkaya C and Aras I: Free radical scavenging and antioxidative properties of 'silibin' complexes on microsomal lipid peroxidation. *Cell Biochem Funct* 15: 27-33, 1997
100. Kosina P, Kren V, Gebhardt R et al: Antioxidant properties of silybin glycosides. *Phytother Res* 16 Suppl 1: S33-39, 2002.
101. Psotova J, Chlopcikova S, Grambal F, Simanek V and Ulrichova J: Influence of silymarin and its flavonolignans on doxorubicin-iron induced lipid peroxidation in rat heart microsomes and mitochondria in comparison with quercetin. *Phytother Res* 16 Suppl 1: S63-67, 2002.
102. Sanhueza J, Valdes J, Campos R, et al: Changes in the xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase ratio in the rat kidney subjected to ischemia-reperfusion stress: preventive effect of some flavinoids. *Res Commun ChemPathol Pharmacol* 78: 211- 218, 1992.
103. Kang JS, Jeon YJ, Kim HM, Han SH and Yang KH: Inhibition of inducible nitric-oxide synthase expression by silymarin in lipopolysaccharide-stimulated acrophages. *J Pharmacol Exp Ther* 302: 138-144, 2002.
104. Varga Z, Czompa A, Kakuk G and Antus S: Inhibition of the superoxide anion release and hydrogen peroxide formation in PMNLs by flavonolignans. *Phytother Res* 15: 608-612, 2001, 1061

105. Feher J, Lang I, Nekam K, Gergely P and Muzes G: In vivo effect of free radical scavenger hepatoprotective agents on superoxide dismutase (SOD) activity in patients. *Tokai J Exp Clin Med* 15: 129-134, 1990.
106. Muzes G, Deak G, Lang I, Nekam K, et al: Effect of the bioflavonoid silymarin on the in vitro activity and expression of superoxide dismutase (SOD) enzyme. *Acta Physiol Hung* 78: 3-9, 1991.
107. Lang I, Deak G, Muzes G, Pronai L and Feher J: Effect of the natural bioflavonoid antioxidant silymarin on superoxide dismutase (SOD) activity and expression in vitro. *Biotechnol Ther* 4: 263-270, 1993.
108. Dehmlow C, Murawski N and de Groot H: Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silibinin in human cells. *Life Sci* 58: 1591-1600, 1996.
109. Anderson D, Yu TW, Phillips BJ and Schmezer P: The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the COMET assay. *Mutat Res* 307: 261-271, 1994.
110. Johnson VJ, He Q, Osuchowski MF and Sharma RP: Physiological responses of a natural antioxidant flavonoid mixture, silymarin, in BALB/c mice: III. Silymarin inhibits T lymphocyte function at low doses but stimulates inflammatory processes at high doses. *Planta Med* 69: 44-49, 2003.
111. Johnson VJ, Osuchowski MF, He Q and Sharma RP: Physiological responses to a natural antioxidant flavonoid mixture, silymarin, in BALB/c mice: II. Alterations in thymic differentiation correlate with changes in c-myc gene expression. *Planta Med* 68: 961-965, 2002, 1
112. La Grange L, Wang M, Watkins R, et al: Protective effects of the flavonoid mixture, silymarin, on fetal rat brain and liver. *J Ethnopharmacol* 65: 53-61, 1999.
113. Bokemeyer C, Fels LM, Dunn T, et al: Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti-tumour activity. *Br J Cancer* 74, 2036-2041, 1996.
114. Vereckei A, Zipes DP and Besch H Jr: Combined amiodarone and silymarin treatment, but not amiodarone alone, prevents sustained atrial flutter in dogs. *J Cardiovasc Electrophysiol* 14: 861-867, 2003.
115. Hakova H and Misurova E: Therapeutical effect of silymarin on nucleic acids in the various organs of rats after radiation injury. *Radiats Biol Radioecol* 36: 365-370, 1996.
116. Kidd P, Head K. A Review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: A silybin-phosphatidylcholine complex (Silphos). *Altern Med Rev* 2005;10:193-203
117. Arcari M, Brambilla A, Brandt A, Caponi R, Corsi G, Di Rella M. A new inclusion complex of silibinin and beta-cyclodextrins: in vivo dissolution kinetics and in vivo absorption in comparison with traditional formulations. *Boll Chim Farm* 1992;66,3205-9
118. Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S and Pifferi G: Comparative pharmacokinetics of silybin and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 18: 289-297, 1993.

119. 119. Rowan K. Fertility preservation during treatment is a growing issue for women. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:294-296.
120. Oktay K, Sonmezer M. Chemotherapy and amenorrhea: risks and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008;20:408–415.
121. Oktem O and Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer* 2007;110(10):2222-9.
122. Vinh PQ, Sugie S, Tanaka T, Hara A, Yamada Y, Katayama M, Deguchi T and Mori H et al: Chemopreventive effects of a flavinoid antioxidant silymarin on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Jpn J Cancer Res* 93: 42-49, 2002.
123. Katiyar SK, Korman NJ, Mukhtar H and Agarwal R: Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model. *J Natl Cancer Inst* 89: 556-566, 1997.
124. 197: Bokemeyer C, Fels LM, Dunn T et al: Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti- tumour activity. *Br J Cancer* 74,2036-2041, 1996.
125. 125. Gaedeke J, Fels LM, Bokemeyer C, et al: Cisplatin nephrotoxicity and protection by silibinin. *Nephrol Dial Transplant* 11: 55-62, 1996.
126. KM El Deib, MM Ahmed, NZ Ahmed: Biochemical evaluation of the protective impact of silymarin against cyclophosphamide induced hepatotoxicity in rats: *Egyptian Journal Of Biochemistry and Molecular Biology* :Vol 29, No 2 (2011)
127. M. Khaksary Mahabady and H. Najafzadeh Varzi: Prophylactic Effects of Silymarin and Vitamin E on Cyclophosphamide-Induced Skeletal Malformations in Rat Embryos. *World Applied Sciences Journal* 12 (5): 636-641, 2011 ISSN 1818-4952
128. Moosavifar N1, Mohammadpour AH, Jallali M, Karimiz G, Saberi H.; Evaluation of effect of silymarin on granulosa cell apoptosis and follicular development in patients undergoing invitro fertilization. *East Mediterr Health J.* 2010 Jun;16(6):642-5.
129. Mohammad Nabiuni , Parvin Kayedpoor, Shima Mohammadi , Latifeh Karimzadeh; Effect of silymarin on estradiol valerate- induced polycystic ovary syndrome; *MEDICAL SCIENCES* 2015, 25(1): 16-26
130. Tara S. Barton ,Andrew J. Wyrobek et al: Numerical Chromosomal Abnormalities in Rat Epididymal Spermatozoa Following Chronic Cyclophosphamide Exposure; *Biology of Reproduction* October 1, 2003 vol. 69no. 4 1150-1157
131. 131 Schandalik R and Perucca E: Pharmacokinetics of silybin following oral administration of silypide in patients with extrahepatic biliary obstruction. *Drugs Exp Clin Res* 20: 37-42, 1994.
132. Rajesh Agarwal, Charu Agarwal, Haruyo Ichikawa, et al: Anticancer Potential of Silymarin: From Bench To Bed Side; *Anticancer Research* 26: 4457-4498 (2006)
133. Gnoth C, Schuring AN, Friol K, et al. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program. *Hum Reprod* 2008;23,1359-65.

134. DeVet A, Laven JS, de Jong FH, et al: Antimülleryan hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.
135. Patrick J. Devine,3 Sally D. Perreault, Ulrike Luderer: Roles of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Ovarian Toxicity, *Biology Of Reproduction* (2012) 86(2):27, 1–10
136. Meiorow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of Primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod* 1999; 14:1903–1907.
137. Davis BJ, Heindel JJ. Ovarian toxicants: multiple mechanisms of action. In: Korach KS (ed.), *Reproductive and Developmental Toxicology*. New York: Marcel Dekker; 1998:373–395.



## **Ekler**

### **Ek-1: Kısaltmalar**

GnRH: Gonadotropin Releasing Hormon

FSH: Folikül Stimulan Hormon

LH: Luteinizan Hormon

mRNA: Messenger Ribonükleik Asit

RNA: Ribonükleik Asit

DNA: Deoksiribonükleik Asit

Cm: Santimetre

mg: miligram

mm: milimol gr:

gram

ml : mililitre

mIU: miliinternational unit

IU: international unit cm<sup>3</sup>:

santimetreküp

L: litre

ng: nanogram

SOD: Süperoksiddismutaz

AMH: Anti Mülleryan Hormon

CCL<sub>4</sub>:Karbontetraklorür LOX:

Lipooksjenaz

GGTP: Gama glutamil transpeptidaz

c-AMP: cyclic Adenozin Mono fosfat

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

IVF : In vitro Fertilizasyon

NADPH:Nikotinamid adenin dinükleotit

fosfat E<sub>2</sub>: Estradiol

ADP: Adenozin monofosfat

TPA: 12-O-Tetradekanoilforbol-asetat

GSH: Glutatyon

MHC: Major Histokompabilite

## TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince, değerli bilgi ve deneyimleri ile eğitimimi sağlayan Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı değerli Öğretim Üyelerinden başta tez Hocam Doç.Dr. Kemal ÖZERKAN 'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Araştırma boyunca patolojik preparasyon aşamasında laboratuarda gösterdiği hassasiyet ve emekleri için Araş. Gör. Gökten Kuşpınar ve değerli bilgilerini tezime aktarmada gösterdiği çaba ve hassasiyet için değerli Histoloji ve Embriyoloji öğretim üyesi Doç Dr Berrin Avcı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Araştırma projemin maddi desteğini sağlayan U.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne; araştırmamın en temel parçası saf silymarin maddesinin temini konusunda katkıları için ABDİ İbrahim İlaç Firması Bilimsel proje destek ekibine ve kemoteropetik ilaçların hazırlanması aşamasında gösterdikleri yardımlar sebebiyle Uludağ Üniversitesi Kemoterapi Ünitesi değerli çalışanlarına ve araştırma boyunca çalışmaya gösterdiği özen ve itina nedeni ile Vet. Hek.Faruk Küçükyıldız'a yardımlarından dolayı ayrıca teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım başta Prof.Dr. Gürkan UNCU olmak üzere, Prof Dr.Şakir KÜÇÜKKÖMÜRÇÜ; Prof Dr Hakan OZAN, Yrd Doç Dr Bilge ÇETİNKAYA DEMİR, Yrd Doç Dr Mehmet Aral ATALAY; eski öğretim üyesi Doç Dr Barış ATA'ya ve emekli öğretim üyesi Prof Dr Mehpare TÜFEKÇİ, Prof. Dr Ahmet ESMER ve Prof. Dr. Candan CENGİZ'e saygıyla teşekkürlerimi sunuyorum.

Değerli uzmanlarımız Uzm. Dr Adnan ORHAN, Uzm Dr Işıl KASAPOĞLU ve aynı dönemde asistanlık yaptığım, birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm iş arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Tüm asistanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda dayanağım ve destekçim olan başta eşim Fatih TÜRK'e, varlığıyla en büyük manevi desteğim kızıma ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Dr Pınar TÜRK

## ÖZGEÇMİŞ

04 Ekim 1985 Zonguldak doğumluyum. İlkokul eğitimini Yozgat Merkez Cumhuriyet ilkokulunda tamamladıktan sonra ortaokul ve lise öğrenimimi Bursa Ulubatlı Hasan Anadolu Lisesi'nde tamamladım.2003-2010 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp fakültesinde üniversite eğitimimi tamamladım. 2011 yılından beri, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD'da araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.2011 yılından bu yana evli ve bir çocuk annesiyim.