

Metotreksat Kaynaklı Ovaryum Hasarında *Crataegus Monogyna* Etkisinin Araştırılması

Investigation of the Effects of *Crataegus Monogyna* on Methotrexate-Induced Ovarian Damage

Emine SARMAN¹ 

Öz

Amaç: Folik asit antagonisti olan Metotreksat (MTX), çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Terapötik faydalarına rağmen, MTX'in özellikle genital sistemle ilişkili organlar başta olmak üzere birçok organda toksisiteye yol açtığı bilinmektedir. *Crataegus monogyna* (CM) birçok bölgede yaygın olarak bulunan ve flavonoid içeriği yüksek olan bir bitkidir; antioksidan ve koruyucu özellikleriyle tanınır. MTX'in ovaryum üzerinde oluşturduğu hasar daha önce çalışılmış olsa da CM'nin bu hasara karşı olası koruyucu etkisiyle ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, CM'nin MTX kaynaklı ovaryum hasarı üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

Araçlar ve Yöntem: 30 adet dişi rat her grupta 6 hayvan olacak şekilde rastgele 5 gruba ayrılmıştır: Kontrol: 14 gün boyunca ad libitum su ve yemle beslenen ratlardan oluşan grup. Sham: 1.gün tek doz serum fizyolojik (SF) ve 14 gün gavajla distile su verilen ratlardan oluşan grup. MTX: 1.gün tek doz 20 mg/kg MTX uygulanan grup. MTX+CM Grubu: Tek doz MTX uygulamadan 1 saat önce ve 14 gün boyunca gavajla 200 mg/kg CM verilen ratlardan oluşan grup. CM: 14 gün boyunca gavajla 200 mg/kg CM verilen ratlardan oluşan grup. Deney sonunda tüm hayvanlar anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Ovaryum dokuları alınarak %10'luk formalin içinde tespit edilmiş, histolojik inceleme için rutin doku takip işlemlerinden geçirilmiştir.

Bulgular: MTX grubunda vasküler konjesyon ve hemoraji, atrofik ovaryan foliküller, kolajenöz madde birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüştür. Tedavi grubu olan MTX+CM grubunda ise bu bulgular önemli derecede azalmıştır.

Sonuç: MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı CM'nin koruyucu bir etki gösterdiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *crataegus monogyna*; metotreksat; ovaryum; rat

ABSTRACT

Purpose: Methotrexate (MTX), a folic acid antagonist, is widely used in the treatment of various diseases. Despite its therapeutic benefits, MTX has been associated with toxicity in several organs, especially those of the genital system. *Crataegus monogyna* (CM) is a flavonoid-rich plant commonly found in many regions and known for its antioxidant and protective properties. Although MTX-induced ovarian damage has been previously studied, no research has investigated the potential protective effect of CM on this damage. This study aimed to evaluate the effect of CM on MTX-induced ovarian injury in rats.

Materials and Methods: Thirty female rats were randomly divided into five groups (n=6): Control: Received only water and food ad libitum for 14 days. Sham: Given a single dose of physiological saline on day 1 and distilled water by gavage for 14 days. MTX: Received a single intraperitoneal dose of 20 mg/kg MTX on day 1. MTX+CM: Treated with 200 mg/kg CM via gavage one hour before MTX administration and continued CM for 14 days. CM: Received 200 mg/kg CM via gavage for 14 days. At the end of the experiment, all animals were sacrificed under anesthesia. Ovarian tissues were collected, fixed in 10% formalin, processed, and examined histologically.

Results: In the MTX group, vascular congestion and hemorrhage, atrophic ovarian follicles, collagen accumulation, and mononuclear cell infiltration were observed. These pathological findings were significantly reduced in the MTX+CM treatment group.

Conclusion: It was observed that CM showed a protective effect against MTX-induced ovarian damage.

Keywords: *crataegus monogyna*; methotrexate; ovary; rat

Gönderilme tarihi: 13.09.2024; Kabul edilme tarihi: 12.01.2025

¹Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Afyonkarahisar, Türkiye.

Sorumlu Yazar: Emine Sarman, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Afyonkarahisar, Türkiye.
e-posta: emine.sarman@afsu.edu.tr

Makaleye atf için: Sarman E. Metotreksat kaynaklı ovaryum hasarında *crataegus monogyna* etkisinin araştırılması. Ahi Evran Med J. 2025;9(2):135-141. DOI: 10.46332/aemj.1549364



GİRİŞ

Dihidrofolat redüktazı inhibe etmek için üretilmiş folik asit antagonistinden biri olan Metotreksat (MTX), ilk olarak 1940'lı yıllarda malignitelerin tedavisinde kullanılmıştır.¹ MTX, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından temel bir ilaç olarak kabul edilmiştir² ve günümüzde romatoid artrit, sedef hastalığı ve diğer bağ dokusu hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır.^{1,3}

Kadınlarda endokrin dengesinin bozulması ve infertilite gibi nedenler kanser tedavisinin uzun vadeli morbiditelerini azaltma ihtiyacını doğurmuştur.⁴ Doğurganlığın korunması, kanser sonrası tedavide yaşam kalitesini iyileştirmek artık kanser bakımının önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir.⁵ Ovaryum; dişi gametlerin üretilmesi, östrojen ve progesteron salgılanması, doğumdan sonra üreme organlarının büyümesinin düzenlenmesi, sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişmesi gibi önemli fonksiyonlara sahiptir.⁶ Ovaryum folikülü, ovaryumda gelişen bir oosit ve somatik hücrelerden oluşan temel fonksiyonel birimdir.⁷ Granüloza hücreleri (GC), oositin gelişmesi için gerekli besinleri ve olgunlaşmayı sağlayan faktörleri sağlayan oositi yakından çevreleyen somatik hücrelerdir.⁸ GC, oositleri kendi antioksidan sistemleri aracılığıyla olgunlaşma sırasında oksidatif stres hasarından korurlar.⁹ Son zamanlarda çalışmalar, MTX uygulamasından kaynaklanan yan etkileri azaltmak için antioksidan materyallerin kullanım ve etkinliği üzerinde yoğunlaşmıştır.¹⁰ Bu nedenle biz de çalışmamızda *Crataegus monogyna*'yı kullanmayı tercih ettik. *Crataegus monogyna*, Doğu Asya, Avrupa ve Doğu Kuzey Amerika'da yoğunlaşan kuzey ılıman bölgelere özgü yaklaşık 280 türe sahip bir Rosaceae (gül ailesi) cinsidir. *Crataegus* bitkisinin yaprakları ve çiçeklerinin tedavide kullanıldığı bildirilmiştir.¹¹

Crataegus'un çeşitli flavonoidler ve oligomerik prosiyanidinler içermektedir. Fenolik bileşikler açısından da zengin olan *Crataegus* bitkisinin yaprak, çiçek ve meyve ekstraktlarında rutin, apigenin, kuersetin, naringenin, mirisetin, kaempferol ve pirokatekol olduğu, bu özellikleriyle de oksidatif strese karşı koruyucu bir etkisinin olduğu bildirilmiştir¹² Yapılan çalışmalar *Crataegus*'un daha çok kalp dokusu üzerindeki etkisine yoğunlaşmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmada, *Crataegus*'un ratlarda bir aylık aşırı basınca bağlı kardiyak hipertrofidan sonra kardiyak yeniden

şekillenme ve sol ventriküler disfonksiyon üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sprague-Dawley ratları (erkek, 300 g) 4 hafta 130 mg/gün ile tedavi edilmiştir. Tedavi sonrasında, sol ventrikül yeniden modellemesini değiştirdiği ve aşırı basınca bağlı kardiyak hipertrofide miyokardiyal işlev bozukluğuna karşı koruduğu belirtilmiştir.¹³ Bu çalışmanın amacı MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı CM'nin etkisini araştırmaktır.

ARAÇLAR ve YÖNTEM

Etik Kurul İzni

Bu çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındı (13.03.2024 tarih ve 49533702/158 sayılı).

Deney Grupları ve Özellikleri

Ratlar 21-22 derece arasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda bakılmış ve ad libitum beslenme rejimi uygulanmıştır. G*Power 3.1.9.4 programı kullanılarak yapılan güç analizinde, %80 güven aralığı (1-Beta err prob) ve %5 hata payı (alfa err prob) ile gerçekleştirilen hesaplamalar sonucunda, beş gruplu ve toplam 30 rat içeren örneklem için kritik F değeri 2.758 ve etki büyüklüğü 0.69 olarak bulunmuştur. Etki büyüklüğü değerlendirmesi yapılırken, 0.1'in küçük, 0.25'in orta ve 0.4'ün büyük etki düzeyi olarak kabul edildiği referans alınmıştır. Buna göre 30 (otuz) adet dişi rat her grupta 6 (altı) rat olacak şekilde rasgele 5 (beş) gruba ayrılmıştır: 1.Grup (Kontrol Grubu): Deney süresi olan 14 gün boyunca ad libitum su ve yemle beslenen ratlardan oluşan kontrol grubu. 2.Grup (Sham Grubu): Deneyin 1.günü tek doz i.p. serum fizyolojik (SF) ve 14 gün gavajla distile su verilen ratlardan oluşan sham grubu. 3.Grup (MTX* Grubu): Deneyin 1.günü tek doz 20 mg/kg¹⁴ metotreksat (MTX, methotrexate flacon-50 mg, Kocak Farma) i.p. olarak uygulanan grup. 4.Grup (MTX+CM Grubu): Tek doz MTX uygulamadan 1 saat önce ve 14 gün boyunca gavajla 200 mg/kg¹⁵ *Crataegus monogyna* (CM) verilen ratlardan oluşan grup. 5.Grup (CM** Grubu): 14 gün boyunca gavajla 200 mg/kg CM verilen ratlardan oluşan grup.

Son ilaç uygulamasından 24 saat sonra deney hayvanları Ketamin (90 mg/kg) / Xylazin (8-10 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edilerek ovaryum dokuları alınmıştır. Dokular histopatolojik incelemeler için %10 nötral tamponlu formaldehit solüsyonu içine alınmıştır. 72 saat formaldehit içinde kaldıktan sonra bir gece akarsu altında yıkanmıştır. Rutin histolojik takip işlemlerinden geçirildikten sonra dokular parafin bloklara gömülmüştür. Parafin kesitlerden 5µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Ekstraktın Hazırlanması

CM taze meyveleri parçalara ayrılarak 24 saat boyunca oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulduktan sonra 24 saat boyunca 40°C'de sıcak hava fırınında bekletildi. Tamamen kurutulmuş meyveler toz haline getirildi. 10 gram kurutulmuş meyve tozu sırasıyla 100 ml su ile bir soxhlet cihazı kullanılarak çıkarıldı ve filtre kağıdından süzülerek -20°C'de saklandı.

Hematoksilen-Eozin (HE)

Hematoksilen-Eozin boyama için alınan kesitler 1 gece 60°C'lik etüvde bekletilip deparafinizasyon işlemi yapıldıktan sonra 15 dakika ksilole alınmıştır. Daha sonra sırasıyla 10'ar dakika %100- %96- %90-%80- %70 alkolden geçirilerek distile su ile yıkanmıştır. Harris Hematoksilen'de 2 dakika boyanmış ve 10 dakika akarsuda yıkanmıştır. %1 asit-alkol karışımına batırılıp tekrar 2 dakika akarsuda yıkanmıştır. 2 dakika Eozinde bekletilip %70, %80, %96, %100 alkolden geçirilerek 5 dakika ksilole alınmıştır. Son olarak entellan ile kapatılarak incelemeye hazır hale getirilmiştir. Dokular Eclipse E-600 Nikon, Japan fotomikroskopta ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Nikon, Japan) ile incelenerek değerlendirilmiş ve fotoğraflanmıştır. Değişikliğin derecesine ve yaygınlığına bağlı olarak semi-kantitatif olarak skorlandı. Hazırlanan preparatlardaki alanlardan vasküler konjesyon ve hemoraji, foliküler hücre dejenerasyonu, atrofik foliküller, kolajenöz madde birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu 0'dan 3'e kadar derecelendirildi (0: 0-3 hücre/alan, 1: 4-7

hücre/alan, 2: 8-11 hücre/alan, 3: hücre/alan 12'den fazla).¹⁶

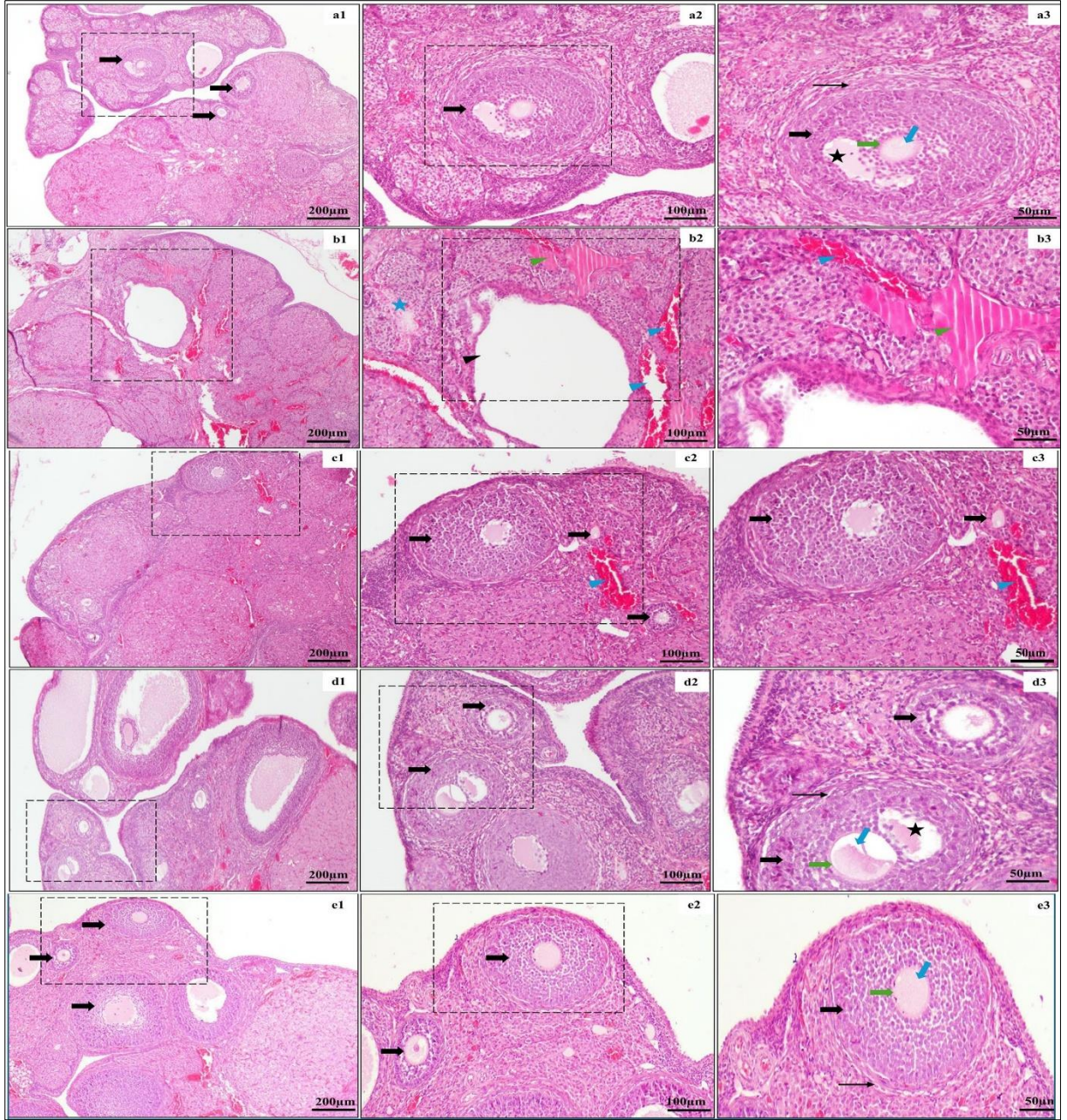
İstatistiksel Analiz

Histopatolojik sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Dağılımların normalliğini belirlemek için Shapiro-Wilk W testi ve Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler (vasküler konjesyon ve hemoraji, foliküler hücre dejenerasyonu, atrofik foliküller) için Tukey testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler (kolajenöz madde birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu) için Mann Whitney-U testi kullanıldı. Tüm veriler SPSS v. 24 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) istatistik programı kullanılarak analiz edildi ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı CM etkisinin araştırıldığı bu çalışmada vasküler konjesyon ve hemoraji, foliküler hücre dejenerasyonu, atrofik foliküller, kolajenöz madde birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik değişiklikler değerlendirildi.

Kontrol ve sham gruplarında normal bir ovaryum histolojisi görülmektedir. Farklı olgunlaşma evrelerindeki ovarian foliküller, sekonder folikül ve antral boşluk, sekonder folikül etrafında kesintisiz bir zona pellusida, teka interna, primer oosit normal görülmektedir. MTX grubunda ise vasküler konjesyon ve hemoraji, atrofik ovarian foliküller, kolajenöz madde birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu dikkat çeken bulgulardır. MTX uygulamasından sonra 14 gün boyunca 200 mg/kg uyguladığımız CM grubunda ise ovaryum yapısının büyük ölçüde korunduğu görülmüştür. Farklı olgunlaşma evrelerindeki ovarian foliküller görülmekle birlikte konjesyon ve hemorajik alanların görüldüğü fakat bu alanların MTX grubuna göre daha az olduğu belirlenmiştir. CM grubunda da kontrole yakın bir görünüm vardır. Farklı olgunlaşma evrelerindeki ovarian foliküller, sekonder folikül ve antral boşluk, sekonder folikül etrafında kesintisiz bir zona pellusida, teka interna, primer oosit normal görünümündedir.

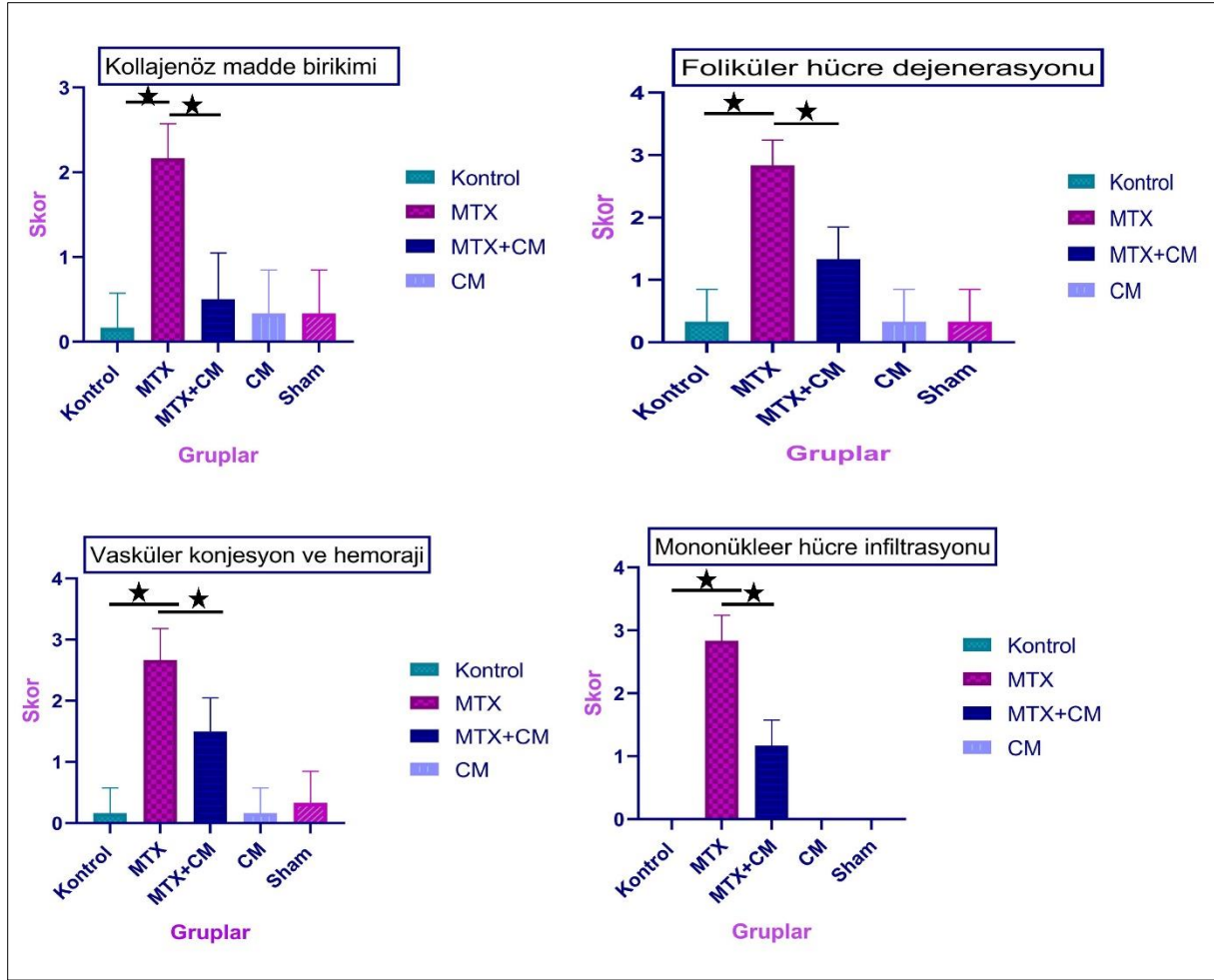


Şekil 1. Hematoksilen Eozin (HE) boyama sonuçları.

Kontrol ve Sham: Ovarian foliküller (siyah ok), sekonder folikül (siyah ok) ve antral boşluk (siyah yıldız), sekonder folikül etrafında kesintisiz bir zona pellusida (yeşil ok), teka interna (ince siyah ok), primer oosit (mavi ok) (a1, a2, a3, e1, e2, e3). MTX grubu: Vasküler konjesyon ve hemoraji (mavi ok başı), atrofik ovarian foliküller (siyah ok başı), kolajenöz madde birikimi (yeşil ok başı), mononükleer hücre infiltrasyonu (mavi yıldız) (b1, b2, b3). MTX+CM: Ovarian foliküller (siyah ok), konjesyon ve

hemorajik alanlar (mavi ok başı) (c1, c2, c3). CM: Ovarian foliküller (siyah ok), sekonder folikül (siyah ok) ve antral boşluk (siyah yıldız), zona pellusida (yeşil ok), teka interna (ince siyah ok), primer oosit (mavi ok) (d1, d2, d3).

Kontrol grubu (a1, a2, a3), MTX grubu (b1, b2, b3), MTX+CM grubu (c1, c2, c3), CM grubu (d1, d2, d3), Sham grubu (e1, e2, e3). a1, b1, c1, d1, e1 (x10; scale bar, 200 µm); a2, b2, c2, d2, e2 (x20; scale bar, 100 µm), a3, b3, c3, d3, e3 (x40; scale bar, 50 µm).



Şekil 2. Ovaryum hasarının histolojik skor tablosu. Metotreksat (MTX), *Crataegus monogyna* (CM). '★' p<0.001.

TARTIŞMA

Dünya çapında giderek daha fazla görülmeye başlayan ve en önde gelen ölüm nedenleri arasında sayılan kanserin tedavisinde çeşitli antikanser ajanları kullanımı gün geçtikçe artmaktadır.¹⁷ Bu durum, kemoterapi alan hastalarda fertilizasyonun korunmasının önemini bir kez daha göstermiştir. MTX'in DNA sentezi, onarımı ve hücre replikasyonu üzerindeki inhibitör etkisi nedeniyle sağlıklı doku ve hücreleri etkilediği, hem somatik hücrelerde hem de üreme hücrelerinde fonksiyonel bozukluklara neden olduğu çalışmalarda bildirilmiştir.¹⁸

MTX, otoimmün ve enflamatuvar hastalıkların tedavisinde, genellikle tek bir haftalık dozlar şeklinde ağızdan verilir. Terapötik dozun, klinik yanıtı veya intoleransa bağlı olarak haftada bir 10 mg dozunda, her 2-4 haftada bir 5 mg artışla, haftalık 20-30 mg maksimum doz şeklinde başlatılması önerilmektedir.¹⁹

MTX'in, oksidatif stres yoluyla kadın üreme sistemine ait organlarda toksik etkilere neden olduğu bildirilmiştir.²⁰ Farklı dozlarda uygulanan MTX'in ayrıca ovaryum dokusunda antioksidan düzeylerinde önemli bir azalma ve oksidatif stresi artırarak fonksiyonel ve yapısal bozukluklara neden olan ciddi toksik etkilere sahip olduğu bulunmuştur.^{21,22} Yüksek düzeyde reaktif oksijen türlerinin birikmesi, oksidatif strese önemli bir rol oynayan mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir.²³ Araştırmamızda MTX'in ovaryum dokusunda vasküler konjesyon ve hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonunu artırdığı görülmüştür. Bu sonuçlar MTX'in oksidatif stresi artırdığını doğrulamıştır. Çalışma sonuçlarımız yapılan başka bir çalışmayla benzer sonuçları vermiştir. Bu çalışmada sekonder folikülde dejenerasyon, kan damarlarında konjesyon ve dilatasyon, heomorajik alanlar görülmüştür.²⁴ MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı likopenin etkisinin değerlendirildiği çalışmada, MTX'in yüksek dozda kullanılmasının dişi ratlarda kısırlığa neden olduğu, gebelik süresini

uzattığı ve yavru sayısını azalttığı gösterilmiştir. Çalışmanın histopatolojik bulgularında ise foliküllerde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu, foliküler hücrelerde ödem, vasküler konjesyon görülmüştür.²⁵ Çalışmamızda foliküler hücre dejenerasyonu ve kollejenöz alanlar görülmüştür. Bu sonuçlar ilacın uzun süreli kullanımında foliküler hücrelere daha çok zarar vereceğini ve infertiliteye neden olabileceğini düşündürmüştür.

Yapılan çalışmalar, ilaçların neden olduğu toksisiteyi hafifletebileceği ve dokularda meydana gelecek anormalliklerin antioksidanların kullanımıyla giderilebileceğini göstermiştir.^{26,27} Yapılan bir çalışmada MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı resveratrolün koruyucu bir etki gösterdiği gösterilmiştir.²⁴ Bu amaçla biz de çalışmamızda CM'yi kullandık. CM, geleneksel tıpta kullanılan önemli bir bitkidir. Bitkinin fenolik bileşikler açısından zengin olduğu, anti-inflamatuvar, antikanser özelliklerinin yüksek olduğu bildirilmiştir.²⁸

Crataegus ekstraktının Sprague Dawley ratlarda kardiyak hemostaz ve oksidatif parametreler üzerine etkisinin değerlendirildiği başka bir çalışmada; erkek ratlarda rastgele dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmazken, deney grubu üç bölüme ayrılarak, 100, 200 ve 500 mg/kg dozlarında ekstrakt uygulanmıştır. Tüm dozlar günde bir kez oral olarak verilmiş ve tedaviye üç hafta devam edilmiştir. Tedavi edilen grupta kontrol grubuna kıyasla kardiyak antitrombin III'te anlamlı bir artış bulunmuştur. Öte yandan, alıç tedavisi karaciğer faktör-X seviyesini önemli ölçüde azaltırken, çözünür trombosit endotel hücre adezyon molekülü-1'de önemli bir değişiklik görülmemiştir. *Crataegus* 'un antioksidan etkiye ve kan sulandırıcı özelliklere sahip olduğu, bu nedenle, bu bitki özütünün diğer antikoagülasyon ve/veya antiplatelet ilaçlarla birlikte kullanırken dikkatli olunması önerilmiştir.¹⁵ Çalışmamızda kullandığımız CM'nin, MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı koruyucu etkisinin olabileceği, özellikle MTX+CM grubunda ovaryumdaki hasarın azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar CM'nin gonadotoksik etkiyi büyük ölçüde azalttığını göstermiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada MTX kaynaklı ovaryum hasarına karşı CM'nin koruyucu bir etki gösterdiği görülmüştür. MTX kaynaklı ovaryum hasarı ile ilgili çalışmalar yapılmış olsa da MTX kaynaklı ovaryum hasarında CM'nin

etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle araştırmamız ilk bulguları ortaya koyduğu için özgün bir değer taşımaktadır. Bunun yanı sıra farklı doz ve sürelerde uygulanacak CM'nin ovaryum hasarına karşı etkisine ve tedaviye yönelik farklı çalışmalar yapılabilir. İleride yapılacak çalışmalarda bu histopatolojik sonuçlar göz önünde bulundurularak araştırmaların planlanması önermekteyiz.

Çıkar Beyannamesi

Herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını yazarlar beyan etmektedirler.

Etik Kurul İzni

Bu çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındı (13.03.2024 tarih ve 49533702/158 sayılı).

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Ana fikir/Planlama: ES. Veri toplama/İşleme: ES. Veri analizi ve yorumlama: ES. Literatür taraması: ES. Yazım: ES. Gözden geçirme ve düzeltme: ES.

KAYNAKÇA

1. Bedoui Y, Guillot X, Sélambarom J, ve ark. Methotrexate an old drug with new tricks. *Int J Mol Sci*. 2019;20(20):5023.
2. WHO model lists of essential medicines. <https://www.who.int/publications/i/item/WHOM-VPEMPIAU2019.06>. Erişim tarihi 9 Eylül, 2024.
3. Chan E, Cronstein B. Methotrexate-how does it really work? *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(3):175-178.
4. Salih SM, Elsarrag SZ, Prange E, ve ark. Evidence to incorporate inclusive reproductive health measures in guidelines for childhood and adolescent cancer survivors. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2015;28(2):95-101.
5. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, ve ark. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(19):2500-2510.
6. Kierszenbaum AL. Follicle Development and Menstrual Cycle. In: Canale ST, ed. *Histology and Cell Biology - Introduction to Pathology*. Palme Publishing; 2006:565-575.
7. Edson M, Nagaraja A, Matzuk M. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev*. 2009;30(6):624-712.
8. Senthilkumaran B, Yoshikuni M, Nagahama Y. A shift in steroidogenesis occurring in ovarian follicles prior to oocyte maturation. *Mol Cell Endocrinol*. 2004;215(1-2):11-18.
9. Yang H, Xie Y, Yang D, Ren D. Oxidative stress-induced apoptosis in granulosa cells involves JNK, p53 and Puma. *Oncotarget*. 2017;8(15):25310-25322.

10. Gulgun M, Erdem O, Oztas E, ve ark. Proanthocyanidin prevents methotrexate-induced intestinal damage and oxidative stress. *Exp Toxicol Pathol.* 2010;62(2):109-115.
11. Rigelsky J, Sweet B. Hawthorn: pharmacology and therapeutic uses. *Am J Heal Syst Pharm.* 2002;59(5):417-422.
12. Keser S, Celik S, Turkoglu S, Yilmaz Ö, Turkoglu I. The investigation of some bioactive compounds and antioxidant properties of hawthorn (*Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* Jacq). *J Intercult Ethnopharmacol.* 2014;3(2):51-55.
13. Hwang H, Bleske B, Ghannam M, et al. Effects of hawthorn on cardiac remodeling and left ventricular dysfunction after 1 month of pressure overload-induced cardiac hypertrophy in rats. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2008;22(1):19-28.
14. Hortu I, Ozceltik G, Ergenoglu A, Yigitturk G, Atasoy O, Erbas O. Protective effect of oxytocin on a methotrexate-induced ovarian toxicity model. *Arch Gynecol Obs.* 2020;301(5):1317-1324.
15. Rababa'h A, Al Yacoub O, El-Elmat T, ve ark. The effect of hawthorn flower and leaf extract (*Crataegus* Spp.) on cardiac hemostasis and oxidative parameters in Sprague Dawley rats. *Heliyon.* 2020;6(8):04617.
16. Soyman Z, Uzun H, Bayindir N. Can ebselen prevent cisplatin-induced ovarian damage? *Arch Gynecol Obs.* 2018;297:1549-1555.
17. Osman AMM, Bayoumi HM, Al-Harthi SE, Damanhoury ZA, ElShal MF. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.* 2012;12(1):47.
18. Bath R, Brar N, Forouhar F, Wu G. A review of methotrexate-associated hepatotoxicity. *J Dig Dis.* 2014;15(10):517-524.
19. Inoue K, Yuasa H. Molecular basis for pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in rheumatoid arthritis therapy. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2014;29(1):12-19.
20. Kiremitli T, Kiremitli S, Akselim B, ve ark. Protective effect of Coenzyme Q10 on oxidative ovarian and uterine damage induced by methotrexate in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2021;40(9):1537-1544.
21. Shamberger R, Sherins R, Ziegler J. Effects of postoperative adjuvant chemotherapy and radiotherapy on ovarian function in women undergoing treatment for soft tissue sarcoma. *J Natl Cancer Inst.* 1981;67(6):1213-1218.
22. Uz E, Öktem F, Yılmaz H. The activities of purine-catabolizing enzymes and the level of nitric oxide in rat kidneys subjected to methotrexate: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Mol Cell Biochem.* 2005;277(1-2):165-170.
23. Özcan P, Fıçıcıoğlu C, Kizilkale O. Can Coenzyme Q10 supplementation protect the ovarian reserve against oxidative damage? *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(9):1223-1230.
24. Ata N, Kulhan N, Kulhan M, ve ark. The effect of resveratrol on oxidative ovary-damage induced by methotrexate in rats (Resveratrol oxidative ovary-damage). *Gen Physiol Biophys.* 2019;38(6):519-524.
25. Turkler C, Onat T, Yildirim E, ve ark. An experimental study on the use of lycopene to prevent infertility due to acute oxidative ovarian damage caused by a single high dose of methotrexate. *Adv Clin Exp Med.* 2020;29(1):5-11.
26. Famurewa A, Folawiyo A, Enohnyaket E. Beneficial role of virgin coconut oil supplementation against acute methotrexate chemotherapy-induced oxidative toxicity and inflammation in rats. *Integr Med Res.* 2018;7(3):257-263.
27. Kang L, Yu J, Hyun Y, ve ark. Therapeutic potential of coenzyme Q10 in mitochondrial dysfunction during tacrolimus-induced beta cell injury. *Sci Rep.* 2019;34(1):103-797.
28. Ez-Zahra Amrati, F Mssillou I, Boukhira S, ve ark. Phenolic composition of *Crataegus monogyna* Jacq. extract and its anti-inflammatory, hepatoprotective, and antileukemia effects. *Pharm.* 2024;17(6):786.