T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÖSTROJEN-PROGESTERON KOMPLEKSİ İLE UYARILMIŞ OVARYUMDA VİTAMİN D VE ULİPRİSTAL ASETAT ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. DAMLA GÜL FINDIK

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. GÜLNUR TAKE KAPLANOĞLU

ANKARA
AĞUSTOS 2021

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÖSTROJEN-PROGESTERON KOMPLEKSİ İLE UYARILMIŞ OVARYUMDA VİTAMİN D VE ULİPRİSTAL ASETAT ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. DAMLA GÜL FINDIK

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. GÜLNUR TAKE KAPLANOĞLU

ANKARA
AĞUSTOS 2021

KABUL VE ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	DAMLA GÜL FINDIK
Baba Adı	İSMAİL
Doğum Yeri/Tarihi	15.11.1993 ALTINDAĞ
Diploma Tarihi / Diploma No	04/08/2017 2017-09-0243
Mezun Olduğu Fakülte	ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
İhtisas Süresi	**Yıl: 3,5** **Ay:42**
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: ÖSTROJEN-PROGESTERON KOMPLEKSİ İLE UYARILMIŞ OVARYUMDA VİTAMİN D VE ULİPRİSTAL ASETAT ETKİSİ

JÜRİ KARARI: Tez uygun görülmüştür

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN
PROF.DR.ÇİĞDEM ELMAS
(GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ)

ÜYE
PROF.DR.GÜLNUR TAKE KAPLANOĞLU
(DANIŞMAN)

ÜYE
DOÇ.DR.ESRA ERDOĞAN
(SBÜ TIP FAKÜLTESİ)

TEŞEKKÜRLER

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Çiğdem ELMAS'a, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU'na asistanlığım boyunca hoşgörüsü, bilgisi ve desteği ile her zaman yanımda oldukları için,

Anabilim dalımızda görev yapan saygı değer hocalarım Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na ve Dr. Öğr. Üyesi Zeynep YIĞMAN'a,

Tez çalışmam süresince benden yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Gökçe Nur ARIK'a, doktora öğrencisi Nagwa B. Abubaker ALEMARI'ye, Arş. Gör. Asiye Aslı EMNİYET SERT'e ve diğer araştırma görevlisi arkadaşlarıma yürekten teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
°C	Santigrat
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
IU	İnternasyonel ünite
mg	Miligram
mg/kg	Miligram / kilogram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
rpm	Bir dakikadaki dönüş
µm	Mikrometre
Kısaltmalar	**Açıklamalar**
ALK6	Anaplastik lenfoma kinaz 6
AMH	Anti-Müllerian Hormon
BMP	Kemik morfogenetik proteini
BMPRII	BMP reseptörü II
cAMP	Siklik adenozin 3′,5′-monofosfat
CX43	Konneksin 43
DES	Dietilstilbestrol
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ER	Östrojen reseptörü
ERK	Ekstrasellüler ilişkili kinaz
FOXO	Forkhead box
FSH	Follikül stimülan hormon

GDF9	Büyüme ve diferansiyasyon faktörü 9
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
HAS2	Hyaluronan sentaz 2
hCG	İnsan koryonik gonadotropin
IVF	İnvitro fertilizasyon
KITL	Kit ligandı
L2	Lumbal 2
LH	Lüteinizan hormon
LIF	Lösemi inhibitör faktör
MAPK	p38 mitojen tarafından aktive edilmiş protein kinaz
OMI	Oosit maturasyon inhibitörü
PGRMC1	PGR membran komponenti 1
PI3K	Fosfotidilinozitol 3-kinaz
PKA	Protein kinaz A
PMF	Primordiyal follikül
PR	Progesteron reseptörü
PTEN	Fosfotaz ve tensin homolog
PTX3	Pentraxin 3
Smad	İntrasellüler dekapentaplejik homoloğa karşı anneler
Src	Sarkoma ile ilişkili tirozin kinaz
StAR	Steroidojenik akut düzenleyici protein
TGF-β	Transforming Growth Factor-β
UF	Uterin fibroid
UPA	Ulipristal asetat
VitD3	1,25 dihidroksivitamin D3
VitD3R	Vitamin D reseptörü
ZP	Zona pellusida

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY i
TEŞEKKÜRLER ii
SİMGELER VE KISALTMALAR iii
İÇİNDEKİLER v
RESİMLER DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
1.GİRİŞ 1
2.GENEL BİLGİLER 3
2.1. Ovaryum Gelişimi 3
2.2. Ovaryum Anatomisi 4
2.3. Ovaryum Histolojisi 5
2.4. Ovaryum Follikülleri ve Follikülogenez 5
2.4.1. Primordiyal Follikül 6
2.4.2. Primer Follikül 6
2.4.3. Sekonder follikül (Antral follikül) 8
2.4.4. Graff follikülü (Tersiyer follikül) 8
2.4.5. Atretik Follikül 9
2.5. Ovulasyon 9
2.6. Korpus Luteum 10
2.7. Follikülogenez Fizyolojisi 11
2.8. GDF-9 ve BMP-15 12
2.9. FOXO3a 15
2.10. AMH 15
2.11. Östrojen 16
2.12. Progesteron 16
2.13. Ulipristal Asetat 18
2.14. Vitamin D 20
3. GEREÇ VE YÖNTEM 22
3.1. Deney Hayvanları ve Uygulama 22
3.2. Deneyin Sonlandırılması 23

3.3. Histolojik Yöntem 24
3.3.1. Hematoksilen – eozin boyama 24
3.3.2. Folliküllerin sınıflandırılması ve sayımı 25
3.4. İstatiksel Yöntem 25
4. BULGULAR 26
4.1. Histolojik Bulgular 26
4.1.1. Hematoksilen – Eozin Bulguları 26
4.1.2. Follikül Sayımı Bulguları 34
5. TARTIŞMA 35
6. SONUÇLAR 41
KAYNAKLAR 43
ÖSTROJEN-PROGESTERON KOMPLEKSİ İLE UYARILMIŞ OVARYUMDA VİTAMİN D VE ULİPRİSTAL ASETAT ETKİSİ 53
ÖZET 53
EFFECT OF VITAMIN D AND ULIPRISTAL ACETATE IN THE OVARIUM STIMULATED BY ESTROGEN-PROGESTERONE COMPLEX 55
ABSTRACT 55
EKLER 57
EK-1. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı 57
EK-2. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Toplantı Katılım Listesi 58
ÖZGEÇMİŞ 59

RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1. Kontrol grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler……..26

Resim 4.2. VitD3 grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler……27

Resim 4.3. UPA grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler……..28

Resim 4.4. Yüksek östrojen – progesteron grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler……...30

Resim 4.5. VitD3 tedavi grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler……31

Resim 4.6. UPA tedavi grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler...32

Resim 4.7. VitD3 + UPA tedavi grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler……33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Gruplara ait follikül oranları ve korpus hemorajikum sayıları……..35

1.GİRİŞ

Follikülogenez, dişi üreme sisteminin en önemli organı olan ovaryumlarda gerçekleşmektedir ve fötal yaşam sırasında primordiyal germ hücrelerinin göçü ile başlar. Bu mekanizma çeşitli büyüme faktörleriyle sinyal moleküllerinin görev aldığı kompleks bir süreçtir. Folliküler gelişim mekanizmaları üzerine yapılacak olan araştırmalar, dişi reprodüktif yaşama ilişkin daha kapsamlı veri elde edilmesine ve reprodüktif yaşlanmaya karşı yeni terapötik yaklaşımların gelişmesine olanak sağlayacaktır. Yapılan çalışmalarda follikülogenezisin farklı aşamalarında görev alan çeşitli faktörler gösterilmiştir [1]. Primordiyal follikül (PMF) aktivasyonunu inhibe eden regülatörler Forkhead Box O3 (FOXO3a), Fosfotaz ve Tensin Homolog (PTEN), Anti-Müllerian Hormon (AMH) ve p27'dir [1-3]. Kit Ligandı (KITL) ve Lösemi İnhibitör Faktör (LIF), PMF'nin aktivasyonunu uyarır [4]. TGF-β (Transforming Growth Factor-β), Kemik morfogenetik proteini 4 (BMP4), BMP7, BMP15, Büyüme ve Diferansiyasyon Faktörü 9 (GDF9) ve aktivin preantral follikül gelişiminde görev alır [4]. AMH preantral follikül gelişiminde inhibitör etkilidir [5]. Ovaryumda sentezlenen otokrin ve parakrin etkili bu faktörlerden TGF-β granüloza ve teka hücrelerinden sentezlenir. BMP4 ve BMP7 teka hücrelerinden, BMP15 ve GDF9 ise oositten eksprese olurken, AMH ve aktivin granüloza hücrelerinden sentezlenir [1].

Ovaryumda ovulasyonun kontrolünde görev alan hormonlardan olan progesteron, korpus luteumdan sentezlenir. Progesteron reseptörü (PR) nükleer bir reseptör olup Graff follikülünün granüloza hücrelerinde eksprese olur.

Progesteron bağlayıcı başka bir protein olan PGR membran komponenti 1 (PGRMC1) gelişmekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinde sentezlenir. PGRMC1 progesterona bağlanarak granüloza hücrelerindeki antiapoptotik ve antimitotik etkisini kontrol eder. Progesteron konsantrasyonu follikül gelişimi ile koreledir. 2017 yılında yayınlanan bir çalışmada progesteronun ovulasyonu ve primer follikül gelişimini uyardığı gösterilmiştir. Yüksek progesteron konsantrasyonun ovulasyonu ve sekonder follikül gelişimini baskıladığı bildirilmiştir [6].

Ulipristal asetat (UPA) selektif progesteron reseptör modülatörüdür. UPA serum progesteron seviyesine, koaktivatör ve koinhibitör ekspresyonuna göre agonist veya antagonist olarak etki gösterir. Günümüzde uterin fibroid (UF)'lerin tedavisinde ve kontrasepsiyonda kullanılmaktadır [7]. UPA'nın follikülogenez üzerindeki etkisine dair sınırlı sayıda çalışma olup 2000 yılındaki bir çalışmada tek doz mid-folliküler UPA'nın follikülogenezisi inhibe ettiği gösterilmiştir [8].

Vitamin D3 (VitD3) Vitamin D reseptörü (VitD3R) üzerinden hücresel fonksiyonları regüle eder. VitD3R ovaryum dahil birçok organda eksprese olur. Daha önceki çalışmalarda vitamin D'nin folliküler gelişim dahil ovaryumların işlevlerinde önemli rol aldığı gösterilmiştir. VitD3 suplementasyonu preantral follikül sağ kalımını, antral follikül büyüme ve sağ kalımını arttırmıştır. Ayrıca VitD3 suplementasyonu antral dönemde östradiol ve AMH üretimine yol açmıştır [9]. VitD3'ün overde progesteron ve östradiol sentezini uyararak stereidogenezi de regüle ettiği gösterilmiştir [10].

Son yıllarda kullanımları gittikçe artan ve UF tedavisinde antifibroid etkileriyle birlikte kullanılan UPA ve VitD3'ün follikülogenezisteki etki mekanizmasının anlaşılması önem arz etmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, UPA ve VitD3'ün follikülogenez üzerindeki etkilerinin histokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Ovaryum Gelişimi

Ürogenital sistem ara mezodermden gelişir. Ara mezodermin dorsal vücut duvarı boyunca oluşturduğu ürogenital kabartının medialindeki kölom epiteli ve mezenşimin proliferasyonu ile gonadal kabartı ortaya çıkar[11, 12]. Genital sistemin gelişimi sırasında 7. haftaya kadar dişi ve erkek embriyodaki gonadlar morfolojik olarak aynıdır. Farklanmamış gonadal evre olarak adlandırılan bu dönemde, primordiyal germ hücreleri gonadal kabartıya göç eder [11]. Primordiyal germ hücreleri gelişimin 2. haftasında epiblasttan köken alır [13]. Epiblasttan primordiyal germ hücre gelişiminde kemik morfogenetik proteini 2 (BMP2), BMP4, BMP8b sinyal yolakları rol almaktadır[14]. Primitif çizgi boyunca göç eden primordiyal germ hücreleri 3. haftada vitellus kesesinin allantoise komşu duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşirler. 4. haftada son bağırsağın dorsal mezenteri boyunca göç ederek 5. haftada gonadlara ulaşırlar. Primordial germ hücrelerinin genital sırta ulaşmasıyla birlikte kölom epiteli mezoderm içine doğru prolifere olarak primitif seks kordonları olarak isimlendirilen, yüzey epiteli ile bağlantılı hücre kordonlarını oluşturur [13].

Farklanmamış gonadal evreden sonra XX cinsiyet kromozomuna sahip embriyolarda, primitif seks kordonları yerlerini vaskülarize stroma olan ovaryan medullaya bırakır. Bu embriyolarda follikül hücrelerine farklanacak olan sekonder seks kordonları oluşur [13]. Gonadal kabartıya göç etmiş olan primordiyal germ hücreleri artık oogonia olarak isimlendirilir. Oogonia, mayoza girmeden önce belirli sayıda mitotik döngüden geçer. Mayozun başlamasından önceki son mitoz dizisi, oogonia gruplarının bir sinsityumuna neden olur. Oogonia, hücre köprüleri ile birbirine bağlı olarak kolonize olurlar [12]. 3. ayda sekonder seks kordon kaynaklı hücre kümeleri çoğalır ve her bir oogonyumu folliküler hücre adı verilen epitel hücre tabakasıyla çevrelemeye başlar. Oogonia yassı epitel hücreleriyle çevrelenerek over rezervini temsil eden PMF'leri oluşturur [12, 15]. Oogonia 1. mayoz bölünmeye girer ve profazın diploten evresinde primer oosit olarak duraklar [15]. Primer oositlerin bu evrede beklemesi, folliküler hücreler tarafından salınan oosit maturasyon inhibitörü (OMI) ile sağlanmaktadır [13]. Ovaryumlar gestasyonun 20. haftasında yaklaşık 6-7 milyon germ hücresi bulundurur. 20 haftalık gebeliğin ardından, oogonial mitoz oranı kademeli olarak azalır ve gebeliğin 20. haftasında pik yapan oogonial atrezi ile 28 haftada sona erer. Artan atrezi oranı nedeniyle doğumda germ hücre sayısı 1 milyon iken, puberteye kadar 300.000 – 400.000'e düşmektedir. Bu folliküllerin yalnızca 300-400'ü menopoza kadar ovule olur [12].

2.2. Ovaryum Anatomisi

Ovaryum 3 cm uzunluğunda, 1,5 cm eninde ve 1 cm kalınlığında reprodüktif hormonları üretmekle sorumlu bir çift organdır [16]. Pelvisin lateral

duvarına yerleşmiştir. Ovaryum mezovaryum denilen periton katlantısı ile broad ligamentinin posterioruna bağlanır. Ovaryumun sinir ve damarlarını taşıyan suspensor ligament ovaryumun superior kutbunu pelvis duvarına bağlar. Ovaryumun inferior kutbu ise ovaryan ligament ile uterusun supralateral kısmına bağlanır. Ovaryumu aorta abdominalisin L2 (lumbal 2) dalı olan a. ovarica beslemektedir. Venöz boşaltımını ise vena ovaricayı oluşturan plexus pampiniformis sağlar. Sağ kısımdaki vena ovarica doğrudan vena cava inferiora, soldaki vena ovarica ise vena renalis sinistraya açılmaktadır. Ovaryumun lenf damarları nodi aortici laterales'e drene olur. Ovaryumu damarlarla birlikte seyreden over sinir pleksusu ve pelvik sinir pleksusu innerve etmektedir [17].

2.3. Ovaryum Histolojisi

Over dışta korteks, iç kısımda medulla yapısından oluşur. Korteks dıştan germinal epitel adı verilen, tek katlı kübikten tek katlı yassı epitele değişen bir epitel ile çevrilidir. Epitelin altında sıkı bağ doku yapısına sahip olan tunika albuginea bulunur. Folliküller over korteksinde bulunur ve gelişimlerini burada sürdürürler [16]. Medulla; organın merkezindeki yoğun vaskülarizasyona sahip gevşek bağ dokusudur. Medulla kan damarlarını, lenf damarlarını, fibroblastları, interstisyel hücreleri ve androjen salgılayan hilus hücrelerini içerir [16, 18].

2.4. Ovaryum Follikülleri ve Follikülogenez

Puberteden menopoza kadar her ay gelişmeye başlayan folliküllerden sadece biri dominant follikül olarak gelişimini tamamlayarak ovule olur. Diğer folliküller ise atretik follikül haline gelir [13]. Ovaryan follikül gelişimi intrauterin dönemde başlar ve ovaryumun korteksinde gerçekleşir [16]. Doğumda

tüm folliküller mayoz-I'in profaz evresinde duraklamış primer oosit içeren PMF'lerden oluşmaktadır [13]. Pubertede gonadotropinler tarafından follikül gelişiminin uyarılmasıyla PMF sırasıyla unilaminar primer follikül, multilaminar primer follikül, sekonder follikül ve graff follikülünü oluşturur [15]. Follikülogenez sürecine giren primer oositlerden dominant olanı mayoz bölünmeye devam eder ve ovulasyondan hemen önce mayoz-I'i tamamlayarak bir sekonder oosit ve perivitellin aralıkta yerleşim gösteren 1. polar cismi oluşturur. Sekonder oosit mayoz–II'nin metafaz evresinde iken, artan östrojene bağlı oluşan lüteinizan hormon (LH) piki ile ovulasyon gerçekleşir. Mayoz-II fertilizasyon olursa tamamlanır. Fertilizasyon olmaması durumunda 24 saat sonrasında dejenere olur [13].

2.4.1. Primordiyal Follikül

PMF'ler tunika albugineanın hemen altında yer alırlar. Tek katlı yassı follikül hücreleri, oosit ile birlikte fötal gelişimin 3.ayında PMF'leri oluşturur [16]. PMF'lerin erken gelişimi gonadotropin bağımsızdır [15]. Folliküldeki oositin çapı yaklaşık 25-30 µm çapındadır ve bir veya daha fazla nükleolusa sahiptir [16, 18]. Ooplazmada çok sayıda mitokondriyon, granüllü endoplazmik retikulum (GER), Golgi kompleksi ve RNA'dan oluşan Balbiani cisimciğinin yanısıra anüler lameller adı verilen nükleer zarf kesitleri gözlenir [16]. Folliküller stromadan bazal lamina ile ayrılmıştır [18].

2.4.2. Primer Follikül

Oosit çevresindeki follikül hücrelerinin katman sayısına göre unilaminar primer follikül ve multilaminar primer follikül olmak üzere iki grupta incelenir.

Primer oosit yaklaşık 100-150 µm çapındadır [16]. Follikül hücrelerinde follikül stimülan hormon (FSH) reseptörleri bulunur [15].

Unilaminar Primer Follikül:

Primodiyal primer transformasyonu sırasında yassı follikül epitel hücreleri tek katlı kübik hal alır. Oositin büyümesiyle birlikte follikül hücreleriyle oosit arasında zona pellusida (ZP) adı verilen glikoprotein bir kılıf oluşmaya başlar [16]. Bu kılıf ZP-1, ZP-2, ZP-3 ve ZP-4 denilen dört glikoproteinden oluşur [19]. Bunlardan ZP-3 sperm bağlayıcı bölgeye sahiptir ve akrozom reaksiyonu indükleyicisi olarak görev almaktadır. ZP2 ise sekonder spermatozoa bağlanma reseptörü olarak işlev görür [16]. ZP-1 fertilizasyon ve sperm bağlamada vazgeçilmez olmayan bir yapısal işleve sahiptir. Yapılan bir çalışmada ZP4'ün gelişmekte olan preimplantasyon embriyosunu korumak için gerekli yapısal özellikleri sağladığı gösterilmiştir [19]. ZP hizasında oosit ve follikül epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan mikroviluslar, oosit ile granüloza hücreleri arasındaki perivitellin aralığa uzanırlar. Oosit ile follikül epitel hücreleri arasındaki gap junctionlar oositin beslenmesini sağlamaktadırlar [15].

Multilaminar primer follikül:

Bu gelişim evresinde, unilaminar primer follikül hücreleri mitotik ekspansiyon ile çok katlı hale gelmiştir. Artık follikül epitel hücreleri çok katmanlı yapısı nedeniyle stratum granülozum olarak isimlendirilirken, folliküler hücreler de granüloza hücreleri olarak adlandırılırlar. Granüloza hücrelerinin arasında yoğun olarak gap junction türü bağlantı birimleri bulunur. Bu bağlantı

birimleri gerekli moleküllerin follikül sıvısına geçişini sağlar. Granüloza hücreleriyle birlikte stromal hücreler de organize olarak bazal membran dışında teka folliküli denilen bir kılıf oluştururlar [16].

2.4.3. Sekonder follikül (Antral follikül)

6-12 katmanlı stratum granülozumu ile 200 µm çaplı bir folliküldür [16, 18]. Granüloza hücreleri arasında Call-exner cisimciği adı verilen, bu hücreler tarafından üretilen PAS (+), proteoglikanlardan zengin madde birikimleri gözlenir [16]. Granüloza hücreleri arasında antrum adı verilen, hiyaluran bakımından zengin, glikozaminoglikan, proteoglikan, steroid bağlayıcı protein, progesteron, östradiol, inhibin, follistatin ve aktivin içeren folliküler sıvı birikmektedir. Follikülogenezin bu evresinde gelişimin ilerlemesiyle teka folliküli, teka interna olarak isimlendirilen bazal membrana komşu bir iç katman ile teka eksterna olarak isimlendirilen fibromüsküler yapıda bir dış katman olmak üzere ikiye ayrılır. Yüksek derecede vaskülarize olan teka interna tabakasındaki hücreler LH reseptörü bulundururlar. LH'a yanıt olarak bu teka interna hücreleri, granüloza hücrelerinde aromataz ile östradiole dönüştürülecek olan androstenedionu sentezlerler [16, 18].

2.4.4. Graff follikülü (Tersiyer follikül)

Bu evrede yaklaşık 18 mm ya da daha büyük çapa ulaşan follikül ovule olacaktır [16]. Follikül sıvısının formasyonu ile oositle stratum granülozum arasındaki hücre tabakası yığın şeklini alır ve kumulus ooforus olarak adlandırılır. Oositin çevresini saran hücre katmanı ise korona radiatayı oluşturur [15, 18].

Ovulasyondan önce over yüzeyinde stigma denilen avasküler follikül çıkıntısı gözlenir [16].

2.4.5. Atretik Follikül

Gelişimin herhangi bir aşamasındaki ovaryum follikülleri dominant follikül olmadıkları takdirde atreziye uğrar. Atretik follikülde ZP, dejenere oosit ve bazal laminadan ayrılmış dejenere follikül hücreleri görülür [15].

2.5. Ovulasyon

Sekonder oositin atıldığı süreç olan ovulasyon LH'ın pik yapmasından yaklaşık 12 saat sonra başlamaktadır. Meydana gelen hormonal ve enzimatik değişiklikler ovulasyondan sorumludur [16, 18]. LH reseptörü FSH reseptörü gibi G protein bağımlı bir reseptördür ve ikinci haberci olarak siklik adenozin 3′,5′-monofosfat (cAMP)'ı kullanır [20]. cAMP/ Protein kinaz A(PKA) yolağı üzerinden ovulasyon ve lüteinizasyon için gerekli çeşitli genlerin ekspresyonunu regüle eder [21]. LH stimülasyonunun granüloza hücrelerindeki progesteron reseptörünü aktive ettiği ve prostagladin sentaz 2 ile epidermal büyüme faktörü (EGF) benzeri faktörlerin ekspresyonunu uyardığı bilinmektedir. Bu faktörler granüloza hücrelerindeki değişikleri ve hyalüronandan zengin ekstrasellüler matriks formasyonunu tetikleyecektir [12]. LH reseptörünün PKA üzerinden cofilin aracılı aktin depolimerizasyonunu da aktive ettiği ve cofilinin preovulatuar granüloza hücrelerindeki progesteron sentezi için önemli olduğu gösterilmiştir [21]. LH piki ve salınan lokal mayoz indükleyici faktör ile primer oositin mayoz-I bölünmesi tamamlanır. Mayoz-I sonunda sekonder oosit ve 1. polar cisim oluşur. İkinci mayoz bölünme metafaz-II evresinde bloke edilir. Artan folliküler sıvı

basıncı, follikül duvarının yıkılmasına neden olan plazminojen aktivitesi, stratum granülozumda gevşemeye neden olan glikozaminoglikanlar ve teka eksternadaki düz kas liflerinin kasılmasına neden olan prostaglandinler ovulasyonda etkili faktörlerdir. Tüm bu faktörlerin etkisiyle sekonder oosit ve korona radiata hücreleri, bir miktar kumulus hücresi ile birlikte stigma adı verilen avaskülarize bölgeden atılır. Atılan oosit tuba uterina fimbrialarına tutunarak tuba uterinanın ampulla bölgesine alınır. Fertilizasyon olması durumunda sekonder oositten matur ovum ve ikinci polar cisim oluşmaktadır [16, 18].

2.6. Korpus Luteum

Oositin ovülasyonundan sonra geride kalan folliküle ait granülosa ve teka hücreleri korpus luteumu oluşturur. Ovulasyon nedeniyle teka internadaki bütünlüğü bozulan damarlarda bir miktar kanama meydana gelir. Bu yapıya korpus hemorojikum denir. Bu sürecin devamında luteinizasyon adı verilen bir olayla granüloza ve teka interna hücreleri farklılaşarak, yaklaşık 30 µm çapında olan luteal granüloza hücreleri ve 15 µm çapında olan luteal teka hücrelerine dönüşür. Luteinizasyon hücreleri lüteinizan hormona duyarlı hücrelere dönüştürmektedir. Bu hücrelerin sitoplazmasında bulunan lipokrom denilen sarı renkli bir pigment nedeniyle oluşan yapıya sarı cisim anlamındaki korpus luteum denir [16]. Progesteron ve östrojen salgılamakla görevli olan korpus luteumun devamlılığı LH bağımlıdır [18]. Gebelik oluşmadığı taktirde korpus luteum 14 gün aktif kalır ve sonrasında dejenere olarak korpus albikans denilen fibrotik yapıya dönüşür [16, 18]. Korpus luteum gebelik olması durumunda plasentadan

salgılanan insan koryonik gonadotropin (hCG) ile 3 ay daha devamlılığını sürdürür [18].

2.7. Follikülogenez Fizyolojisi

Follikülogenez farklı aşamalarda çeşitli faktörlerin görev aldığı kompleks bir süreçtir. Erken folliküler gelişim aşamalarında over içinde farklı kompartmanlardan kaynaklanan (stroma, oosit, granüloza ve teka hücreleri) sinyallerin otokrin-parakrin etkileşimleri rol almaktadır. PMF FSH reseptörü bulundurmadığı için primer folliküle dönüşümü FSH bağımsızdır [12]. Follikülde antrum yapısının şekillenmesiyle birlikte follikül gelişiminde rol alan majör faktörler gonadotropinlerdir. FSH granüloza hücrelerinin sağ kalımı, proliferasyonu, östradiol üretimi ve LH reseptör ekspresyonu için gereklidir. Seçilen dominant follikül yüksek konsantasyonda LH reseptörü eksprese eder. Böylece preovulatuar LH pikine yanıt olarak mayozun devamı, kumulus ekspansiyonu, follikül rüptürü ve oosit-kumulus kompleksinin salınımı gerçekleşir [4].

Yapılan daha önceki çalışmalar PMF'nin preantral – antral follikül evresine geçişinin çeşitli ligandlar tarafından kontrol edildiğini göstermiştir [1]. Ovaryumda dormant halde bekleyen PMF'nin aktivasyonunu inhibe eden regülatörlerden bazıları Forkhead box O3 (FOXO3a), Fosfotaz ve tensin homolog (PTEN), Anti-Müllerian Hormon (AMH) ve p27'dir [1-3]. Bu inhibitör sinyallerin fonksiyon kaybında prematür primordiyal follikül aktivasyonu görülür. Kit ligandı (KITL) ve Lösemi inhibitör faktör (LIF) PMF'nin aktivasyonunu uyarır [4].

Yüksek oranda PMF aktivasyonu follikül rezervinin erken tükenmesine prematür ovaryan yetmezliğe yol açacaktır [1].

TGF-β (Transforming Growth Factor-β), BMP4, BMP7, BMP15, Büyüme ve diferansiyasyon faktörü 9 (GDF9) ve aktivin primer follikülden preantral follikül gelişiminde görev alan faktörlerdir [4]. AMH preantral follikül gelişiminde inhibitör etkilidir [5]. Overde sentezlenen otokrin ve parakrin etkili bu faktörlerden TGF-β granüloza ve teka hücrelerinden sentezlenir. BMP4 ve BMP7 teka hücrelerinden, BMP15 ve GDF9 ise oositten eksprese olur. AMH ve aktivin granüloza hücrelerinden sentezlenir [1].

FSH seleksiyon mekanizmasında ve dominant follikül gelişiminde önemli görev almaktadır. FSH reseptörü G protein bağımlı bir reseptördür ve ikinci haberci olarak cAMP'yi kullanır. FSH cAMP / PKA yolağı üzerinden granüloza hücrelerindeki dominant follikül gelişimi ile ilgili çeşitli gen aktivasyonlarını kontrol eder. FSH bu yolak dışında sarkoma ile ilişkili tirozin kinaz (Src)'ı, ekstrasellüler ilişkili kinaz 1/2 (ERK 1/2)'yi, p38 mitojen tarafından aktive edilmiş protein kinaz (MAPK)'ı ve Fosfotidilinozitol 3-kinaz (PI3K)'ı aktive eder [20].

2.8. GDF-9 ve BMP-15

Somatik hücrelerin ve oositin büyümesini, diferansiyasyonunu etkileyen otokrin,parakrin ve jukstakrin faktörler oosit ve granüloza hücreleri arasındaki iki yönlü iletişimi oluşturur. Follikülogenez boyunca bu iletişimin önemi önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu faktörlerden GDF9 ve BMP15 ovaryan

fonksiyonlarda rol alır ve oositten eksprese olur [1, 22]. GDF9 ve BMP15 TGF-β süperailesinin üyelerindendir. BMP15 granüloza hücre yüzeyindeki anaplastik lenfoma kinaz 6 (ALK6) ve BMP reseptörü II (BMPRII) kompleksine bağlanarak intrasellüler dekapentaplejik homoloğa karşı anneler (Smad) 1,5,8 yolağını aktive eder. GDF9 ise ALK5 ve BMPRII reseptörlerini aktive ederek Smad 2,3 yolağını tetikler [22]. Bu iki faktör de oositin gelişimsel yeterliliğini geliştirmenin yanısıra granüloza hücreleri üzerinde doğrudan etki gösterir. GDF9 ve BMP15 granüloza hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu, steroidogenez, apoptoz ve kümülüs ekspansiyonu üzerinde kritik etkilere sahiptir [23].

GDF9 negatif farelerin infertil olduğu ve follikülogenezin primer follikül aşamasında durakladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Over yapısının ise kontrol grubuna göre boyut olarak daha küçük olduğu saptanmıştır [22]. GDF9'un yapılan çalışmalarda primordiyal follikül sayısında azalmaya ve primer follikül progresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. GDF9 preantral aşamada follikül stimülasyonunda efektif rol almaktadır [24]. BMP15 negatif farelerde subfertilite ve defektif ovulasyon süreci gösterilmiştir. Homozigot BMP15 mutasyonlu koyunlarda yapılan çalışmada primer follikülden sonraki folliküler gelişimin olmadığı ve sterilitenin geliştiği gösterilmiştir [22]. Yapılan deneysel bir çalışmada GDF9/BMP15 tür spesifik mRNA oranlarının ratlarda 3,7 iken koyunlarda 1,26 olduğu bulunmuştur [25]. BMP15 mutasyonlarının tür spesifik fenotipik farklılıklarının matür BMP15 formunun üretimindeki varyasyonlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir [22]. BMP15 monoovulatuar koyunlarda

poliovulatuar farelere göre folliküler gelişimin ilk basamaklarında daha önemli rol oynamaktadır [23].

GDF9 ve BMP15 pentraxin 3 (PTX3) ve hyaluronan sentaz 2 (HAS2) genlerinin upregülasyonu ile ovulasyon için gerekli kümülüs ekspansiyonunu ve hyaluronan sentezini sağlar. BMP15 BMP4 ve BMP7 ile konneksin 43 (CX43) ekspresyonunu süprese ederken, TGF-β indükleyerek intersellüler iletişimi regüle ederler. BMP15 ayrıca steroidojenik akut düzenleyici protein (StAR) üzerinden progesteron sentezini azaltarak folliküler lüteinizasyonu inhibe eder [23]. BMP15 granüloza hücrelerinde KITL ekspresyonunu stimüle eder. Artan KITL negatif feedback ile BMP15'i inhibe ederek BMP15'in FSH fonksiyonlarındaki inhibisyonunu azaltmaktadır. İnhibisyondaki bu azalma ile artan KITL efektif olarak granüloza hücre proliferasyonuna neden olmaktadır. BMP fonksiyonunun regülasyonu follistatin ile sağlanmaktadır. BMP15 FSHR ekspresyonunu inhibe ederken, follistatin regülasyonu granüloza hücrelerinin FSH'a reseptivitesinin devamının sağlanmasında önem taşımaktadır [24]. Oosit derive GDF9 ve BMP15'in granüloza hücrelerinde oosit için gerekli metabolik prekürsörleri sağlayacak olan glikoliz ve kolesterol sentez sürecinin regülasyonunda görev aldıkları da gösterilmiştir [23]. GDF9 folliküler sağ kalımı granüloza hücre apoptozunu ve folliküler atreziyi süprese ederek arttırmaktadır. Bu etkiyi GDF9'un FSHR ekspresyonu ile sağladığı düşünülmektedir. Preovulatuar folliküllerde GDF9 granüloza hücre prolifesyonunu uyarırken, FSH ile indüklenen steroidogenezi inhibe etmektedir. GDF9'un FSH fonksiyonlarındaki inhibisyonu postreseptör sinyal modifikasyonu ile sağlanmaktadır [24].

2.9. FOXO3a

Forkhead box O (FOXO) transkripsiyon faktör ailesi FOXO1, FOXO3a, FOXO4, and FOXO6 olmak üzere 4 üyeden oluşur [26]. FOXO ailesi hücre proliferasyonu, apoptoz, diferansiyasyon, metabolizma gibi çeşitli süreçlerde görev alır [27]. PI3K - Akt sinyal yolağının aktivasyonu bu faktörleri inhibe eder [26]. Oosit spesifik PTEN ablasyonu Akt hiperfosforilasyonu ile FOXO3a'nın nükleer exportuna ve primordiyal follikül aktivasyonuna yol açmıştır [27]. FOXO3a knockout farelerde folliküllerin tamamen tükenmesi nedeniyle infertilite gösterilmiştir [2]. Aktif FOXO3a anovulasyona yol açan yetersiz oosit ve folliküler gelişim ile infertiliteye neden olmaktadır. Aktif FOXO3a folliküllerdeki gap junction yapısı için önemli olan moleküllerden CX43 ve BMP15 ekspresyonunu azaltır [24].

2.10. AMH

AMH büyümekte olan ovaryan folliküllerin granüloza hücrelerinden sentezlenen dimerik bir glikoproteindir [1, 28]. TGF-β süperailesinin diğer üyeleri olan GDF9 ve BMP15 gibi ALK reseptörlerine bağlanarak Smad molekülleri üzerinden gen ekspresyonunu tetikler [29]. AMH ekspresyonu ilk olarak primer follikül aşamasında başlar ve midantral döneme kadar devam eder. Sekonder, preantral ve küçük antral folliküllerde AMH seviyesi pik yapar [30]. Folliküler gelişim basamaklarında rol alan AMH'nın primordiyal follikülden PMF transformasyonunda inhibitör etkili olduğu gösterilmiştir [3]. Aynı zamanda FSH ile indüklenen folliküler gelişimi inhibe ederek preantral follikül gelişimini regüle

eder [5]. AMH over rezervinin ve invitro fertilizasyon (IVF) sonuçlarının değerlendirilmesinde prediktif olarak kullanılmaktadır [1].

2.11. Östrojen

Overde önemli endokrin fonksiyonları olan östrojenin iki çeşit reseptörü bulunmaktadır. Bunlardan östrojen reseptörü α (ERα) teka hücrelerinde eksprese olurken ERβ granüloza hücrelerinde eksprese olmaktadır. Östrojen preantral ve erken antral dönemde folliküler sağ kalım ve büyüme faktörü olarak görev almaktadır. Sentetik bir östrojen olan DES'in ratlarda granüloza hücre proliferasyonunu ve follikül büyümesini uyardığı gösterilmiştir [31]. Teratojen ve karsinojen olarak bilinen dietilstilbestrol (DES), diğer çevresel östrojenlerin etkilerini incelemek için yararlı bir östrojenik kimyasal prototiptir [32, 33]. Yüksek östradiol, aromataz, PR ve ER konsantrasyonu görülen UF'lerde DES'e erken maruziyet östrojene karşı aşırı duyarlılığa ve UF risk artışına neden olmaktadır[34]. 2018 yılında ratlarda DES ve progesteron ile yapılan UF model çalışmasında over ağırlığının rat ağırlığına oranları karşılaştırılmıştır. Over katsayısı UF model grubunda kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Ayrıca UF model grubunda serum östrojen ve progesteron seviyelerinin, uterus ve overde ER ve PR'nin arttığı gösterilmiştir [35].

2.12. Progesteron

Overde ovulasyonun kontrolünde görev alan hormonlardan olan progesteron, follikül ve korpus luteumdan sentezlenir. Progesteron hamileliğin devamında ve ovulasyonun kontrolünde temel hormon olarak karşımıza çıkmaktadır. Progesteron reseptörü (PR) nükleer bir reseptör olup Graff

follikülünün granüloza hücrelerinde eksprese olur [6]. Sanchez ve ark. 2016 yılında yaptığı bir çalışmada, yaşları 20-40 arasında olan, 302 kadın, ovulatuar durumlarına göre iki gruba ayrılmış, serum progesteron düzeyleri ölçülmüş ve ultrason ile ovulasyon takibi yapılmıştır. Çalışmalar neticesinde, ovulasyon görüntüleriyle, progesteron düzeyleri arasında bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar, düşük serum progesteron seviyeleriyle düşük ovulasyon oranları arasında korelasyon olduğunu bulmuşlardır [36]. 2015 yılında Leiva ve ark. yaptığı bir çalışmada, 107 kadının 326 menstrual siklusu ve serum hormon seviyeleri değerlendirilmiştir. Çalışmada, serum progesteron düzeyleri 5 ng/ml ve daha fazla olan kadınlarda ovulasyonun olduğu belirlenmiştir ve araştırmacılar progesteron seviyesinin ovulasyonla ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır [37]. 2016 yılında maymun folliküllerinden elde edilen granuloza hücreleriyle yapılan bir çalışmada ise nükleer progesteron reseptörünün, progesteron aktivitesine aracılık ettiği ve dominant follikülün seçiminde, ilişkili olarak da ovulasyonda etkili olduğu sonucuna varmışlardır [38]. Farelerde yapılan bir çalışmada, PGR'nin inaktive edildiği deneklerde, ovulasyonun hasarlandığı ve infertilitenin meydana geldiği belirlenmiştir [39]. Progesteron bağlayıcı başka bir protein olan PGR membran komponenti 1 (PGRMC1) gelişmekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinde sentezlenir. PGRMC1 progesterona yüksek afinite ile bağlanarak granüloza hücrelerindeki antiapoptotik ve antimitotik etkisini kontrol eder. Serum progesteron düzeyindeki değişim üç evreden oluşmaktadır. Evre 1 ovulasyon öncesi, evre 2 ovulasyon sırasında, evre 3 gebeliktir. Progesteron düzeyi evre 2 boyunca artış gösterir ve evre 3'de en

yüksek düzeyine ulaşır. Progesteron, PGRMC1 reseptörü üzerinden granüloza hücrelerinde etki etmektedir ve konsantrasyonu follikül gelişimiyle korelasyon göstermektedir. 2017 yılındaki bir çalışmada progesteron düzeyindeki bu değişiklik taklit edildiğinde 10 ng/ml konsantrasyonda bir değişiklik saptanmazken, 100 ng/ml'de progesteronun ovulasyonu ve primer follikül gelişimini uyardığı gösterilmiştir. 1 µg/ml konsantrasyonda ise ovulasyonu ve sekonder follikül gelişimini baskılamıştır [6]. 2015 yılındaki bir çalışmada da düşük doz progesteronun follikül sağ kalımını arttırırken, yüksek dozda oosit dejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir [31].

2.13. Ulipristal Asetat

Ulipristal asetat (UPA) 19-norprogesteron derivesi olup selektif progesteron reseptör modülatörüdür ve farmakolojik etki mekanizması halen tam olarak anlaşılmış değildir. Yarı ömrü oral alımdan sonra 32 saattir. Plazma proteinlerine %97-99 bağlanmakta olup sitokrom P450 tarafından metabolize edilir. UPA serum progesteron seviyesine, koaktivatör ve koinhibitör ekspresyonuna göre agonist veya antagonist olarak etki gösterir. Molekülün glukokortikoidlere ve androjen reseptörlerine bağlanma aktivitesi antiprogestin aktivitesinden düşüktür. Antiglukokortikoid ve antiandrojen aktivitesi, antiprogestin aktivitesinden 50 kat daha fazladır [7]. Menstrual siklusta FSH ve LH hormonları ana rolü üstlenmiş durumdadırlar. Preovulatuar evrede östradiol seviyeleri artmakta ve bu durum hipotalamusu LH sekresyonunu artırması yönünde indüklemektedir. LH salınımı folliküler rüptür mekanizmasını aktive ederek pik yaptıktan 13-16 saat sonra ovulasyon meydana gelmektedir [8].

Selektif progesteron reseptör modülatörleri progesteron seviyesi düşük olduğunda agonist olarak davranırken, progesteron seviyesi arttığında antagonist olarak LH pikini ve ovulasyonu engeller. UPA'nın ovulasyonu inhibe etmesi için ovulasyondan hemen önce verilmesi esastır. UPA muhtemelen ovulasyon için kritik PR bağımlı genlerin ekspresyonunu baskılayarak ovulasyonu inhibe etmektedir. LH pik yaptığında progesteron feedback mekanizmasına ve UPA'ya duyarsız hale gelmektedir [7, 40]. Aynı zamanda erken luteal dönemde alınan UPA endometriyal kalınlıkta azalmaya, progesterona bağlı implantasyon markerlarındaki değişikliklerle beraber histolojik matürasyonda gecikmeye neden olmaktadır. Dolayısıyla trofoblasta daha az reseptif olan uterus ile implantasyonu engellemektedir [41]. Leiomiyoma olarak da bilinen UF'nin tedavisinde UPA antiproliferatif ve apoptotik etki göstermektedir [42]. UPA ve mifepriston gibi antiprogestin ilaçlar UF tümör boyutunda ve semptomlarda regresyon sağlamıştır [34]. UF'de hücresel fonksiyonlarda UPA'nın cofilin, Src ve ERK fosforilasyonunu, p27 ve ezrin protein seviyelerini azalttığı gösterilmiştir [43]. UPA'nın follikülogenez üzerindeki etkisine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. UPA'nın ovulasyonun blokajında farklı folliküler evrelerde farklı farmakodinamik etki gösterdiği bulunmuştur. Stratton ve ark. 2000 yılında yaptığı bir çalışmada, mid-folliküler fazda tek doz 10, 50 veya 100 mg UPA uygulanmasının 14-16 mm çapa ulaşmış folliküllerde folliküler rüptürün duraksadığını ve E2 sentezinin baskılandığını bulmuşlardır. Yüksek dozların ise follikül büyümesini durdurduğunu göstermişlerdir. Diğer taraftan çapı 18 mm veya daha büyük olan folliküllerde, folliküller rüptürün tedaviden sonra 5-6 gün

süresince başarısız olduğunu gözlemlemişlerdir. Tek dozunun follikülogenezisi inhibe ettiği gösterilmiş olsa da follikülogenezisteki bu mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir [8].

2.14. Vitamin D

Vitamin D3, UV ışık altında derideki 7-dehidrokolestrolden dönüştürülmektedir. Biyolojik olarak aktif olmayan bu vitamin D3 bağlayıcı protein ile karaciğere taşınır ve karaciğerde hidroksilasyonla 25-hidroksivitaminD3'e dönüştürülür. Son olarak da böbrekte 1,25dihidroksivitaminD3(VitD3)'e dönüştürülmektedir. Bu molekül VitD3 reseptörü (VitD3R) için liganddır. VitD3'ün reseptörü DNA'da vitamin response element bölgesi olarak bilinen VDREs'ye bağlanmaktadır. Bu bağlanma bölgeleri çok sayıda genin regülasyonunda görev almaktadırlar. Vitamin D'nin vücuda alımı yalnızca deri aracılığıyla olmamaktadır. Suplement olarak da oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca besinlerle diyet ile D vitamini alınabilmektedir [44]. VitD3 VitD3R üzerinden hücresel fonksiyonları regüle eder. VitD3R over dahil birçok organda eksprese olur. Daha önceki çalışmalarda vitamin D'nin folliküler gelişim dahil over fonksiyonlarında önemli rol aldığı gösterilmiştir. VitD3 suplementasyonu preantral follikül sağ kalımını, antral follikül büyüme ve sağ kalımını arttırmıştır. Ayrıca VitD3 suplementasyonu antral dönemde östradiol ve AMH üretimine yol açmıştır [9]. VitD3'ün overde progesteron ve östradiol sentezini uyararak stereidogenezi de regüle ettiği gösterilmiştir [10]. Dicken ve ark. 2012 yılında yaptığı bir çalışmada, VitD3 eksik beslenen ratlarda, folliküler gelişiminin duraksadığı, östroz döngünün uzadığı ve

gonadotropin stimülasyonundan sonra daha az oositin uyarıldığı belirlenmiştir [45]. 2018 yılında, Xu ve ark. ratlarda VitD3'ün follikülogenezis ve ovulasyondaki etkisini anlamaya yönelik yaptığı in vivo ve in vitro deneyler neticesinde, preantral ve antral follikülün VitD3R sentezlediği ve yokluğunda bu folliküllerde gelişimin duraksadığı belirlenmiştir [9]. Ovaryumlarda D vitaminin etkisi, endokrin ve parakrin aktivitesiyle ilişkilidir. VitD3R ovaryumlarda da temel rolü üstlenmiş D vitamini reseptörüdür. D vitamininin IVF tedavisi gören hastalarda fertilizasyon üzerine etkilerini çalışan gruplarda yapılan deneyler neticesinde folliküler sıvıdaki D vitamini seviyelerinin, doğum oranları ve gebe kalma ile pozitif ya da negatif bir etkisi bulunmamıştır [46]. Ancak, D vitamini suplementasyonunun insülin direnci ve obez olan kadınlarda pozitif etkilere neden olduğu gösterilmiştir [47]. Poliskitik over sendromu olan kadınlarda ise, D vitamininin folliküler büyümeyi desteklediği, dominant follikülün seçilmesi ve hamilelik oranlarını artırmasının yanında menstrual siklusun sürekliliğini sağladığı sonucuna varılmıştır [48, 49]. Çok merkezli yapılan bir başka çalışmada ise, 40 yaş üstü kadınlarda D vitamini eksikliğinin azalmış ovaryan rezervle ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır [50]. Ancak D vitamini ve follikülogenezisle ilişkili olan bu mekanizma, yeterli araştırma sayısına ulaşılamadığından halen anlaşılmış değildir. Önceki yıllarda yapılan deney hayvanları çalışmalarında, dişi fareler D vitamini eksik diyetle beslendiklerinde, östroz döngü sürelerinin uzadığı görülmüştür [45]. VDR null farelerde yapılan bir çalışmada ise, ovaryan yetmezlik ve hasarlanmış folliküler gelişim olduğunu gözlemlemişlerdir. VDR null farelerde aynı zamanda FSH ve LH serum hormon düzeylerinde artış olduğu

gözlemlenmiştir [51]. Bu veriler analiz edildiğinde görülmektedir ki D vitamini ovaryum fonksiyonları için temel ve önemli bir role sahiptir. Yapılan çalışmalarda VitD3'ün ER, PR, proliferasyonla ilişkili genlerin ve anti-apoptotik Bcl-2'nin ekspresyonlarını azaltarak leiomyom boyutunda küçülme sağladığı da gösterilmiştir. Aynı zamanda VitD3 leiomiyomada ekstrasellüler matrikste artan fibrozis ilişkili TGF-β'yı suprese eder [52, 53].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Uygulama

Çalışmada, 46 adet üreme çağında 180-240 gr ağırlığında dişi, gebe olmayan, Wistar albino rat kullanıldı. Denekler 22 ±2°C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık/karanlık döngüde, ad libitum içme suyu ve standart yem ile beslendi. Kontrol grubunda 6 adet, diğer her deney grubu için 7 adet rat deney gruplarına rastgele ayrılarak 7 grup oluşturuldu. Gruplar aşağıdaki gibi planlandı;

Grup 1: (n=6) Kontrol Grubu (K): Gavajla 0.02 ml / sıçan / gün serum fizyolojik haftada 3 gün 5 hafta boyunca uygulandı ve 3 hafta yalnızca serum fizyolojik gavaj yoluyla verildi.

Grup 2: (n=7) VitD3 Grubu (VitD3): 3 hafta boyunca VitD3, 1000 IU/kg/gün gavajla verildi [54].

Grup 3: (n = 7) UPA Grubu (UPA): 3 mg/kg/gün UPA [55], ilk günden itibaren 5 hafta boyunca gavaj yoluyla % 0.9'luk serum fizyolojik içinde verildi.

Grup 4: (n = 6) Yüksek östrojen- progesteron grubu (Ö+P): 5 hafta boyunca her iki güne bir 1,35 mg/kg/gün DES gavajla ve 1 mg/kg progesteron intramüsküler olarak uygulandı [35].

Grup 5: (n=6) VitD3 tedavi grubu (VitD3T); 5 hafta boyunca boyunca her iki güne bir 1,35 mg/kg/gün DES gavajla ve 1 mg/kg progesteron intramüsküler olarak uygulandıktan sonra, 3 hafta boyunca VitD3, 1000 IU/ Kg/gün gavajla verildi.

Grup 6: (**n=7**) **UPA tedavi grubu (UPAT):** 5 hafta boyunca her iki güne bir 1,35 mg/kg/gün DES gavajla ve 1 mg/kg progesteron intramüsküler olarak uygulandıktan sonra, 5 hafta boyunca 3 mg / kg / gün UPA gavaj yoluyla %0,9'luk serum fizyolojik içinde verildi.

Grup 7: (n=7) VitD3 + UPA tedavi grubu (VitD3T+UPAT): 5 hafta boyunca her iki güne bir 1,35 mg/kg/gün DES gavajla ve 1 mg/kg progesteron intramüsküler olarak uygulandıktan sonra, 3 hafta boyunca VitD3, 1000 IU/ Kg/gün ve 5 hafta boyunca 3 mg / kg / gün UPA gavajla verildi.

Tedavi sonrası komplikasyonlar veya advers olaylar için deneklerin ağırlık, yiyecek veya su alımındaki değişiklikler, hareketlilikteki zorluk gibi durumlar haftalık olarak takip edildi.

3.2. Deneyin Sonlandırılması

Deney süresi sonunda, hayvanlar derin anestezi altında intrakardiyak kan alınarak ötenazi edildi ve ovaryum dokuları alındı.

3.3. Histolojik Yöntem

3.3.1. Hematoksilen – eozin boyama

Deney bitiminde alınan ovaryum dokuları %10 nötral formalinde 48 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı [56]. Alınan kesitler etüvde 63 °C'de 2 saat deparafinize edildikten sonra 2 kez 15'er dk ksilolde tutuldu. Sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık, %80'lik ve %70'lik alkol serilerinden 10'ar dk geçirilerek rehidratasyonları sağlandı. 10 dk akar suda yıkandıktan ve alkol uzaklaştırıldıktan sonra Harris Hematoksilen solüsyonunda 10 dk tutuldu ve akar suya alındı. 10 dk akar suyun altında boyanın fazlası uzaklaştırıldı. Ardından %1'lik HCl solüsyonunda 1-2 dip yapıldıktan sonra kesitler tekrar akar suda yıkandı. Yıkama işleminden sonra 10 dk Eozin solüsyonunda bekletildi. Fazla boyayı uzaklaştırmak için 10 dk akar suda yıkandıktan sonra %50, %70, %80, %96, %100 artan alkol serilerinden geçirildi ve suyun uzaklaştırılması sağlandı. 45 dk ksilolde bekletildikten sonra entellan ile kapatıldı. Elde edilen preparatlar Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programı kullanılarak resimlendirildi. Bu yöntemle overin yapısal özelliklerinin ışık mikroskop düzeyinde gruplar arasında karşılaştırmalı olarak incelenmesi ve gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların belirlenmesi amaçlandı.

3.3.2. Folliküllerin sınıflandırılması ve sayımı

Follikül sayımı için her bir overden rastgele seçilen toplam 2 kesit seçildi [56, 57]. Folliküller primordiyal, preantral ve antral follikül olarak gelişim basamaklarının sınıflandırmalarına göre sayıldı [58].

A. Primordiyal follikül tek katlı yassı follikül hücreleri ile çevrili folliküldür [16].
B. Preantral follikül bir ya da daha fazla hücre katmanıyla çevrili ve görünür antrumu bulunmayan folliküldür [58].
C. Antral follikül açıkça görünen bir antrumu ve kümülüs granüloza hücre katmanı bulunmaktadır [58].
D. Atretik follikül dejenere oosit ve bazal laminadan ayrılmış dejenere follikül hücrelerinden oluşan bir yapıdır [15].
E. Korpus hemorajikum teka interna damarlarından follikül lümenine olan kanama ile merkezi pıhtısı olan bir oluşumdur [16].

3.4. İstatiksel Yöntem

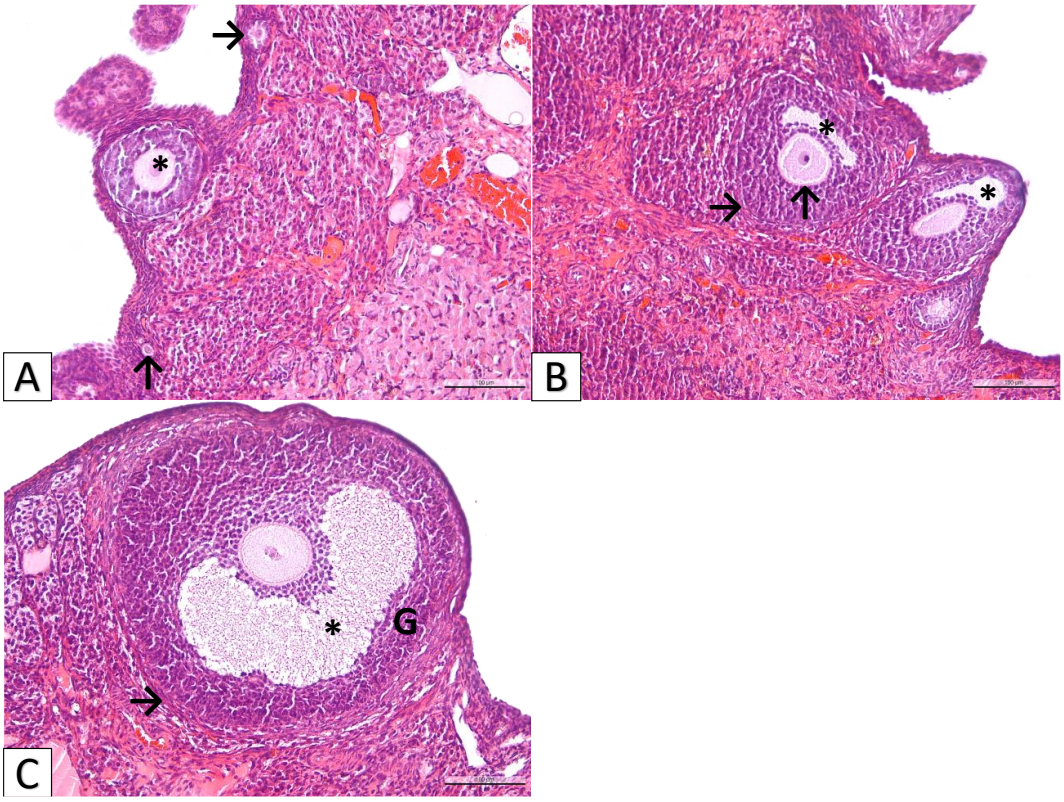
Nonparametrik gruplar arasında follikül sayım bulgularının istatistiksel analizi için Kruskal Wallis methodu kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri (p)'nin 0,05'ten küçük olması istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. Hematoksilen – Eozin Bulguları

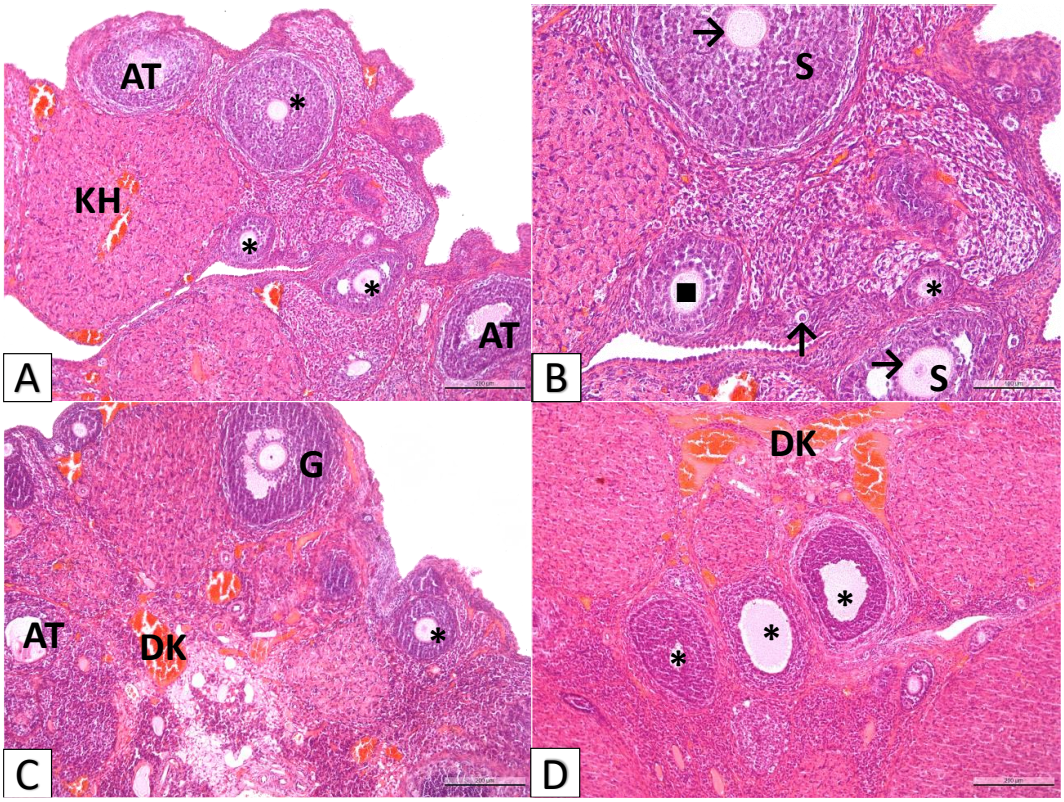
Kontrol grubunda yapılan histolojik incelemede tüm gelişim aşamalarındaki folliküller kortekste normal olarak izlendi. Medulla bol kan damarı ve bağ doku bileşenleri ile yine normal görünümdeydi (Resim 4.1.).



Resim 4.1. Kontrol grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Normal histolojik görünümde primordiyal follikül (↑), unilaminar primer follikül (→) ve multilaminar primer follikül (*) izleniyor (H&E, x200). **B)** Zona pellusida (↑), oluşmaya başlamış antrum (*), teka interna ve eksterna (→) yapıları ile normal histolojik görünüm sergileyen sekonder follikül (S) görülüyor (H&E,

x200). **C)** Granüloza hücre katmanı (G), antrum (*), teka interna ve eksterna (→) yapıları ile normal histolojik görünüm sergileyen Graff follikül izleniyor (H&E, x200).

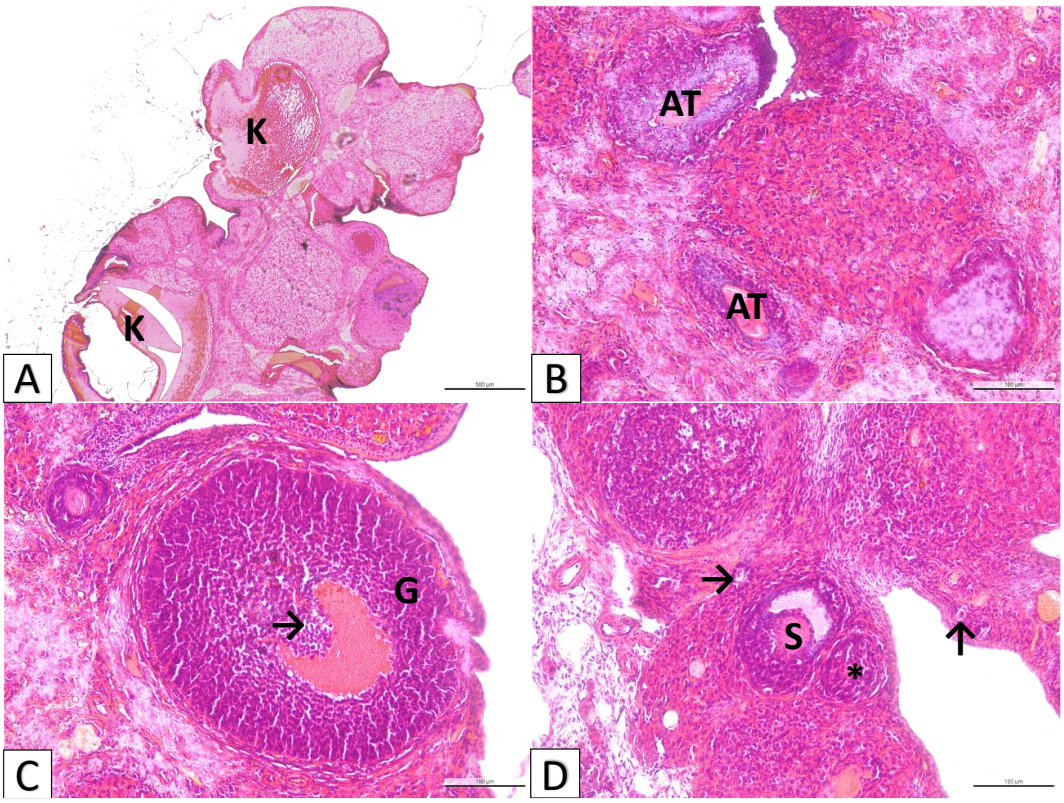
VitD3 uygulanan grupta preantral ve antral folliküllerin kortekste normal yapıda olduğu ve özellikle antral folliküllerin sayılarının göreceli olarak kontrol grubuna göre artmış olduğu belirlendi. Özellikle perifolliküler stromaya ait kapillerlerde dilatasyon ve konjesyon son derece belirgindi. Ayrıca korpus hemorajikum sayısının da artmış olduğu gözlemlendi. Bu da çok sayıda ovulasyonun indüklenmiş olabileceği kanısını doğurdu (Resim 4.2.).



Resim 4.2. VitD3 grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Kortekste çeşitli gelişim evresindeki folliküller (*), atretik folliküller (AT) ve

korpus hemorajikum (KH) yapısı izleniyor (H&E X100). **B)** Normal histolojik görünümde primordiyal follikül (↑), unilaminar primer follikül (*), multilaminar primer follikül (■), sekonder follikül (S) ve zona pellusidaları (→) görülüyor (H&E X200). **C)** Normal histolojik görünüm sergileyen Graff follikül (G), multilaminar primer folliküller (*), atretik follikül (AT) yapısı ve perifolliküler kapiller dilatasyon-konjesyon (DK) izleniyor (H&E X100). **D)** Kortekste çeşitli gelişim evresindeki folliküller (*) ve perifolliküler kapiller dilatasyon-konjesyon (DK) görülüyor (H&E X100).

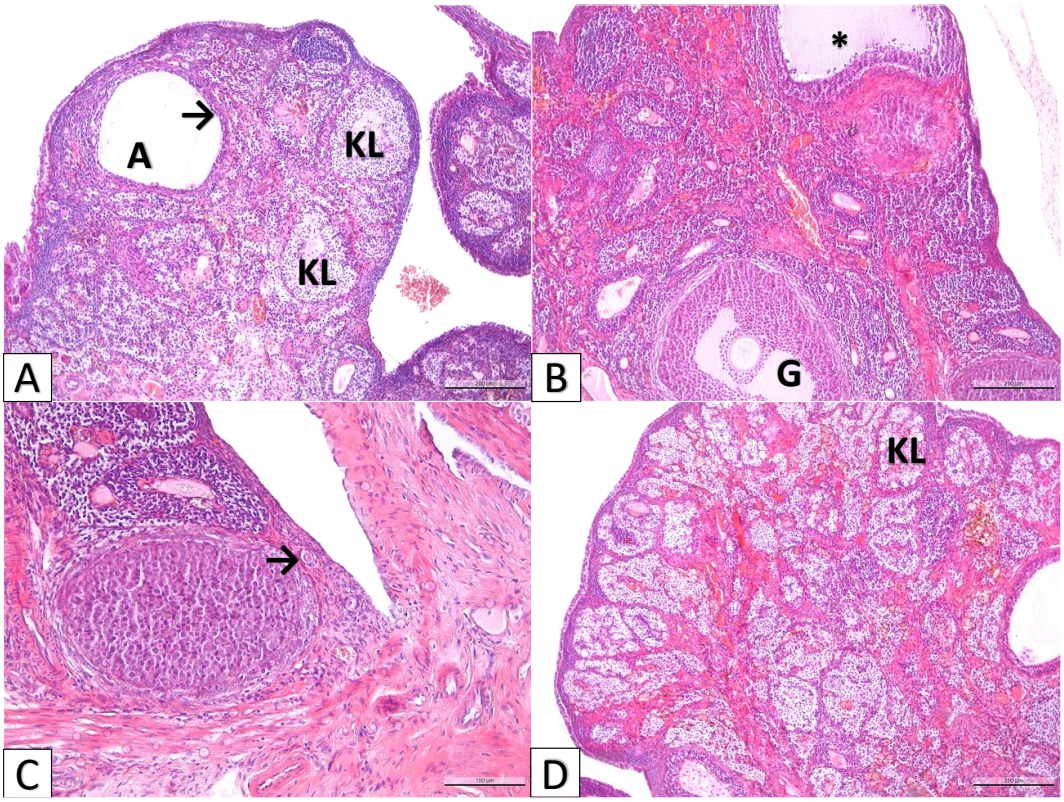
UPA grubunda çok fazla vasküler dilatasyon ve konjesyon artışı ile hemorajik kist yapıları izlendi. Normal aşamalarındaki folliküller atretik hale gelmiştir. Normal görünümde olan antral folliküllerde granüloza hücrelerinde intrasitoplazmik ödem gözlemlendi (Resim 4.3.).



Resim 4.3. UPA grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Hemorajik kist (K) yapıları izleniyor (H&E X40). **B)** Atretik follikül (AT) yapıları görülüyor (H-E X200). **C)** Graff follikülde (G) intrasitoplazmik ödem (→) izleniyor (H-E X200). **D)** Normal histolojik görünümde sekonder follikül (S), multilaminar primer follikül (*), unilaminar primer follikül (→) ve primordiyal follikül (↑) yapısı izleniyor (H-E X200).

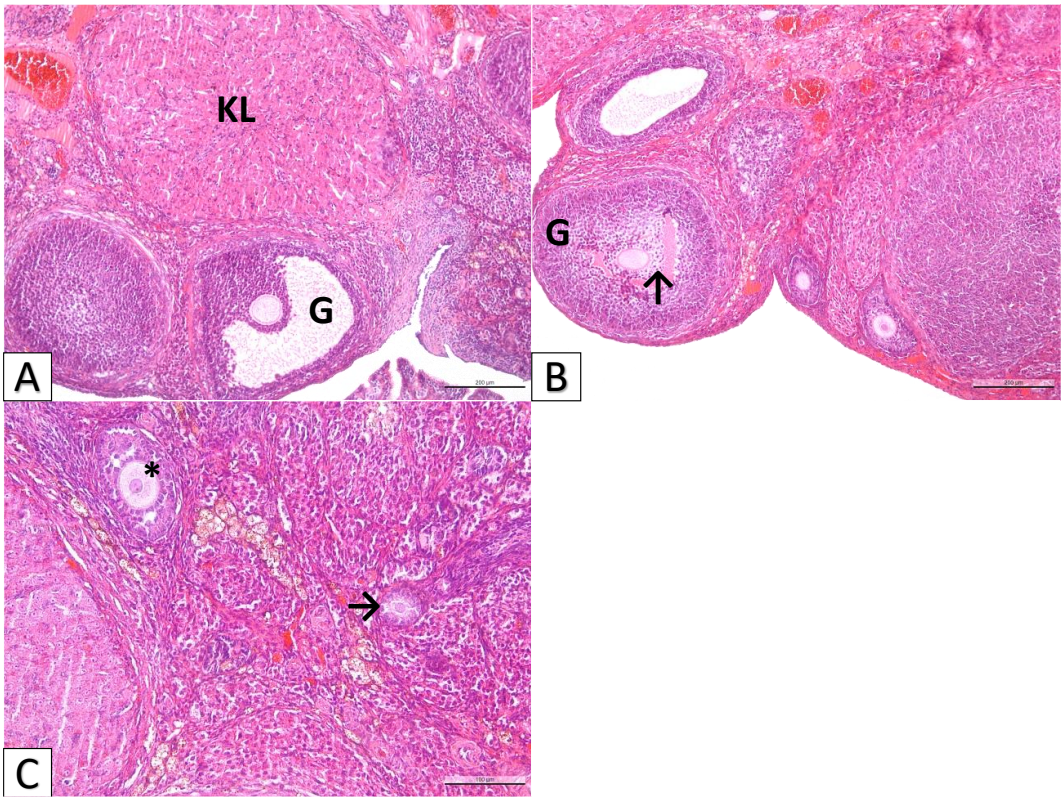
Yüksek östrojen – progesteron grubunda progesteronun negatif inhibisyonu ile henüz olgunlaşmadan korpus luteum dejenerasyonu gözlemlendi. Antral follikül granüloza hücre katmanı polikistik over sendromunundaki gibi göreceli ince olarak belirlendi. Antral follikülde yer yer dejenerasyon gözlemlendi. Dejenere folliküllerin yanında normal görünümde antral folliküller

de izlendi. Östrojen tarafından artan LH piki ve ovulasyona bağlı çok sayıda korpus luteum belirlendi. Bu grupta vasküler dilatasyon ve konjesyon bulguları gözlenmedi (Resim 4.4.).



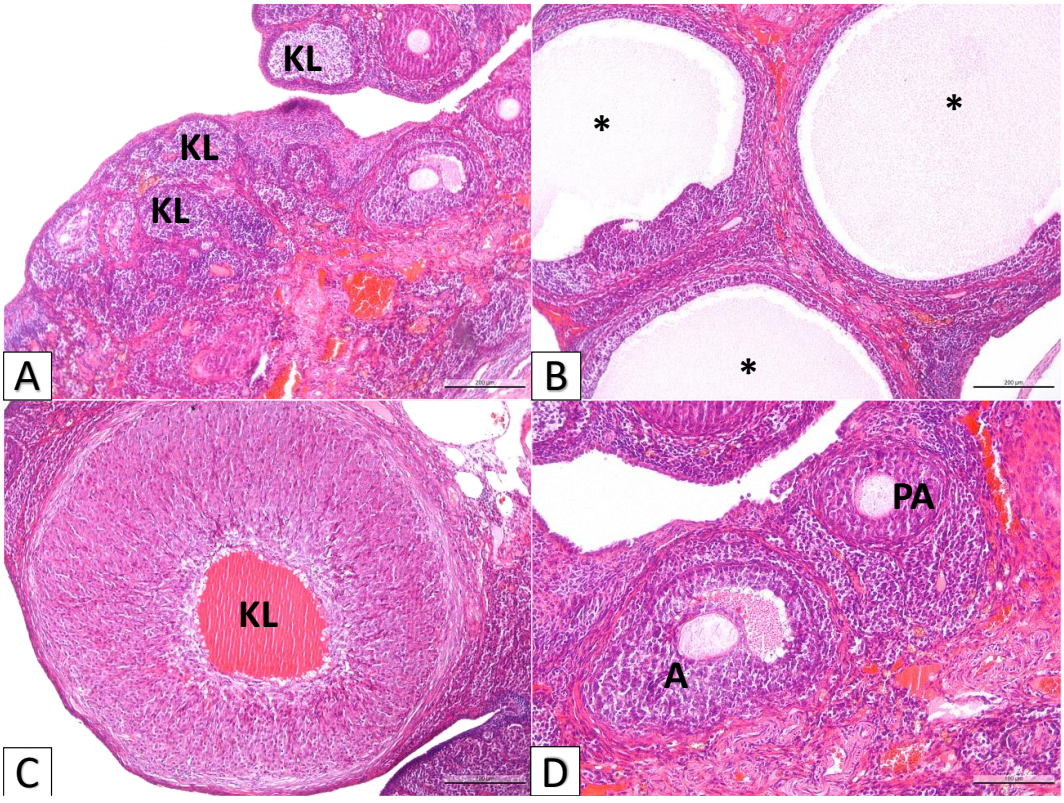
Resim 4.4. Yüksek östrojen – progesteron grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Antral follikülde (A) polikistik over sendromundaki gibi göreceli ince granüloza (→) yapısı ve dejenere korpus luteum (KL) yapıları izleniyor (H&E X100). **B)** Dejenere graff follikül (*) yanında normal histolojik görünümde graff follikül (G) görülüyor (H&E X100). **C)** Normal histolojik görünümde primordiyal follikül (→) yapısı izleniyor (H&E X200). **D)** Dejenere ve çok sayıda korpus luteum (KL) yapıları izleniyor (H&E X100).

VitD3 tedavi grubunda korpus luteum yapısı normal olarak izlendi. Normal gelişim aşamalarında folliküller gözlemlendi. Kontrol VitD3 grubundaki vasküler konjesyon ve dilatasyon bu grupta da devam etmektedir. Normal görünümde olan antral folliküllerin granüloza hücrelerinde intrasitoplazmik ödem gözlemlendi (Resim 4.5.).



Resim 4.5. VitD3 tedavi grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Normal histolojik görünümde korpus luteum (KL) ve Graff follikül (G) izleniyor (H&E X100). **B)** Graff follikülde (G) intrasitoplazmik ödem (↑) görülüyor (H&E X100). **C)** Normal histolojik görünümde unilaminar primer follikül (→) ve multilaminar primer follikül (*) yapısı izleniyor (H&E X200).

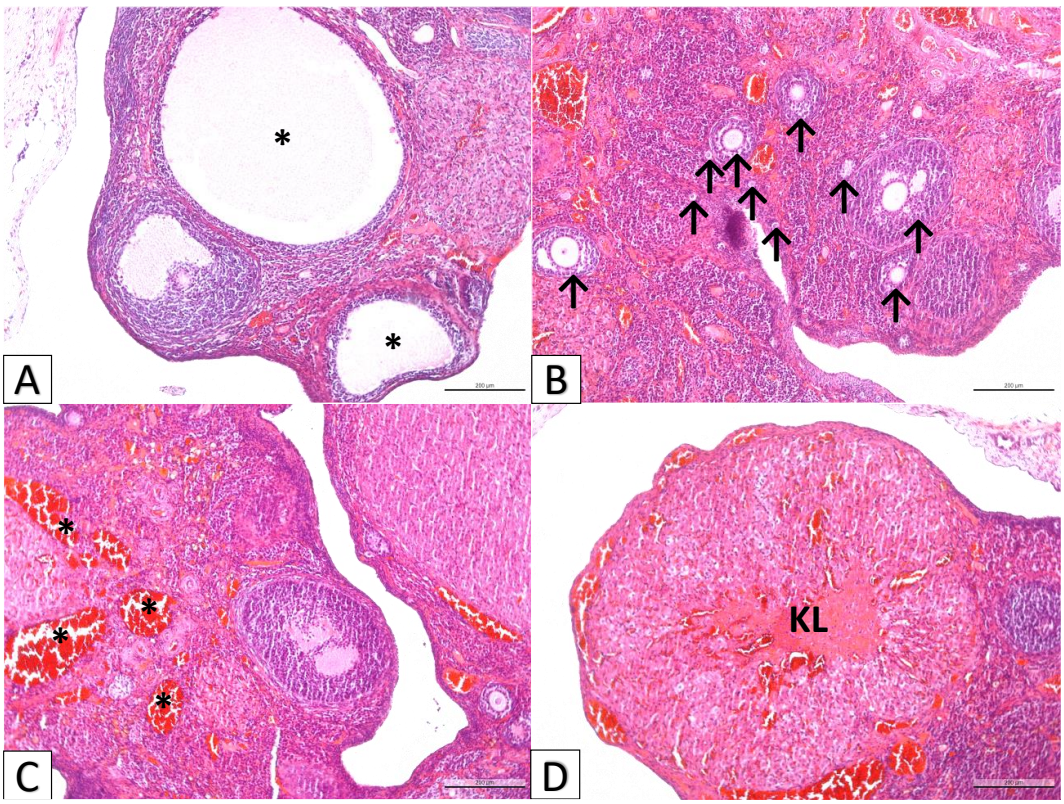
Yüksek östrojen – progesteron grubundaki histolojik görüntü UPA tedavi grubunda da benzer olarak değerlendirildi. Yüksek östrojen – progesteron grubunda izlenen duvarı incelmiş dev folliküller bu grupta da gözlemlendi. UPAnın progesteron negatif feedbackine engel olarak korpus luteumları büyütmüş olduğu gözlemlendi. UPA etkisine bağlı vasküler konjesyon ve dilatasyon izlendi. Normal antral ve preantral folliküllerin yanında atretik folliküller de belirgindi (Resim 4.6.).



Resim 4.6. UPA tedavi grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Korpus luteum (KL) yapıları izleniyor (H&E X100). **B)** Duvarı ince dev follikül (*) yapıları görülüyor (H&E X100). **C)** Büyümüş korpus luteum (KL)

yapısı izleniyor (H&E X100). **D)** Normal histolojik görünümde antral follikül (A) ve preantral follikül (PA) yapısı izleniyor (H&E X200).

VitD3 + UPA tedavi grubunda çok sayıda preantral ve antral follikül sayısı ile follikülogenez göreceli olarak artmış olarak belirlendi. VitD3 grubunda görülen özellikle perifolliküler alanda kapillerlerde yaygın dilatasyon izlendi. Dev follikül sayısı artmış ve atrezi göreceli olarak azalmış olarak gözlemlendi (Resim 4.7.).

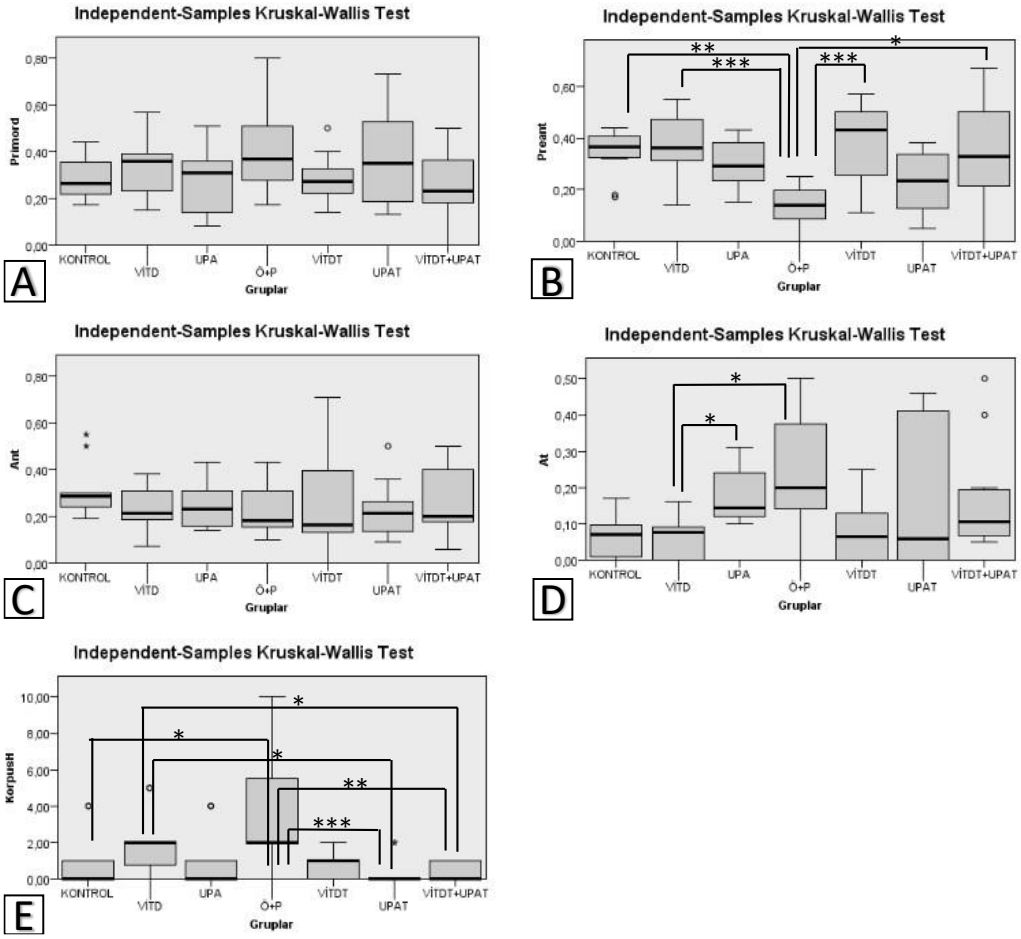


Resim 4.7. VitD3 + UPA tedavi grubuna ait hematoksilen&eozin ile boyanmış kesitler. **A)** Duvarı ince dev follikül (*) yapıları görülüyor (H-E X100). **B)** Normal histolojik görünümde follikül (↑) yapıları ile artmış follikülogenez

izleniyor (H-E X100). **C)** Perifolliküler dilatasyon (*) görülüyor (H-E X100). **D)** Korpus luteum (KL) yapısı izleniyor (H-E X100).

4.1.2. Follikül Sayımı Bulguları

Deney gruplarının follikül sayıları spesifik gelişim evrelerindeki total follikül sayısına oranlanmıştır [59]. Deney gruplarında, bu follikül oranı temel alınarak oluşturulan istatistiksel analizler için Kruskal-Wallis metodu kullanılmıştır. İstatiksel analiz neticesinde primordiyal follikül ve antral follikül sayısı için gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). VitD3, VitD3T ve VitD3T+UPAT gruplarında preantral follikül sayısı Ö+P grubuna göre artmıştır. Ö+P ve UPA gruplarında atretik follikül sayısı VitD3 grubuna göre artış göstermiştir. Kontrol grubuna kıyasla korpus hemorajikum sayısı Ö+P grubunda artmıştır. Korpus hemorajikum sayısı UPAT ve VitD3T+UPAT gruplarında Ö+P ve VitD gruplarına göre anlamlı bir azalma göstermiştir. Ö+P grubuna kıyasla UPAT grubundaki azalma diğerlerine göre daha fazladır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Gruplara ait follikül oranları ve korpus hemorajikum sayıları. **A)** Gruplara ait primordiyal follikül oranları. **B)** Gruplara ait preantral follikül oranları. **C)** Gruplara ait antral follikül oranları. **D)** Gruplara ait atretik follikül oranları. **E)** Gruplara ait korpus hemorajikum sayıları. Follikül oranı, spesifik gelişim aşamasındaki follikül sayılarının total follikül sayısına oranını ifade etmektedir. İstatiksel anlamlılık: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

5. TARTIŞMA

Oosit ve çevresindeki somatik hücrelerden oluşan follikül ovaryumun temel fonksiyonel ünitesidir. Çeşitli büyüme aşamalarından geçecek olan follikül

yapısının matür oosit salınımı için gelişip korpus luteuma dönüştüğü süreç follikülogenezis olarak adlandırılır [60]. Bu mekanizma çeşitli büyüme faktörleriyle sinyal moleküllerinin görev aldığı kompleks bir süreçtir. Folliküler gelişim mekanizmaları üzerine yapılacak olan araştırmalar, dişi reprodüktif yaşama ilişkin daha kapsamlı veri elde edilmesine ve reprodüktif yaşlanmaya karşı yeni terapötik yaklaşımların gelişmesine olanak sağlayacaktır [1]. Son yıllarda kullanımları gittikçe artan ve UF tedavisinde antifibroid etkileriyle birlikte kullanılan UPA ve VitD3'ün follikülogenezisteki etki mekanizmasının anlaşılması bu anlamda önem arz etmektedir. Çalışmamızda UPA ve VitD3'ün follikülogenez üzerindeki etkileri histolojik olarak incelenmiştir.

Ulipristal asetat (UPA) 19-norprogesteron derivesi olup selektif progesteron reseptör modülatörüdür ve farmakolojik etki mekanizması halen tam olarak anlaşılmış değildir [7]. Leiomiyoma olarak da bilinen UF'nin tedavisinde UPA antiproliferatif ve apoptotik etki göstermektedir [42] Literatürde UPA'nın follikülogenez üzerindeki etkisine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Stratton ve ark. 2000 yılında yaptığı bir çalışmada, mid-folliküler fazda tek doz 10, 50 veya 100 mg UPA uygulanmasının 14-16 mm çapa ulaşmış folliküllerde folliküler rüptürün duraksadığını ve E2 sentezinin baskılandığını bulmuşlardır. Yüksek dozların ise follikül büyümesini durdurduğunu göstermişlerdir. Diğer taraftan çapı 18 mm veya daha büyük olan folliküllerde, folliküller rupturun tedaviden sonra 5-6 gün süresince başarısız olduğunu gözlemlemişlerdir. Tek dozunun follikülogenezisi inhibe ettiği gösterilmiş olsa da follikülogenezisteki bu mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir [8].

Çalışmamızda UPA verilen grupta atretik follikül sayısında VitD3 grubuna kıyasla istatiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Korpus hemorajikum sayısı UPAT ve VitD3T+UPAT gruplarında Ö+P ve VitD gruplarına göre anlamlı bir azalma göstermiştir. Bu UPA'nın ovulasyonu inhibe etmesine bağlı bir azalma olarak düşünülmüştür.

Komatsu ve ark.nın 2017 yılında yaptığı bir çalışmada progesteronun 100 ng/ml'de ovulasyonu ve primer follikül gelişimini uyardığı gösterilmiştir. Progesteron PGR membran komponenti 1 (PGRMC1) üzerinden gelişmekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinde etki göstermektedir. PGRMC1 progesterona yüksek afinite ile bağlanarak granüloza hücrelerindeki antiapoptotik ve antimitotik etkisini kontrol eder [6]. Bu çalışma ile bağlantılı olarak bizim çalışmamızda da izlenen UPA'nın folliküllerdeki atretik etkisi progesteron bağlayıcı PGRMC1 reseptöründeki antagonizma sonucu olabilir kanısına varılmıştır.

Progesteron ve progestinlerin vasküler etkileri farklılık göstermektedir [61]. 2015 yılında Pang ve ark. insan umblikal ven endotel hücrelerinde yaptığı çalışmaya göre progesteron membran PRα üzerinden NO üretimini stimüle etmektedir. Nükleer PR agonistleri ve medroksiprogesteron asetat membran PR'ye düşük bağlanma affinitesi göstermiştir [62]. Ancak progesteronun ve sentetik progestinlerin östrojenle indüklenen NO sentezi üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir [63]. 2011 yılında Miner ve ark. reprodüktif dönemde oral progesteronun kısa dönemde akım ilişkili vazodilatasyona etkilerini

incelemişlerdir. Bu çalışmada oral progesteronun östrojenin vazodilatasyona olan etkisini antagonize ettiğini göstermişlerdir [64].

Çalışmamızda UPA, vasküler dilatasyon ve konjesyon artışına sebep olmuştur. Bu etki UPA'nın progesteronun östrojene bağlı vazodilatasyon üzerindeki inhibisyonunu ortadan kaldırması sonucu olabilir.

VitD3 VitD3R üzerinden hücresel fonksiyonları regüle eder. VitD3R ovaryum dahil birçok organda eksprese olur. 2012 yılında Halder ve ark. yaptığı çalışmada VitD3'ün ER, PR, proliferasyonla ilişkili genlerin ve anti-apoptotik Bcl-2'nin ekspresyonlarını azaltarak leiomyom boyutunda küçülme sağladığı gösterilmiştir [65]. Daha önceki çalışmalarda vitamin D'nin folliküler gelişim dahil ovaryum fonksiyonlarında önemli rol aldığı gösterilmiştir [9]. Dicken ve ark. 2012 yılında yaptığı bir çalışmada, VitD3 eksik beslenen ratlarda, folliküler gelişiminin duraksadığı, östroz döngünün uzadığı ve gonadotropin stimülasyonundan sonra daha az oositin uyarıldığı belirlenmiştir [45]. 2018 yılında, Xu ve ark. ratlarda VitD3'ün follikülogenezis ve ovulasyondaki etkisini anlamaya yönelik yaptığı in vivo ve in vitro deneyler neticesinde, preantral ve antral follikülün VitD3R sentezlediği ve yokluğunda bu folliküllerde gelişimin duraksadığı belirlenmiştir. VitD3 suplementasyonu preantral follikül sağ kalımını, antral follikül büyüme ve sağ kalımını arttırmıştır. Ayrıca VitD3 suplementasyonu antral dönemde östradiol ve AMH üretimine yol açmıştır [9].

Çalışmamızda VitD3'ün suprafizyolojik olarak verildiği grupta follikül sayıları açısından kontrole kıyasla anlamlı bir fark bulunamamıştır. VitD3

grubunda UPA'ya kıyasla atrezi azalmıştır. Ö+P grubuna göre VitD3 ve VitD3+UPA tedavi gruplarında preantral follikül sayıları artmıştır. VitD3 tedavi grubundaki artış VitD3+UPA grubuna göre daha fazladır.

Mheid ve ark. 2011 yılında sağlıklı bireyler yaptıkları çalışmada VitD3'ün artmış akım ilişkili dilatasyon ve reaktif hiperemi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. VitD3 yetersizliği olanlarda normalizasyon sonrası ortalama arter basıncı azalmıştır [66]. Tarcin ve ark. 2009 yılındaki çalışmasında VitD3 yetersizliğindeki azalmış akım ilişkili vazodilatasyon oranı, replasman tedavisi sonrası düzelme göstermiştir [67]. Zhang ve ark. 2018 yılında yaptıkları çalışmada prediyaliz kronik böbrek hastalarında VitD3 suplementasyonu endotelyal disfonksiyonda düzelme sağlamıştır. Yine akım ilişkili dilatasyon oranının VitD3 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [68]. 2019 yılında Mahmoud ve ark. obez erişkinlerde yaptığı çalışmada VitD3 NO bağımlı vasküler dilatasyona yol açmıştır [69]. Belirtilen çalışmalarla paralel olarak çalışmamızda da VitD3 özellikle perifolliküler kapiller olmak üzere vasküler dilatasyon ve konjesyona neden olduğu gözlenmiştir.

Ovaryumda önemli endokrin fonksiyonları olan östrojenin iki çeşit reseptörü bulunmaktadır. Bunlardan östrojen reseptörü α (ERα) teka hücrelerinde eksprese olurken ERβ granüloza hücrelerinde eksprese olmaktadır [31]. 1972 yılında Goldenberg ile Reiter ve ark. yaptıkları çalışmalarda sentetik bir östrojen olan DES'in ratlarda granüloza hücre proliferasyonunu ve follikül büyümesini uyardığını göstermişlerdir [70, 71]. Progesteron hamileliğin devamında ve ovulasyonun kontrolünde temel hormon olarak karşımıza çıkmaktadır.

Progesteron reseptörü (PR) nükleer bir reseptör olup Graff follikülünün granüloza hücrelerinde eksprese olur [6]. 2016 yılında Bishop ve ark. maymun folliküllerinden elde edilen granuloza hücreleriyle yaptığı çalışmada ise nükleer progesteron reseptörünün, progesteron aktivitesine aracılık ettiği ve dominant follikülün seçiminde, ilişkili olarak da ovulasyonda etkili olduğu sonucuna varmışlardır [38]. Progesteron bağlayıcı başka bir protein olan PGR membran komponenti 1 (PGRMC1) gelişmekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinde sentezlenir. Progesteron, PGRMC1 reseptörü üzerinden granüloza hücrelerinde etki etmektedir ve konsantrasyonu follikül gelişimiyle korelasyon göstermektedir. 2017 yılında Komatsu ve ark. yaptığı bir çalışmada progesteron düzeyindeki bu değişiklik taklit edildiğinde 10 ng/ml konsantrasyonda bir değişiklik saptanmazken, 100 ng/ml'de progesteronun ovulasyonu ve primer follikül gelişimini uyardığı gösterilmiştir. 1 μg/ml konsantrasyonda ise ovulasyonu ve sekonder follikül gelişimini baskılamıştır [6]. 2015 yılındaki Ting ve ark. yaptığı bir çalışmada da düşük doz progesteronun follikül sağ kalımını arttırırken, yüksek dozda oosit dejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir [31]. 2018 yılında Zhao ve ark. yaptığı DES ve progesteron ile yapılan UF model çalışmasında UF model grubunda serum östrojen ve progesteron seviyelerinin, uterus ve overde ER ve PR'nin arttığı gösterilmiştir [35]. Çalışmamızda DES ve progesteron kullanılan Ö+P grubunda preantral follikül sayısı azalmış ve VitD3 grubuna kıyasla atrezi artmıştır. Bu durumun yüksek progesteron konsantrasyonuna bağlı olabileceği kanısına varılmıştır.

2009 yılında Tamura ve ark. ratlarda progesteron reseptör antagonisti olan mifepristonun 20mg/kg veya daha fazla olan dozlarda luteal kist ve büyük korpus luteum yapılarına neden olduğunu göstermişlerdir [72]. Çalışmamızda Ö+P grubunda progesterona bağlı olarak negatif inhibisyon ile henüz olgunlaşmadan korpus luteum dejenerasyonu gözlemlenmiştir. Östrojen tarafından artan LH piki ve ovulasyon sonucu çok sayıda korpus luteum belirlenmiştir. VitD3 tedavi grubunda korpus luteum yapısı normal olarak izlenmiştir. UPA progesteron negatif feedbackine engel olması nedeniyle korpus luteumların büyümüş olarak gözlemlendiği düşünülmüştür.

2016 yılında Kondo ve ark. mifepriston ile yaptıkları çalışmanın sonucunda; kontrol grubuna kıyasla atretik-kistik follikül, preantral follikül ve küçük antral follikül sayıları artış gösterirken, büyük antral follikül sayısı anlamlı bir değişiklik göstermemiştir [57]. Çalışmamızda Ö+P grubunda antral folliküllerde granüloza hücre katmanı polikistik over sendromunu taklit edercesine göreceli ince olarak belirlenmiştir. UPA ve UPA+VİTD3 tedavi gruplarında da duvarı incelmiş dev folliküller gözlemlenmiştir.

6. SONUÇLAR

UPA ile ilgili yapılan diğer çalışmalar incelenerek çalışmamızda antifibroid tedavide kullanılan UPA ve VitD3'ün birlikte ovaryumda follikülogenezis üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Histolojik analizler sonucunda yüksek östrojen ve progesteron durumunda follikülogenez artışı en çok VitD3 ve VitD3+UPA tedavi gruplarında

görülmüştür. VitD3 tedavi grubundaki artışın VitD3+UPA tedavi grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. UPA'nın folliküler atreziye neden olduğu kanısına varılmıştır. Benzer olarak korpus hemorajikum sayısının UPA'nın ovulasyonu inhibe etmesine bağlı olarak azalma gösterdiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak yüksek doz östrojen-progesteron uygulamasında VitD3 ve VitD3+UPA tedavisinin folikülogenezis indüksiyonu için etkin olabileceği kanısına varılmıştır. Konu ile ilgili follikülogenezis markerleri kullanılarak yapılacak immünohistokimyasal çalışmalar çok daha etkin sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Oktem O, Urman B. Understanding follicle growth in vivo. Human reproduction. 2010;25:2944-54.
2. Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, Horner JW, DePinho RA. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. Science. 2003;301:215-8.
3. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P et al. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. Endocrinology. 2002;143:1076-84.
4. Rimon-Dahari N, Yerushalmi-Heinemann L, Alyagor L, Dekel N: **Ovarian folliculogenesis**. In: Molecular mechanisms of cell differentiation in gonad development. edn.: Springer; 2016: 167-90.
5. Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P et al. Anti-Müllerian Hormone Attenuates the Effects of FSH on Follicle Development in the Mouse Ovary. Endocrinology. 2001;142:4891-9.
6. Komatsu K, Masubuchi S. The concentration-dependent effect of progesterone on follicle growth in the mouse ovary. The Journal of reproduction and development. 2017;63:271-7.
7. Rosato E, Farris M, Bastianelli C. Mechanism of Action of Ulipristal Acetate for Emergency Contraception: A Systematic Review. Frontiers in pharmacology. 2016;6:315-.

8. Stratton P, Hartog B, Hajizadeh N et al. A single mid-follicular dose of CDB-2914, a new antiprogestin, inhibits folliculogenesis and endometrial differentiation in normally cycling women. Hum Reprod. 2000;15:1092-9.
9. Xu J, Lawson MS, Xu F et al. Vitamin D3 Regulates Follicular Development and Intrafollicular Vitamin D Biosynthesis and Signaling in the Primate Ovary. Frontiers in physiology. 2018;9:1600-.
10. Parikh G, Varadinova M, Suwandhi P et al. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. Horm Metab Res. 2010;42:754-7.
11. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG: **The developing human : clinically oriented embryology**, 10 edn; 2016.
12. Oktem O, Oktay K. The ovary: anatomy and function throughout human life. Ann N Y Acad Sci. 2008;1127:1-9.
13. Sadler TW, Langman J: **Langman's medical embryology**, 11 edn. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2011.
14. Irie N, Tang WWC, Azim Surani M. Germ cell specification and pluripotency in mammals: a perspective from early embryogenesis. Reproductive medicine and biology. 2014;13:203-15.
15. Kierszenbaum AL: **Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology**, 1 edn: Mosby; 2006.
16. Ross MH, Pawlina W: **Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology**, 6 edn: Lippincott Williams & Wilkins / Wolters Kluwer Health Inc.; 2017.

17. Gilroy AM, Voll M, Wesker K: **Anatomy : an essential textbook**, 1 edn. New York; Stuttgart: Thieme; 2013.

18. Gartner LP, Hiatt JL: **Color textbook of histology**, 3 edn. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2007.

19. Lamas-Toranzo I, Fonseca Balvís N, Querejeta-Fernández A et al. ZP4 confers structural properties to the zona pellucida essential for embryo development. eLife. 2019;8:e48904.

20. Williams CJ, Erickson GF: **Morphology and Physiology of the Ovary**. In: Endotext. edn. Edited by Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland HJ, Kaltsas G *et al*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc. 2000-2020; 2000.

21. Karlsson AB, Maizels ET, Flynn MP et al. Luteinizing hormone receptor-stimulated progesterone production by preovulatory granulosa cells requires protein kinase A-dependent activation/dephosphorylation of the actin dynamizing protein cofilin. Mol Endocrinol. 2010;24:1765-81.

22. Belli M, Shimasaki S. Molecular Aspects and Clinical Relevance of GDF9 and BMP15 in Ovarian Function. Vitamins and hormones. 2018;107:317-48.

23. Sanfins A, Rodrigues P, Albertini DF. GDF-9 and BMP-15 direct the follicle symphony. Journal of assisted reproduction and genetics. 2018;35:1741-50.

24. Otsuka F, McTavish KJ, Shimasaki S. Integral role of GDF-9 and BMP-15 in ovarian function. Molecular reproduction and development. 2011;78:9-21.

25. Christoforou ER, Pitman JL. Intrafollicular growth differentiation factor 9: bone morphogenetic 15 ratio determines litter size in mammals†. Biol Reprod. 2019;100:1333-43.

26. Link W. Introduction to FOXO Biology. Methods Mol Biol. 2019;1890:1-9.

27. John GB, Gallardo TD, Shirley LJ, Castrillon DH. Foxo3 is a PI3K-dependent molecular switch controlling the initiation of oocyte growth. Developmental biology. 2008;321:197-204.

28. Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P et al. Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. Endocrinology. 2006;147:3228-34.

29. Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. Molecular and cellular endocrinology. 2005;234:81-6.

30. Weenen C, Laven JSE, von Bergh ARM et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. Molecular Human Reproduction. 2004;10:77-83.

31. Ting AY, Xu J, Stouffer RL. Differential effects of estrogen and progesterone on development of primate secondary follicles in a steroid-

depleted milieu in vitro. Human reproduction (Oxford, England). 2015;30:1907-17.

32. Newbold RR, Jefferson WN, Grissom SF, Padilla-Banks E, Snyder RJ, Lobenhofer EK. Developmental exposure to diethylstilbestrol alters uterine gene expression that may be associated with uterine neoplasia later in life. Molecular carcinogenesis. 2007;46:783-96.

33. Mitra MS, Philip BK: **Diethylstilbestrol**. In: Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). edn. Edited by Wexler P. Oxford: Academic Press; 2014: 143-5.

34. McWilliams MM, Chennathukuzhi VM. Recent Advances in Uterine Fibroid Etiology. Seminars in reproductive medicine. 2017;35:181-9.

35. Zhao H, Li Y, Xu Q et al. Establishment of a rat model for uterine leiomyomas based on Western and traditional Chinese medicine theories. Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas. 2018;51:e7627-e.

36. Sanchez EG, Giviziez CR, Sanchez HM, Agostinho PL, Barros PS, Approbato MS. Low progesterone levels and ovulation by ultrasound assessment in infertile patients. JBRA Assist Reprod. 2016;20:13-6.

37. Leiva R, Bouchard T, Boehringer H, Abulla S, Ecochard R. Random serum progesterone threshold to confirm ovulation. Steroids. 2015;101:125-9.

38. Bishop CV, Hennebold JD, Kahl CA, Stouffer RL. Knockdown of Progesterone Receptor (PGR) in Macaque Granulosa Cells Disrupts Ovulation and Progesterone Production. Biol Reprod. 2016;94:109.

39. Kim J, Bagchi IC, Bagchi MK. Control of ovulation in mice by progesterone receptor-regulated gene networks. Molecular human reproduction. 2009;15:821-8.

40. Nallasamy S, Kim J, Sitruk-Ware R, Bagchi M, Bagchi I. Ulipristal blocks ovulation by inhibiting progesterone receptor-dependent pathways intrinsic to the ovary. Reprod Sci. 2013;20:371-81.

41. Jadav SP, Parmar DM. Ulipristal acetate, a progesterone receptor modulator for emergency contraception. Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics. 2012;3:109-11.

42. Ghonim M, Magdy R, Sabbour M, Ghonim M, Nabhan A. A systematic review and meta-analysis of ulipristal acetate for symptomatic uterine fibroids. Int J Gynaecol Obstet. 2019;146:141-8.

43. Tinelli A, Kosmas IP, Mynbaev OA, Malvasi A, Sparic R, Vergara D. The Biological Impact of Ulipristal Acetate on Cellular Networks Regulating Uterine Leiomyoma Growth. Curr Pharm Des. 2020;26:310-7.

44. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. Physiological reviews. 2016;96:365-408.

45. Dicken CL, Israel DD, Davis JB et al. Peripubertal vitamin D(3) deficiency delays puberty and disrupts the estrous cycle in adult female mice. Biol Reprod. 2012;87:51.

46. Irani M, Merhi Z. Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review. Fertil Steril. 2014;102:460-8.e3.

47. Firouzabadi RD, Rahmani E, Rahsepar M, Firouzabadi MM. Value of follicular fluid vitamin D in predicting the pregnancy rate in an IVF program. Arch Gynecol Obstet. 2014;289:201-6.

48. Fang F, Ni K, Cai Y, Shang J, Zhang X, Xiong C. Effect of vitamin D supplementation on polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Complement Ther Clin Pract. 2017;26:53-60.

49. Thys-Jacobs S, Donovan D, Papadopoulos A, Sarrel P, Bilezikian JP. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovarian syndrome. Steroids. 1999;64:430-5.

50. Merhi ZO, Seifer DB, Weedon J et al. Circulating vitamin D correlates with serum antimüllerian hormone levels in late-reproductive-aged women: Women's Interagency HIV Study. Fertil Steril. 2012;98:228-34.

51. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. Endocrinology. 2000;141:1317-24.

52. Brakta S, Diamond JS, Al-Hendy A, Diamond MP, Halder SK. Role of vitamin D in uterine fibroid biology. Fertil Steril. 2015;104:698-706.

53. Ciebiera M, Włodarczyk M, Ciebiera M, Zaręba K, Łukaszuk K, Jakiel G. Vitamin D and Uterine Fibroids-Review of the Literature and Novel Concepts. International journal of molecular sciences. 2018;19:2051.

54. Bang W-S, Lee D-H, Kim K-T et al. Relationships between vitamin D and paraspinal muscle: human data and experimental rat model analysis. The Spine Journal. 2018;18:1053-61.

55. Pohl O, Harvey PW, McKeag S, Boley SE, Gotteland JP. Carcinogenicity and chronic rodent toxicity of the selective progesterone receptor modulator ulipristal acetate. Curr Drug Saf. 2013;8:77-97.

56. Ulug P, Oner G. Evaluation of the effects of single or multiple dose methotrexate administration, salpingectomy on ovarian reserve of rat with the measurement of anti-Müllerian hormone (AMH) levels and histological analysis. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 2014;181:205-9.

57. Kondo M, Osuka S, Iwase A et al. Increase of kisspeptin-positive cells in the hypothalamus of a rat model of polycystic ovary syndrome. Metab Brain Dis. 2016;31:673-81.

58. Zaid SSM, Othman S, Kassim NM. Protective role of Ficus deltoidea against BPA-induced impairments of the follicular development, estrous cycle, gonadotropin and sex steroid hormones level of prepubertal rats. J Ovarian Res. 2018;11:99.

59. Chen Q, Ke H, Luo X et al. Rare deleterious BUB1B variants induce premature ovarian insufficiency and early menopause. Human Molecular Genetics. 2020;29:2698-707.

60. Gershon E, Dekel N. Newly Identified Regulators of Ovarian Folliculogenesis and Ovulation. International journal of molecular sciences. 2020;21:4565.

61. Simoncini T, Mannella P, Fornari L, Caruso A, Varone G, Genazzani AR. In vitro effects of progesterone and progestins on vascular cells. Steroids. 2003;68:831-6.

62. Pang Y, Dong J, Thomas P. Progesterone increases nitric oxide synthesis in human vascular endothelial cells through activation of membrane progesterone receptor-α. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2015;308:E899-911.

63. Mueck AO, Seeger H. Progestogens and target tissues: Vascular systems. Maturitas. 2009;62:356-61.

64. Miner JA, Martini ER, Smith MM et al. Short-term oral progesterone administration antagonizes the effect of transdermal estradiol on endothelium-dependent vasodilation in young healthy women. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011;301:H1716-22.

65. Halder SK, Sharan C, Al-Hendy A. 1,25-dihydroxyvitamin D3 treatment shrinks uterine leiomyoma tumors in the Eker rat model. Biol Reprod. 2012;86:116.

66. Al Mheid I, Patel R, Murrow J et al. Vitamin D status is associated with arterial stiffness and vascular dysfunction in healthy humans. J Am Coll Cardiol. 2011;58:186-92.

67. Tarcin O, Yavuz DG, Ozben B et al. Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94:4023-30.

68. Zhang Q, Zhang M, Wang H et al. Vitamin D supplementation improves endothelial dysfunction in patients with non-dialysis chronic kidney disease. Int Urol Nephrol. 2018;50:923-7.

69. Mahmoud AM, Szczurek M, Hassan C, Masrur M, Gangemi A, Phillips SA. Vitamin D Improves Nitric Oxide-Dependent Vasodilation in Adipose Tissue Arterioles from Bariatric Surgery Patients. Nutrients. 2019;11:2521.

70. Goldenberg RL, Vaitukaitis JL, Ross GT. Estrogen and follicle stimulation hormone interactions on follicle growth in rats. Endocrinology. 1972;90:1492-8.

71. Reiter EO, Goldenberg RL, Vaitukaitis JL, Ross GT. A role for endogenous estrogen in normal ovarian development in the neonatal rat. Endocrinology. 1972;91:1537-9.

72. Tamura T, Yokoi R, Okuhara Y et al. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity. 2) Two- or four-week repeated dose studies and fertility study of mifepristone in female rats. J Toxicol Sci. 2009;34 Suppl 1:Sp31-42.

ÖSTROJEN-PROGESTERON KOMPLEKSİ İLE UYARILMIŞ OVARYUMDA VİTAMİN D VE ULİPRİSTAL ASETAT ETKİSİ

ÖZET

Follikülogenez overde meydana gelen, çeşitli büyüme faktörlerinin ve sinyal moleküllerinin yer aldığı kompleks bir süreçtir. Ovulasyonun kontrolünde rol oynayan hormonlardan biri progesterondur. Son çalışmalar, progesteronun ovulasyonu ve primer follikül gelişimini uyardığını göstermektedir. Yüksek progesteron konsantrasyonu ovulasyonu ve sekonder follikül gelişimini baskılar. Bu bilgiler ışığında, progesteron reseptör modülatörü olarak Ulipristal asetatın (UPA) follikülogenezde rolü olduğu sonucuna varılabilir. UPA'nın follikülogenez üzerindeki etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Vitamin D3 (VitD3), folliküler gelişim de dahil olmak üzere over fonksiyonlarında önemli bir rol oynadığı gösterilen başka bir faktördür. VitD3 suplementasyonu preantral follikül sağkalımını, antral follikül büyümesini ve sağkalımı arttırır. VitD3'ün overde progesteron ve östradiol sentezini uyararak steroidogenezi de düzenlediği gösterilmiştir. Folliküler gelişim mekanizmalarının araştırılması, dişi reprodüktif yaşama ilişkin daha kapsamlı veri elde edilmesine ve reprodüktif yaşlanmaya karşı yeni terapötik yaklaşımların gelişmesine olanak sağlayacaktır. Bu açıdan uterin fibroid tedavisinde antifibroid etkiler için son yıllarda birlikte kullanımı artan UPA ve VitD3'ün follikülogenezdeki etki mekanizmasının anlaşılması önemlidir. Çalışmamızda UPA ve VitD3'ün follikülogenez üzerine etkilerini rat

modelinde kullanılan histokimyasal yöntemlerle araştırdık. Çalışmada 47 dişi Wistar-albino rat rastgele yedi gruba ayrıldı: kontrol grubu, 3 hafta oral VitD3 (1000 IU/kg/gün) uygulama grubu, 5 hafta oral UPA (3 mg/kg/gün) uygulama grubu, her 2 günde bir 5 hafta oral DES (1,35 mg/kg/gün) ve IM progesteron (1mg/kg) uygulama grubu, DES ve progesteron uygulaması sonrası 3 hafta oral VitD3 (1000 IU/kg/gün) tedavi grubu, 5 hafta oral UPA (3 mg/kg/gün) tedavi grubu, VitD3+UPA tedavi grubu. UPA grubunda normal evredeki folliküller atretik hale geldi ve hemorajik kistik yapıları gözlemlendi. Yüksek östrojen-progesteron uygulama grubunda antral folliküllerin granüloza hücre katmanlarının polikistik over sendromu gibi göreceli olarak ince olduğu belirlendi. UPA ve VitD3 + UPA tedavi gruplarında da duvarları incelmiş dev folliküller görüldü. Yüksek östrojen-progesteron uygulanan grupta, östrojenin neden olduğu LH pikindeki artış ve ovulasyon nedeniyle birçok korpus luteum tespit edilmiştir. Progesteronun negatif inhibisyonu nedeniyle henüz olgunlaşmadan önce korpus luteum dejenerasyonu da gözlemlendi. Korpus luteumun yapısı VitD3 tedavi grubunda normaldi. UPA'nın progesteron negatif feedback mekanizmasını engellediğini ve UPA tedavi grubunda korpus luteumların büyüdüğünü gösterdik. UPA ve VitD3 aşırı vasküler dilatasyon ve konjesyona neden olmuştur. Sonuç olarak, yüksek östrojen-progesteron durumunda follikülogenez açısından en iyi sonuçları VitD3 ve VitD3+UPA tedavi gruplarının verdiği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Follikülogenezis, Progesteron, Ulipristal asetat, Vitamin D

EFFECT OF VITAMIN D AND ULIPRISTAL ACETATE IN THE OVARIUM STIMULATED BY ESTROGEN-PROGESTERONE COMPLEX

ABSTRACT

Folliculogenesis is a complex process that occurs in the ovaries, with various growth factors and signal molecules take part. One of the hormones involved in the control of ovulation is progesterone. Recent studies show that progesterone stimulates ovulation and primary follicle development. High progesterone concentration suppresses ovulation and secondary follicle development. In the light of this information, it can be deduced that Ulipristal acetate (UPA) as a progesterone receptor modulator has a role in folliculogenesis. There are limited studies about the effect of UPA on folliculogenesis. Vitamin D3 is another factor that has been shown to play an important role in ovarian functions including follicular development. VitD3 supplementation increases preantral follicle survival, antral follicle growth, and survival. It has been shown that VitD3 also regulates steroidogenesis by stimulating progesterone and estradiol synthesis in the ovary. Research on follicular development mechanisms will provide more comprehensive data on female reproductive life and the development of new therapeutic approaches against reproductive aging. In this respect, it is important to understand the effect mechanism in folliculogenesis of UPA and VitD3, which are increasingly used together in recent years for antifibroid effects in uterine fibroid treatment. In our study, we investigated the

effects of UPA and VitD3 on folliculogenesis by used histochemical methods in a rat model. In study 48 female Wistar-albino rats randomly divided into seven groups: control group, 3 weeks oral VitD3 (1000 IU/kg/day) administration group, 5 weeks oral UPA (3 mg/kg/day) administration group, every 2 days for 5 weeks oral DES (1,35 mg/kg/day) and IM progesterone (1mg/kg) administration group, after DES and progesterone administration 3 weeks oral VitD3 (1000 IU/kg/day) treatment group, 5 weeks oral UPA (3 mg/kg/day) treatment group, VitD3+UPA treatment group. Follicles in normal stages have become atretic and hemorrhagic cystic structures were observed in the UPA group. In the high estrogen–progesterone administration group, the granulosa cell layers of antral follicles were determined to be relatively thin like the polycystic ovary syndrome. Giant follicles with thinning walls were also observed in the UPA and VitD3+UPA treatment groups. In the high estrogen–progesterone applied group, many corpus luteums were detected due to an increase at LH peak and ovulation caused by estrogen. Corpus luteum degeneration was also observed before maturation because of negative inhibition of progesterone. The structure of the corpus luteum was normal in the VitD3 treatment group. We demonstrated that; UPA prevented progesterone negative feedback, and corpus luteums were observed to be enlarged in the UPA treatment group. UPA and VitD3 cause excessive vascular dilatation and congestion. As a result, it was observed that VitD3 and VitD3+UPA treatment groups gave the best results in terms of folliculogenesis in the condition of high estrogen–progesterone.

Keywords: Folliculogenesis, Progesterone, Ulipristal acetate, Vitamin D

EKLER

EK-1. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Evrak Tarih ve Sayısı: 20.10.2020-E.112206

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Gülnur KAPLANOĞLU (TAKE)
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Gülnur TAKE KAPLANOĞLU, Damla Gül FINDIK, Gökçe Nur ARIK, ve Nagwa B.Abubaker ALEMARI, MD'den oluşan, G.Ü.ET-20.055 kod numaralı ve "*Ulipristal Asetat ve Vitamin D3'ün Folliküloğenaz Üzerindeki Etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-20.055 and entitled *"The Effect of Ulipristal Acetate and Vitamin D3 Folliculogenesis"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Commitee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Not: Daha önce onay alan G.Ü.ET-19.041 kod numaralı çalışmada kullanılan 48 adet Wistar Albino Rat'ın, 27 adet dişi Ratına ait ovaryum dokusunun kullanılmasına onay verilmiştir.

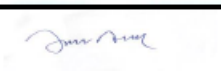
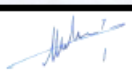
Ek: 1 Liste

Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/
Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Toplantı Katılım Listesi

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 25/09/2020	TOPLANTI SAYISI : 06
ADI-SOYADI	**İMZA**
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	KATILAMADI
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	KATILAMADI

ÖZGEÇMİŞ

Ad

DAMLA GÜL

Soyad

FINDIK

Doğum Yeri ve Tarihi

- ANKARA 1993

Eğitimi

- Uzmanlık Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji (2018-)
- Lisans Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (2011- 2017)

İş Deneyimi

- Balıkesir Dursunbey Devlet Hastanesi Acil Servis (Kasım 2017- Mart 2018)

Yabancı Dili

- İngilizce

Uluslararası Kongre

- Damla Gül Fındık, Gülnur Take Kaplanoğlu, Gökçe Nur Arık and Nagva B. Abubaker Alemari, The Effect of Ulipristal Acetate and Vitamin D3 on Folliculogenesis, (Virtual Presentation), International Congress of Future Medical Pioneers (ICOFMEP) 2021, Abstract Book p.7, May 8-9 (2021)